Optische Schalter und Fluoreszenzsonden-

Design, Synthese und Untersuchung von neuen Werkzeugen für biophysikalische und medizinische Studien



Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Brigitte Anne Maria Bier

aus Neuss

Düsseldorf, Dezember 2011

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

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

Referent: PD Dr. Klaus Schaper

Koreferent: Prof. Thomas J. J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung:

14.12.2011

Hiermit versichere ich, dass ich die vorgelegte Arbeit selbständig durchgeführt und verfasst habe. Als Hilfsmittel wurden nur die angegebenen Quellen verwendet.

Düsseldorf, den

_____

(Brigitte Bier)

Herrn Privat Dozent Dr. Klaus Schaper danke ich für die Vergabe des Themas, für den mir gewährten Freiraum zur Gestaltung dieser Arbeit sowie seine Anregungen und stete Diskussionsbereitschaft.

Meiner Familie

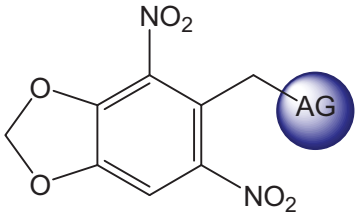
Diphenylhexatrienes as photoprotective agents for ultrasensitive fluorescence detection

D. Pfiffi, B. A. Bier, C. M. Marian, K. Schaper, C. A. M. Seidel, *J. Phys. Chem A* **2010**, *114*, 4099-4108.

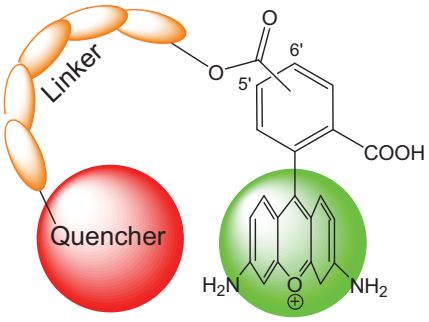
Kurzzusammenfassung

Farbstoffe sind wichtige Werkzeuge für biophysikalische Untersuchungen. Durch Lichtabsorption werden Prozesse wie Fluoreszenz oder Photolyse in Chromophoren induziert, welche für Untersuchungen an biologischem Material von Nutzen sind.

Die *caged Compounds* sind solche Chromophore. Sie ermöglichen die hoch aufgelöste räumliche und zeitliche Freisetzung von biologischen Wirkstoffen durch den Einsatz photolabiler Schutzgruppen. Die Eigenschaften der *caged Compounds* hängen maßgeblich von der Beschaffenheit dieser Schutzgruppen ab.



MDdiNB



Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine neue *Caging*gruppe, die 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe (**MDdiNB**), aufgrund physikochemischer Überlegungen entworfen und synthetisiert. **MDdiNB**-geschützte Acetate und Benzoate wurden hergestellt und ihr photophysikalisches Verhalten mit entsprechenden Derivaten gängiger photolabiler Schutzgruppen verglichen. Die hier vorgestellte neue Schutzgruppe hat eine Quantenausbeute von 0.06 und kann bei Bestrahlungen mit Licht bis 400 nm effektiv eingesetzt werden. Sie zeigt sogar geringe Absorbanz bis 510 nm, so dass bei ausreichender Lichtintensität auch Photolysen bis 500 nm an Verbindungen dieses Typs durchgeführt werden können. **Diese neue MDdiNB-*Caging*gruppe bereichert mit ihrer bathochromen Absorption die bisherige Auswahl an photolabilen Schutzgruppen für die *Uncaging*technik.**

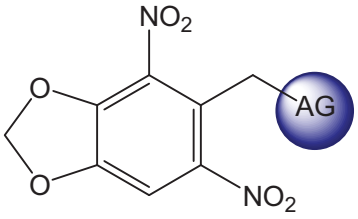
Fluoreszenzfarbstoffe sind ebenfalls effiziente Werkzeuge für biophysikalische Studien. Die Besetzung langlebiger Triplettzustände in solchen Farbstoffen bei hohen Bestrahlungsintensitäten durch Intersystem Crossing (ISC) kann eine Vielzahl von Problemen mit sich bringen. So führt ISC dazu, dass die Chromophore nur teilweise für die Fluoreszenz zur Verfügung stehen. Sogar eine Zerstörung der Verbindung aufgrund von Redoxreaktionen aus dem T_1-Zustand ist möglich. Diese Population des T_1-Zustandes führt speziell bei einzelmolekülspektroskopischen Methoden, wie z. B. der Fluoreszenzkorrelations Spektroskopie (FCS), zum Signalverlust.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Azobenzole, Diphenylhexatriene und Cyclooctatetraenderivate als potentielle Triplettquencher für Fluoreszenzfarbstoffe mit hohen Fluoreszenzintensitäten, wie z. B. Rhodamine, identifiziert. Die Zugabe dieser Quencher ermöglicht einen Triplettenergietransfer vom Fluorophor im T_1 auf den Quencher. Eine Substanzbibliothek aus 59 Quenchern wurde synthetisiert und untersucht. **Signifikante Steigerungen der Signalstärke und Photostabilität der Fluoreszenzfarbstoffe konnten beobachtet werden.**

Zur weiteren Steigerung der Effizienz des Energietransfers wurden 6 Bichromophore aus je einer Fluoreszenzfarbstoff- und einer Quenchereinheit, die kovalent über einen Linker verbunden wurden, synthetisiert und untersucht. **Diese neuen Verbindungen weisen vergleichbare Steigerungen der Signalstärke und Photostabilität auf.**

Abstract

Dyes are essential tools for biophysical investigations. Via the absorption of light processes in chromophores such as fluorescence or photolysis can be triggered, which are important for studies of biological material.

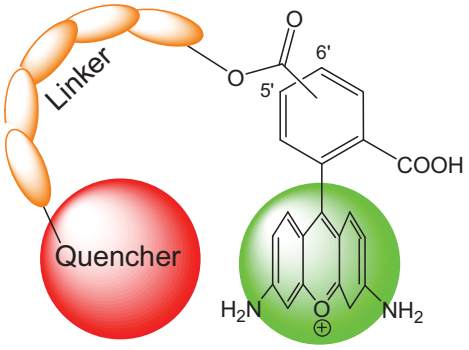


MDdiNB

C*aged Compounds* are such chromophores. Due to their photolabile protecting groups they enable the release of biological active substances with high temporal and spatial resolution. The properties of *caged Compounds* rely significantly on the characteristics of the *caging* group.

In the course of this work a new *caging* group, the 3,4-(methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgroup (**MDdiNB**) was designed on the basis of physicochemical considerations and synthesized. **MDdiNB**-protected acetates and benzoates were synthesized and their photophysical behavior was compared to that of the respective derivatives with established *caging* groups.

The novel **MDdiNB**-protecting group has a quantum yield of 0.06 and can be used effectively in irradiations with light up to 400 nm. Due to the small absorbance up to 510 nm compounds of this kind can be used in *uncaging* experiments in the presence of sufficiently high intensities of light up to 500 nm. **With its bathochromic absorption the novel MDdiNB-protecting group successfully complements the available range of established photolabile protecting groups.**



Fluorescent dyes are also efficient tools for biophysical studies. The population of long living triplet states in these dyes by high light intensities via intersystem crossing (ISC) can lead to a number of problems.

Due to this ISC only part of the chromophores are available for fluorescence. Even the destruction of the compound is possible via redox processes from the T_1-state. Especially in single molecule techniques such as the fluorescence correlation spectroscopy (FCS) this population of the T_1-state leads to a loss in signal intensity.

In the course of this thesis azobenzenes, diphenylhexatrienes and cyclooctatetraene derivatives were identified as adequate quenchers for fluorescent dyes with high fluorescence intensities such as rhodamines. The supplement of these quenchers enables a triplet energy transfer from the T_1-state of the dye to the quencher. A compound library of 59 derivatives was synthesized and investigated. **In additive Studies notable increases in signal strength and photostability could be observed.**

In order to further increase the efficiency of the energy transfer 6 bichromophores consisting of a fluorescent dye and a triplet quencher covalently bridged by a linker were synthesized and investigated. **These new substances show a high increase in signal strength and photostability comparable to the additive studies.**

Inhaltsverzeichnis

Danksagung vii
Abkürzungsverzeichnis ix
Substanzverzeichnis xvii
1 Einleitung 1
2 Entwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds* 3
2.1 Grundlagen 3
2.2 Zielsetzung 18
2.3 Design einer neuen photolabilen Schutzgruppe 19
2.4 Synthese von *caged* Acetaten 27
2.5 Synthese von *caged* Benzoaten 34
2.6 UV-Vis-spektroskopische Untersuchung der synthetisierten *caged Compounds* 39
2.7 Studien zum photolytischen Abbau von *caged Compounds* 42
2.8 NMR-spektroskopische Untersuchung der Photolyse der synthetisierten *caged* Acetate 48
2.9 Untersuchung der Photolyse der synthetisierten *caged Compounds* mittels HPLC 57
2.9.1 Untersuchung der Photolyse der *caged* Acetate mittels HPLC 57
2.9.2 Untersuchung der Photolyse der *caged* Benzoate mittels HPLC 65
2.9.2.1 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 255 nm 68
2.9.2.2 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 360 nm 73
2.9.2.3 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 405 nm 78
2.10 Diskussion der Quantenausbeuten 83
2.11 Diskussion der Abbaueffizienz 93
2.12 Eignung der MDdiNB-Schutzgruppe als Werkzeug in *Uncaging*experimenten 96
3 Entwicklung von Chromophorsystemen als Fluoreszenzsonden 99
3.1 Zielsetzung 101
3.2 Fluoreszenzspektroskopische Methoden 103
3.2.1 Fluoreszenzmikroskopie und –spektroskopie 104

3.2.2 Einzelmolekül Fluoreszenzspektroskopie 106
3.2.3 Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie 108
3.3 Verhalten von Fluorophoren bei hohen Bestrahlungsdichten 111
3.3.1 Fluorophor: One-State Model 112
3.3.2 Fluorophor: Two-State Model 113
3.3.3 Fluorophor: Three-State Model 114
3.3.4 Fluorophor: Multistate Model 115
3.4 Probleme bei Bestrahlungen mit hohen Leistungsdichten und ihre Ursachen 116
3.5 Mögliche Lösungsansätze 119
3.6 Wechselwirkungen von Fluorophoren und Quenchern 123
3.6.1 Energietransfer 123
3.6.1.1 Förster Resonanz Energietransfer 125
3.6.1.2 Dexter Energietransfer 129
3.6.2 Quenchen durch Charge-Transfer 131
3.6.3 Reduktion und Oxidation 133
3.6.4 Diskussion der möglichen Lösch-Mechanismen 138
3.6.5 Konzentrationsabhängigkeit von den Wechselwirkungen zwischen Fluorophor und Quencher bei Löschprozessen 141
3.7 Eigenschaftsprofil von potentiellen selektiven Triplett-Quenchern 142
3.7.1 Zustandsenergien von potentiellen Quenchern 142
3.7.2 Redoxpotentiale von potentiellen Quenchern 150
3.7.2.1 Oxidationspotentiale von RH123@S1 und RH123@T1 151
3.7.2.2 Reduktionspotentiale von RH123@S_1 und RH123@T_1 152
3.7.2.3 Eigenschaften der Redoxpotentiale potentieller Quencher 153
3.7.3 Lebensdauer der angeregten Zustände von potentiellen Quenchern 155
3.7.4 Quenchereigenschaften in der Übersicht 156
3.8 Potentielle Quencher 157
3.8.1 Cyclooctatetraene als potentielle Quencher 159
3.8.2 Carotinoide als potentielle Quencher 161
3.8.3 Azobenzole als potentielle Quencher 167
3.9 Synthese und Charakterisierung potentieller Quencher 173
3.9.1 Cyclooctatetraenderivate 175
3.9.1.1 Synthese 175

3.9.1.2 Redoxpotentiale und Übergangsenergien von COT-Derivaten.. 181
3.9.1.3 FCS-Messungen von COT-Derivaten 184
3.9.2 Diphenyldecapentaene 185
3.9.2.1 Synthese 185
3.9.2.2 UV-spektroskopische Untersuchung 190
3.9.3 Diphenylhexatriene 191
3.9.3.1 Synthese 192
3.9.3.1.1 Übersicht über die synthetisierten elektronenarmen DPH 196
3.9.3.1.2 Übersicht über die synthetisierten elektronenreichen DPH 197
3.9.3.1.3 Übersicht über die synthetisierten heteroaromatischen DPH . 198
3.9.3.1.4 Synthese von phenolischen DPH 199
3.9.3.1.5 Synthese von DPH mit erhöhter Wasserlöslichkeit 210
3.9.3.2 Redoxpotentiale von DPH 213
3.9.3.3 Übergangsenergien von DPH 218
3.9.3.4 FCS-Messungen an DPH 221
3.9.4 Azobenzole 225
3.9.4.1 Synthese 225
3.9.4.2 Redoxpotentiale von Azobenzolen 230
3.9.4.3 Übergangsenergien von Azobenzolen 232
3.9.4.4 FCS-Messungen an Azobenzolen 233
3.9.5 Quenchleistung der potentiellen Quencher 237
3.10 Bichromophore 239
3.10.1 Aufbaustrategien von Bichromophoren 240
3.10.1.1 Modifikationsstrategie 241
3.10.1.2 Verknüpfungsstrategie 243
3.10.2 Synthese der Bichromophorbausteine 248
3.10.2.1 Cyclooctatetraenbausteine für Bichromophorsynthesen 248
3.10.2.2 Diphenylhexatrienbausteine für Bichromophorsynthesen 254
3.10.2.3 Azobenzolbausteine für Bichromophorsynthesen 263
3.10.2.3.1 Ester-verknüpfte Azobenzolbausteine 264
3.10.2.3.2 Ether-verknüpfte Azobenzolbausteine 266
3.10.2.3.3 Übersicht der synthetisierten koppelfähigen Azobenzol-Linker-Bausteine 271

3.10.3 HPLC-Voruntersuchungen der Edukte für die Bichromophorsynthesen 272
3.10.3.1 HPLC-Voruntersuchung: DY495-X5-NHS-Ester 143 273
3.10.3.2 HPLC-Voruntersuchung: DY505-X5-NHS Ester 144 280
3.10.3.3 HPLC-Voruntersuchung: 6-Aminofluorescein (187) 285
3.10.3.4 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB18 287
3.10.3.5 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB20 288
3.10.3.6 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB21 289
3.10.3.7 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB11 291
3.10.3.8 HPLC-Voruntersuchung: Nitrosobenzol (141) 294
3.10.4 Bichromophorsynthesen 296
3.10.4.1 Modifikationssynthesen der Bichromophore vom Fluoresceintyp 297
3.10.4.1.1 Bichromophor BC05 297
3.10.4.2 Verknüpfungssynthesen der Bichromophore vom Fluoresceintyp 304
3.10.4.2.1 Bichromophor BC01 304
3.10.4.2.2 Bichromophor BC02 315
3.10.4.2.3 Bichromophor BC06 322
3.10.4.3 Verknüpfungssynthesen der Bichromophore vom Rhodamintyp 329
3.10.4.3.1 Bichromophor BC03 329
3.10.4.3.2 Bichromophor BC04 336
3.10.5 FCS-Messungen an Bichromophoren 344
4 Zusammenfassung 349
4.1 Entwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds* 349
4.2 Entwicklung von Chromophorsystemen als Fluoreszenzsonden 353
5 Ausblick 361
5.1 Weiterentwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds* 361
5.2 Weiterentwicklung von Chromophorsystemen als Fluoreszenzsonden ... 363
6 Experimentalteil 367
6.1 Geräte 367
6.1.1 Allgemeines 367
6.1.2 Bestrahlungsapparatur nach Gräntzel 369
6.1.2.1 Emission der Bestrahlungsapparatur nach Gräntzel 371

6.1.3 Bestrahlungsapparatur: LUMOS 43[36] 373
6.1.3.1 Emission der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 374
6.1.3.2 Strahlungsquantifizierung mittels Aktinometer der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 375
6.1.4 Bestrahlungsgefäße 388
6.1.5 HPLC-Anlage 389
6.1.5.1 HPLC-Software 389
6.1.5.2 Hardwarekomponenten der HPLC-Anlage 389
6.1.5.3 HPLC-Säulen 391
6.2 Bestrahlungsexperimente 393
6.2.1 Photolyseuntersuchungen an *caged* Acetaten mittels HPLC 393
6.2.2 Photolyseuntersuchungen an *caged* Benzoaten mittels HPLC 396
6.3 Synthesen 409
6.3.1 Allgemeines 409
6.3.2 Versuchsbeschreibungen 411
6.3.2.1 *Caged Compounds* 411
6.3.2.2 Cyclooctatetraensynthesen 444
6.3.2.3 Diphenyldecapentaensynthesen 450
6.3.2.4 Diphenylhexatriensynthesen 464
6.3.2.5 Azobenzolsynthesen 562
6.3.2.6 Kopplungsbausteinsynthesen 620
6.3.2.7 Bichromophorsynthesen 675
7 Literaturverzeichnis 699

Danksagung

- Der BASF AG für die Bereitstellung des C_{10}-Dialdehydbausteins.

- Frau H. Webers, Frau I. Menzel, Frau D. Koschel, Frau D. Riedl, Frau U. Köhler, Dr. S. Beutner, und Herrn E. Schönstein für die technische Unterstützung und die Aufnahme der IR-Spektren.

- Herrn P. Behm und Frau M. Beuer für die Aufnahme der NMR-Spektren.

- Herrn Dr. P. Tommes und Herrn R. Bürgel für die Aufnahme der Massenspektren.

- Mitarbeitern des Instituts für Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die Elementaranalysen.

- Dem Arbeitskreis Schaper für die freundliche Aufnahme und das angenehme Arbeitsklima.

- Dr. Sebastian Kock und Dr. Stefan Herweg für ihre Diskussionsbereitschaft über die Carotinoidchemie.

- Dipl. Chem. Holger Tüllmann für die Freundschaft und gegenseitige moralische Unterstützung.

- Herrn Dr. Roger Scherrers für „Alles und Nichts“.

Abkürzungsverzeichnis

@	at/bei
2NBz	2-Nitrobenzoat
4-CNB	4-Carboxy-2-nitrobenzylgruppe
4NBz	4-Nitrobenzoat
α,4-CNB	α,4-Dicarboxy-2-nitrobenzylgruppe
α-CMDdiNB	α-Carboxy-3,4-(methylendioxy)-2,5-nitrobenzylgruppe
α-CNB	α-Carboxy-2-nitrobenzylgruppe
λ	Wellenlänge in nm
μ	Dipolmoment
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl in cm^{-1}
Φ	Quantenausbeute
σ	Hammett-Koeffizienten
τ	Zerfallskonstante

A

A	Akzeptor
A	Amplitude
AB	Azobenzolderivate
Abs	Absorption
abs.	absolutiert
Ac	Acetat
AG	Abgangsgruppe
AKS	aktivierte Koppelstelle
ATP	Adenosintriphosphat
AU	absorbance unit

B

BC	Bichromophore

Bn	Benzylgruppe
BOC	*tert*-Butyloxycarbonylgruppe
bs	breites Singulett
Bu	Butylgruppe
Bz	Benzoat

C

c	Lichtgeschwindigkeit
calc	berechnet
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cC oder CC	*caged Compound*
CCD	Charge-coupled Device
cG	*Caging*gruppe
CI	konische Durchdringung/Conical Intersection
const.	konstant oder Konstante
COT	Cyclooctatetraenderivat
cpm	counts per molecule/Zählrate pro Molekül
CT	Charge Transfer

D

D	Donor
d	Schichtdicke in cm
D	Debye
d	Dublett
DAD	diode array detector
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Dichlormethan
DET	Dexter Energietransfer
DFT	Dichte Funktionaltheorie
DiBAl	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamid
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMNB	4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe

DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPD	Diphenyldecapentaenderivate
DPH	Diphenylhexatrienderivate

E

E	Redoxpotential
E	Energie
EA	Elektronenaffinität
EDG	elektronendonierende Gruppe
EI	electron impact/Elektronenstoßionisation
Em	Emission
ESI	electron spray ionisation
Et	Ethyleinheit
eV	Elektronenvolt
Ex	Experimentell
ex	Anregung
exp	Experimentell

F

F	Fluoerszenzintensität
f	Fluoreszenz
f	Oszillatorstärke
FCS	Fluorescence Correlation Spectroscopy/Fluoreszenz Korrelationsspektroskopie
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonylgruppe
FRET	Förster Resonanz Energietransfer/Fluoreszenz Resonanz Energietransfer

G

GABA	γ-Aminobuttersäure
GC	Gaschromatographie

H

h	Plancksches Wirkungsquantum

HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOMO	Highest unoccupied molecular Orbital
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

I

I	Intensität
IC	Internal Conversion
IP	Ionisierungspotential
IR	Infrarotspektroskopie
ISC	Intersystem Crossing

J

J	Kopplungskonstante in Hz
J	Überlappungsintegral

K

k	Geschwindigleitskonstante
$\mathbf{k_{ISC}}$	Intersystem-Crossing-Rate
$\mathbf{k_{qT}}$	Triplettquenchrate
$\mathbf{k_T}$	Relaxationsrate des Triplettzustands

L

L	van der Waals Radien
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
Lit	Literatur
LPP	Laser Puls Photolyse
LU	light units/luminescence units
LUMO	Lowest unoccupied molecular Orbital

M

m	*meta*
m	Multiplett

MALDI	matrix assisted laser desorption/ionisation
max	maximal
MDB	3,4-(Methylendioxy)benzylgruppe
MDdiNB	3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzylgruppe
MDN	4,5-(Methylendioxy)-2-nitrosubstitution
MDNB	4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe
MEM	Methoxyethoxymethylgruppe
ML	M. Ludwig
MM	M. Murjahn
MRCI	multi reference configuration interaction
MS	Massenspektrometrie

N

n	Brechungsindex
NB	*o*-Nitrobenzylgruppe
NBS	*N*-Bromsuccinimid
NHE	Normal Wasserstoffelektrode
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
norm.	normiert
N_P	Photonenfluss in nmol/s

O

o	*ortho*
ox	Oxidation

P

p	Photonen
p	Phosphoreszenz
p	*para*
P	optische Leistung
p. a.	zur Analyse
PBS	phosphate buffered saline
PG	protectinggroup/Schutzgruppe
ppm	parts per million

PPTS	Pyridinium-*para*-toluolsulfonat

Q

Q	Quencher
q	Quartett

R

R	Abstand
R_{DA}	Försterradius
red	Reduktion
rel.	relativ
R_f	Retentionsfaktor
RH110	Rhodamin 110
RH123	Rhodamin 123
ROS	reactive oxygen species
RT	Raumtemperatur

S

S	Singulettzustand
s	Singulett
SCE	saturated calomel electrode
SCF	self consistent field
sept	Septett

T

T	Triplettzustand
t	Zeit/time
T	Temperatur
t	Triplett
tBu	*tert*-Butylgruppe
t_c	Korrelationszeit
TD	time dependent
tech.	technisch

T_{eq}	Triplettamplitude
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyranylgruppe
TMdiNB	3,4,5-Trimethoxy-2,6-dinitrobenzylgruppe
TMNB	3,4,5-Trimethoxy-2-nitrobenzylgruppe
TOF	time of flight
Tol	Toluat
t_R	Retentionszeit
t_T	Triplettrelaxationszeiten

U

u. A.	unter Anderem
UV	ultravioletter Wellenlängenbereich

V

v	(Abbau-)geschwindigkeit
V	Versuch
Vis	sichtbarer Wellenlängenbereich

Z

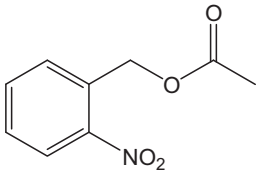
z	Ladung
z. B.	zum Beispiel

Substanzverzeichnis

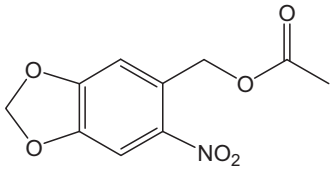
Im Substanzverzeichnis sind alle im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Zielverbindungen aufgeführt. Sie sind gegliedert in folgende Verbindungsklassen:

- *Caged Compounds* (**CC***)*
- Cyclooctatetraenderivate (**COT**)
- Diphenyldecapentaene (**DPD**)
- Diphenylhexatriene (**DPH**)
- Azobenzole (**AB**)
- Bichromophore (**BC**)

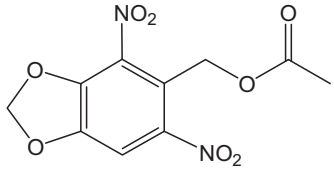
Caged Compounds (CC*)*



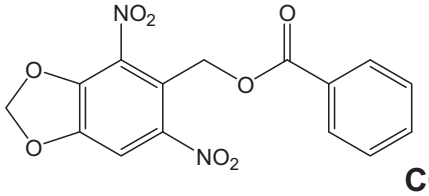
CC01



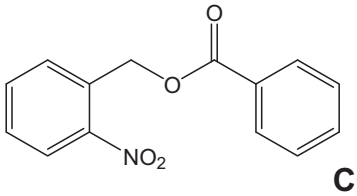
CC02



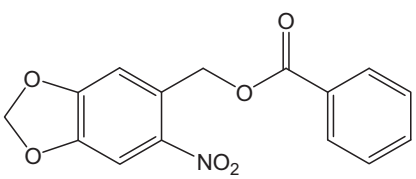
CC03



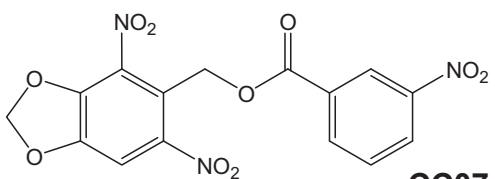
CC04



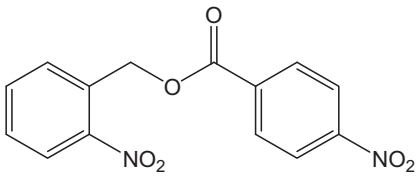
CC05



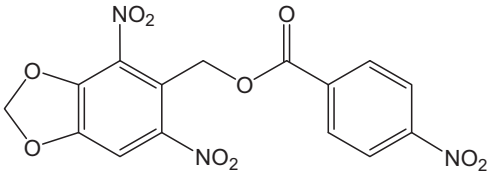
CC06



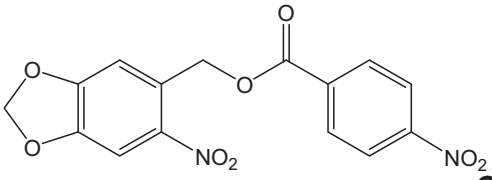
CC07



CC08

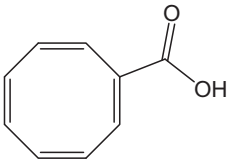


CC09

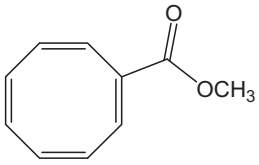


CC10

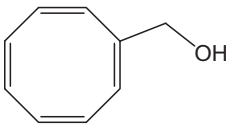
Cyclooctatetraenderivate (COT)



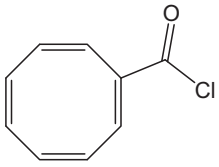
COT01



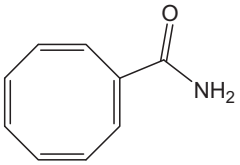
COT02



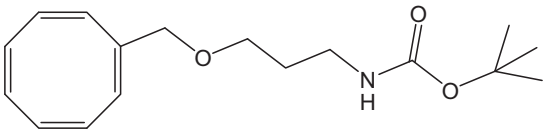
COT03



COT04

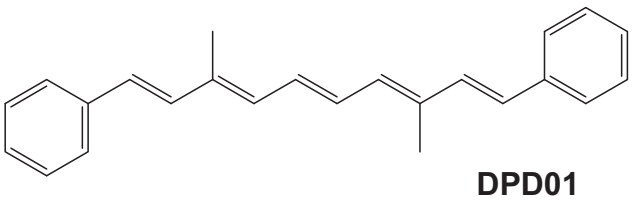


COT05

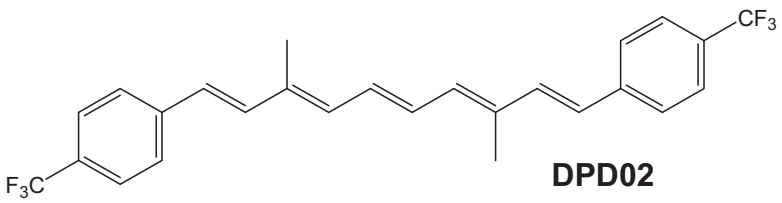


COT06

Diphenyldecapentaene (DPD)

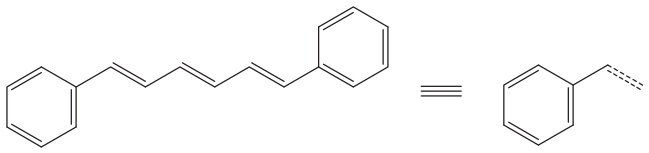


DPD01

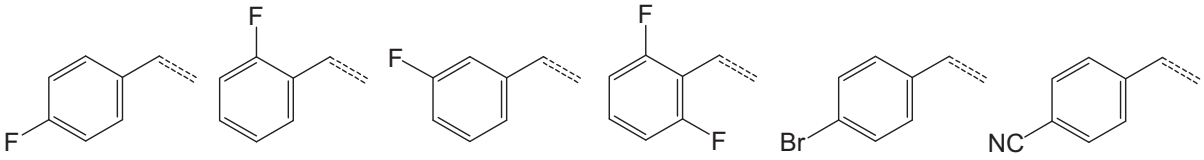


DPD02

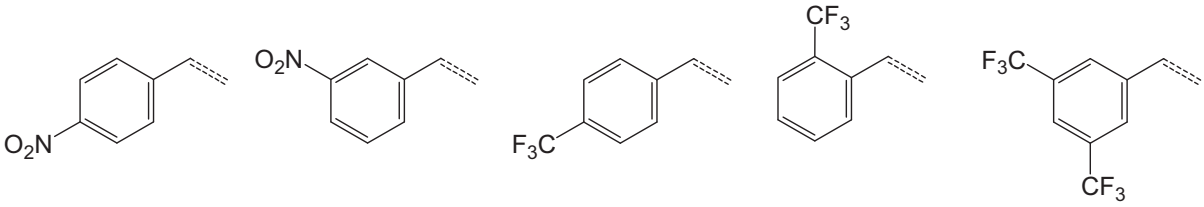
Diphenylhexatriene (DPH)



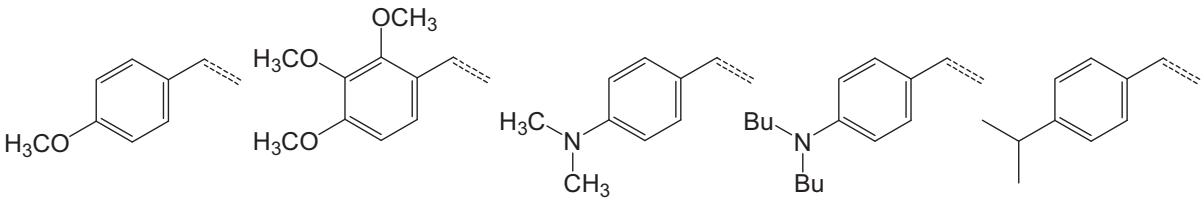
DPH01 **DPH01**



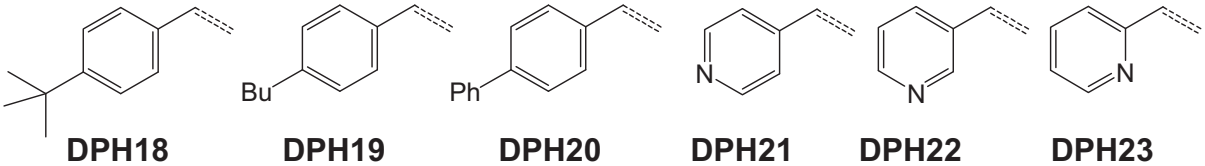
DPH02 **DPH03** **DPH04** **DPH05** **DPH06** **DPH07**



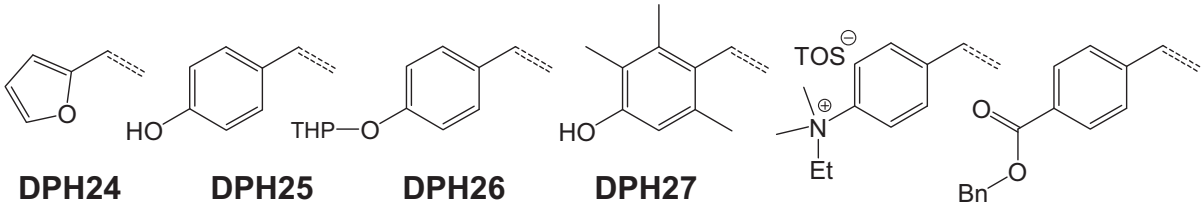
DPH08 **DPH09** **DPH10** **DPH11** **DPH12**



DPH13 **DPH14** **DPH15** **DPH16** **DPH17**

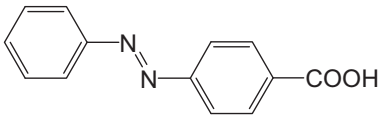


DPH18 **DPH19** **DPH20** **DPH21** **DPH22** **DPH23**

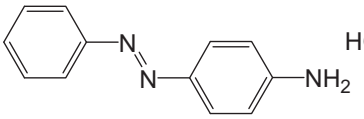


DPH24 **DPH25** **DPH26** **DPH27** **DPH28** **DPH29**

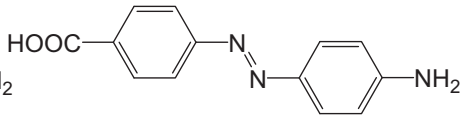
Azobenzole (AB)



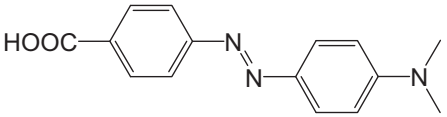
AB01



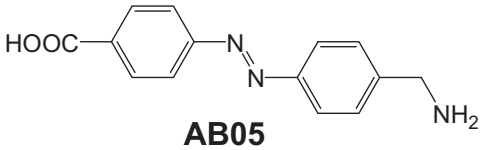
AB02



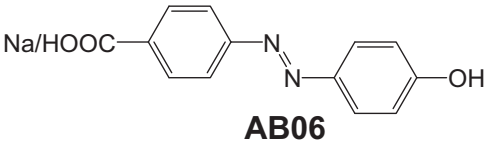
AB03



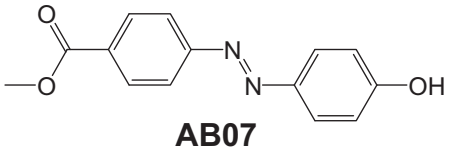
AB04



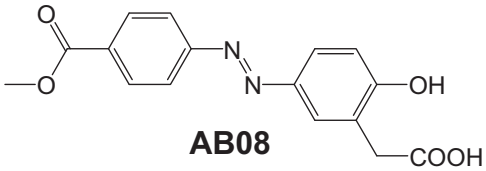
AB05



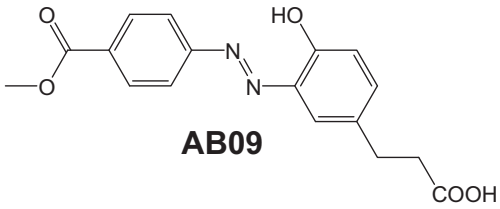
AB06



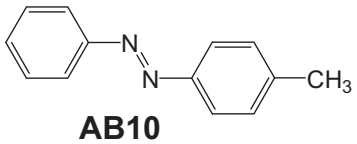
AB07



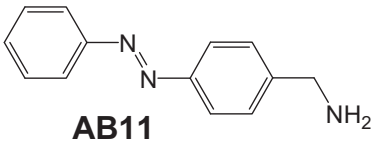
AB08



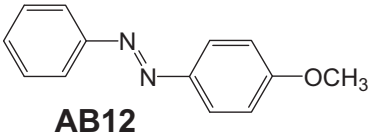
AB09



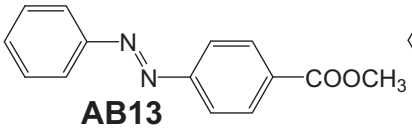
AB10



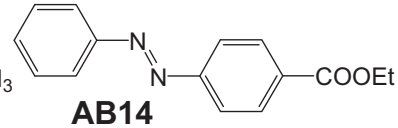
AB11



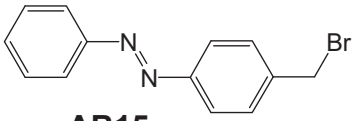
AB12



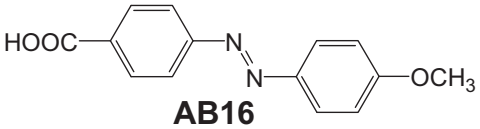
AB13



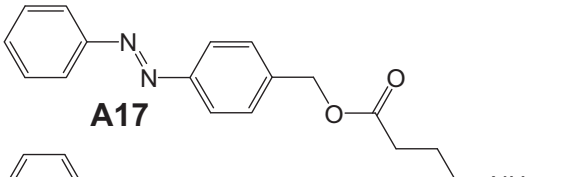
AB14



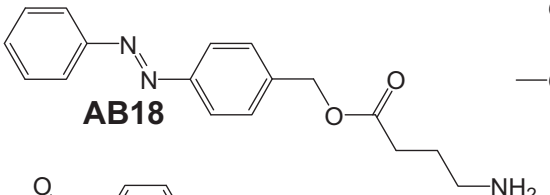
AB15



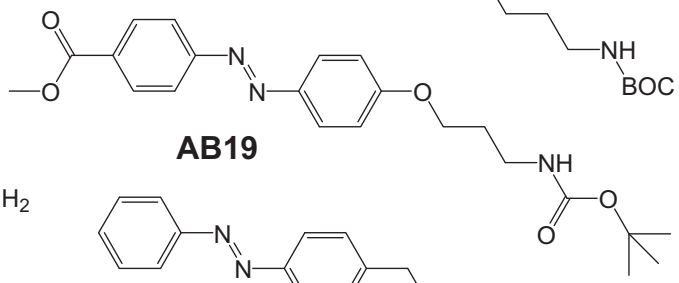
AB16



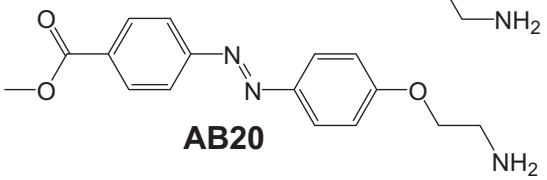
A17



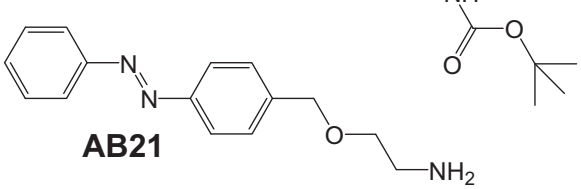
AB18



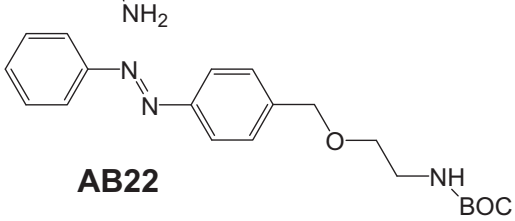
AB19



AB20

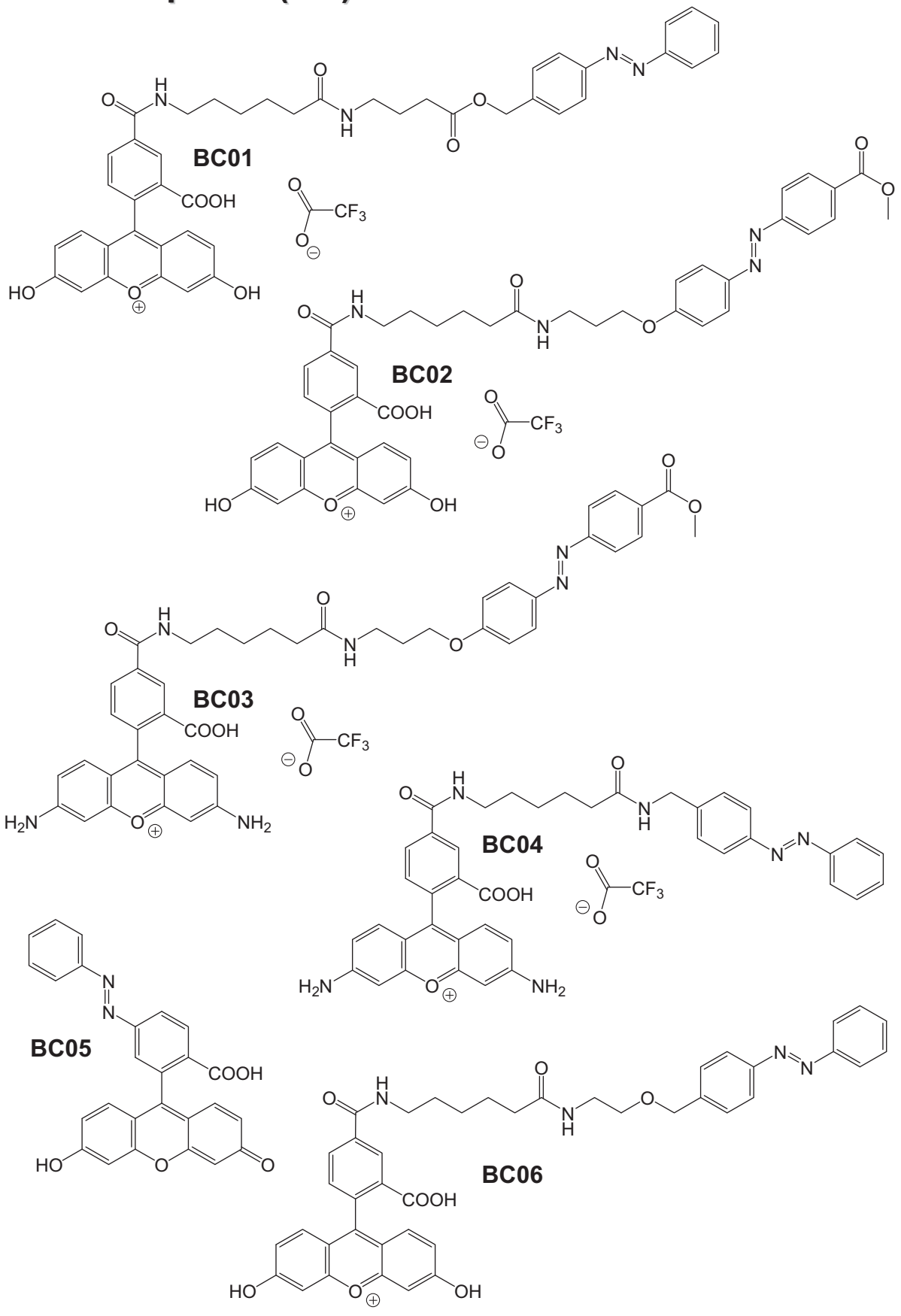


AB21



AB22

Bichromophore (BC)



1 Einleitung

Die Studie von biologischen Systemen stand immer schon im Mittelpunkt des Interesses menschlichen Forscherdrangs. Eine Grundvoraussetzung für den kontinuierlichen Fortschritt im Erlangen von neuen Erkenntnissen und der Entwicklung von verfeinerten Modellen für Prozesse in Organismen sowie einzelnen Zellen ist eine stetige Verbesserung der Werkzeugauswahl für diese Forschung. Die Werkzeuge können in zwei Gruppen unterteilt werden:

- Werkzeuge, welche der Beobachtung und Analyse dienen, wie z. B. Spektrometer von HPLC-Anlagen und
- Wirkstoffe, deren Einfluss auf ein System man untersuchen möchte, wie z. B. Toxine, Hormone oder Licht.

Aus der richtigen Kombination von Werkzeugen entstehen neue effektive Techniken für die Wissenschaft.

Ein solches Instrument ist die „*Caging*“-Technologie.[2] Das Konzept dieser Technik ist es, einen Wirkstoff durch den Einsatz einer photolabilen Schutzgruppe in eine biologisch inaktive Form zu überführen. Dieser Schritt wird *Caging* genannt, da die Aktivität des Wirkstoffes in einem virtuellen „Käfig“ weggesperrt wird. Bestrahlung mit Licht führt zu einer Freisetzung des Wirkstoffes in seiner biologisch aktiven Form.

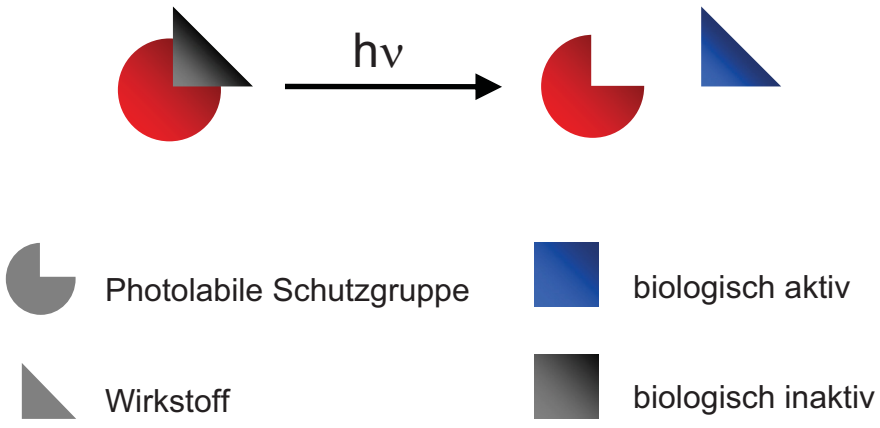


Abbildung 1.1: Allgemeines Schema für das „*Uncaging*“ eines *caged Compounds*.

Dies nennt man „*Uncaging*“; die Aktivität des Wirkstoffes wird wieder „freigelassen“. Die Substanz kann dann seiner Wirkweise nachgehen. Verbindungen dieser Art, die aus einem inaktiven Wirkstoff und einer photolabilen Schutzgruppe bestehen, werden *caged Compounds* genannt.

Im Rahmen dieses Projekts wurde ein neues Design für photolabile Schutzgruppen entworfen. Modellverbindungen dieses *Caging*-Systems wurden erfolgreich synthetisiert und ihre photophysikalischen Eigenschaften wurden untersucht.

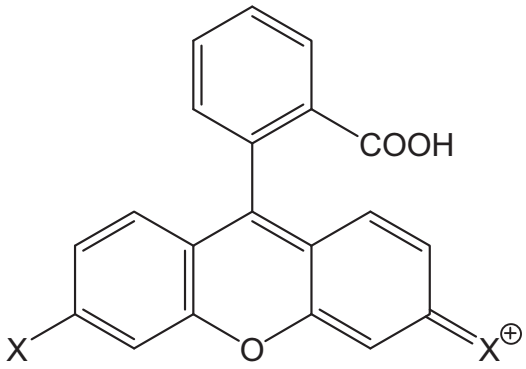


Abbildung 1.2: Allgemeine Struktur von ausgewählten Fluoreszenzfarbstoffen; X = NH_2 Rhodamin 110 **1**, X = OH Fluorescein **2**.

Ein weiteres Instrument für Untersuchungen an biologischen Systemen ist die Fluoreszenzspektroskopie. Als Werkzeuge dienen Fluoreszenzfarbstoffe. Sie können als Label an Substanzen wie z. B. Proteine oder DNA-Stränge gebunden werden. Bestrahlt man diese Proben, so regt man diese Farbstoffe an, und sie zeigen Fluoreszenz. Diese Fluoreszenz kann mikroskopisch untersucht werden (Fluoreszenzmikroskopie). Fluoreszenzfarbstoffe können so zelluläre Prozesse sichtbar machen. Je nach Aufbau dieser Apparaturen ist es sogar möglich, das Verhalten einzelner Moleküle zu beobachten (Einzelmolekülspektroskopie). Bei solchen Experimenten kommen meist Fluoresceine und Rhodamine zum Einsatz. Diese Farbstoffe werden dabei durch hohe Anregungsleistungen und –raten einer hohen Belastung ausgesetzt.

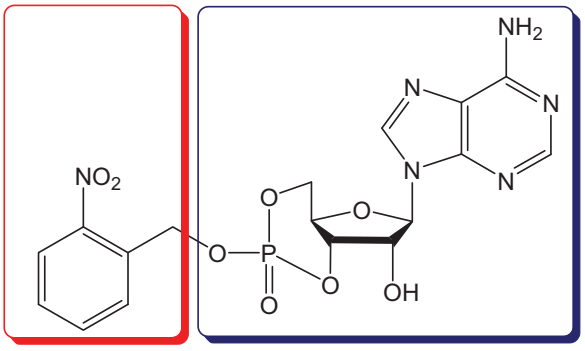
Im Rahmen dieser Arbeit wurden Studien zur Effizienzsteigerung dieser Fluoreszenzfarbstoffe durchgeführt. Diese Kenntnisse ermöglichten die Entwicklung und Synthese von verbesserten, neuartigen Fluorescein- und Rhodaminfarbstoffen.

2 Entwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds*

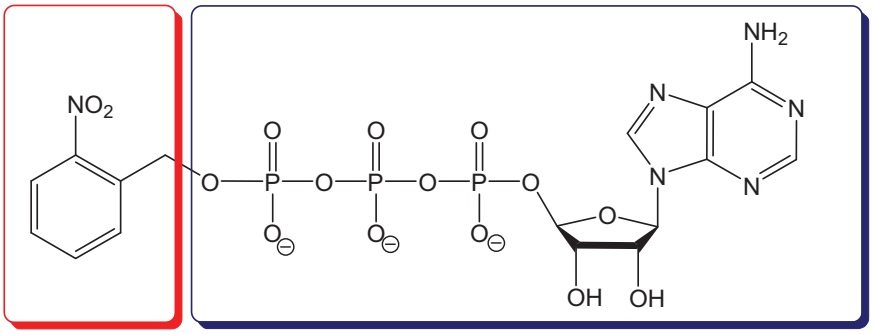
Caged Compounds sind photoaktivierbare Bioreagenzien.[3] Sie ermöglichen den gezielten Einsatz von Wirkstoffen in biologischen Prozessen mit einer hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung.

2.1 Grundlagen

Die Verwendung von photolabilen Schutzgruppen in der organischen Synthese reicht bis in die 60er Jahre des 19. Jahrhunderts zurück.[4-6]



NB-cAMP (**3**)

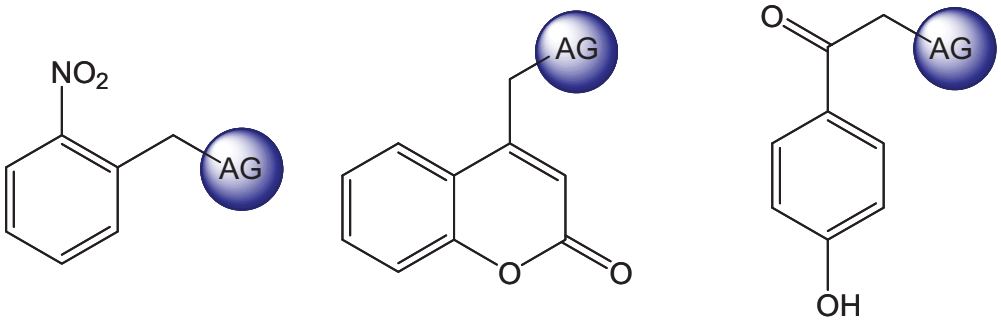


NB-ATP (**4**)

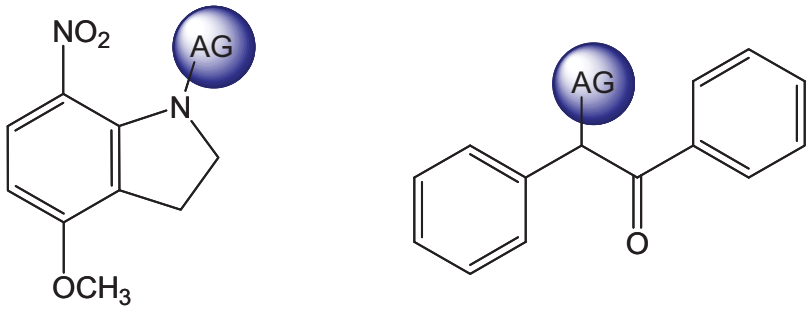
Abbildung 2.1: *Caged Compounds* aus den ersten *Caging*studien**.** Die photolabile Schutzgruppe ist in Rot eingerahmt, der Wirkstoff in Blau.

Die Technik des *Cagings* wurde erstmals 1977 von *Engels* angewandt.[7] Er führte Versuche mit **n**itro**b**enzylisch-geschützten cAMP (**NB**-cAMP, **3**) durch. Im Jahre 1978 führten *Kaplan* und *Hoffman* den Terminus *caged Compound* ein.[8] Für ihre Studien stellten sie **NB**-*caged* ATP (**NB**-ATP, **4**) her.

Für die Darstellung eines *caged Compounds* wird ein biologischer Wirkstoff mit einer photolabilen Schutzgruppe versehen. Die Bioaktivität wird durch die Schutzgruppe ausgeschaltet („*caged*"). Dann bringt man den *caged Compound* in das zu untersuchende System ein. Durch Bestrahlung mit Licht einer geeigneten Wellenlänge wird die photolabile Schutzgruppe abgespalten („*uncaged*") und die Bioaktivität des Wirkstoffs wird wieder hergestellt. Durch gezieltes Einbringen des *caged Compounds* an den Wirkungsort und Kontrolle des Bestrahlungsvolumens kann die lokale Wirkweise von Substanzen untersucht werden. Durch geeignete Wahl der Lichtquelle kann man die zeitliche Auflösung der Freisetzung, sowie die Menge des freigesetzten Bioreagenz steuern.
Für ein *caged Compound* kann jedes Bioreagenz verwendet werden, dass mit einer photolabilen Schutzgruppe versehen werden kann und deren Wirkaktivität dadurch ausgeschaltet wird. Hierzu wird meist die Schutzgruppe an die Funktionalität gebunden, auf die die Bioaktivität zurückzuführen ist. Oft sind dies Carbonsäuren, Alkohole oder Phosphorsäureester wie im Fall von cAMP (**5**) und ATP (**6**).
Seit der Einführung der Nitrobenzylschutzgruppe (**7**) in den 1970er Jahren stieg der Bedarf an neuen Verbindungen. Mit der Entdeckung vieler neuen Anwendungsgebieten von *caged Compounds* ist die Auswahl an photolabilen Schutzgruppen gewachsen.[3]



2-Nitrobenzylgruppe (**7**) Coumarinylgruppe (**8**) 4-Hydroxyphenacylgruppe (**9**)



4-Methoxy 7-nitroindolinylgruppe (**10**) Benzoingruppe (**11**)

Abbildung 2.2: Ausgewählte Beispiele gängiger, photolabiler Schutzgruppen**.** AG = **A**bgangs**g**ruppe.

Das Design dieser Schutzgruppen wird auf die neuartigen Experimente zugeschnitten. Da sich der Aufbau vieler Versuche jedoch stark ähnelt, unterscheiden sich die erforderlichen Eigenschaften oft nur geringfügig. Sie lenken das Design. Die folgenden Kriterien spielen dabei eine wichtige Rolle.

- Die Synthese des *caged Compounds* sollte in möglichst wenigen Schritten mit hoher Ausbeute erfolgen.
- Das *caged Compound* muss vor der Photolyse im Versuchsumfeld biologisch inert sein. Es darf weder als Antagonist noch als Agonist wirken.
- Das *caged Compound* sollte hochrein sein. Spuren des ungeschützten Bioreagenz können z. B. zu einem Hintergrundrauschen führen und somit die Signalauflösung soweit herab setzen, dass keine Auswertung möglich ist. Dies setzt auch eine hohe Stabilität der geschützten Form voraus.
- Die Photoreaktion der Abspaltung sollte sauber und mit einer hohen Quantenausbeute erfolgen.
- Der Wellenlänge der Absorption der Verbindung sollte über 300 nm mit einen großen Extinktionskoeffizienten ε liegen.

- Photochemische Nebenprodukte sollten keinen Einfluss auf das zu untersuchende System haben und im Experimentiermedium löslich sein.
- Die Geschwindigkeit der Photospaltung sollte die Geschwindigkeit des zu untersuchenden Prozesses überschreiten.
- Das *caged Compound* sollte im Medium des Versuchs löslich sein. Es muss gegebenenfalls in der Lage sein biologische Barrieren wie Zellwände zu überwinden.

Erwartungsgemäß erfüllt kein *caged Compound* alle diese Eigenschaften. Je nach Experiment muss abgewogen werden welchen Eigenschaften mehr oder weniger Gewicht gegeben wird.

Die 2-**N**itro**b**enzylgruppe (**NB, 7**) ist die älteste Schutzgruppe der *Caging*technik. Der leichte synthetische Zugang und das ausgeprägte Verständnis des Photolysemechanismus sichern die Vorreiterstellung der **NB**-Schutzgruppe (**7**) in *Caging*studien.[2, 9-11] Mechanistische Untersuchungen der Photolyse haben gezeigt, dass es sich um einen mehrstufigen Prozess handelt.[12]

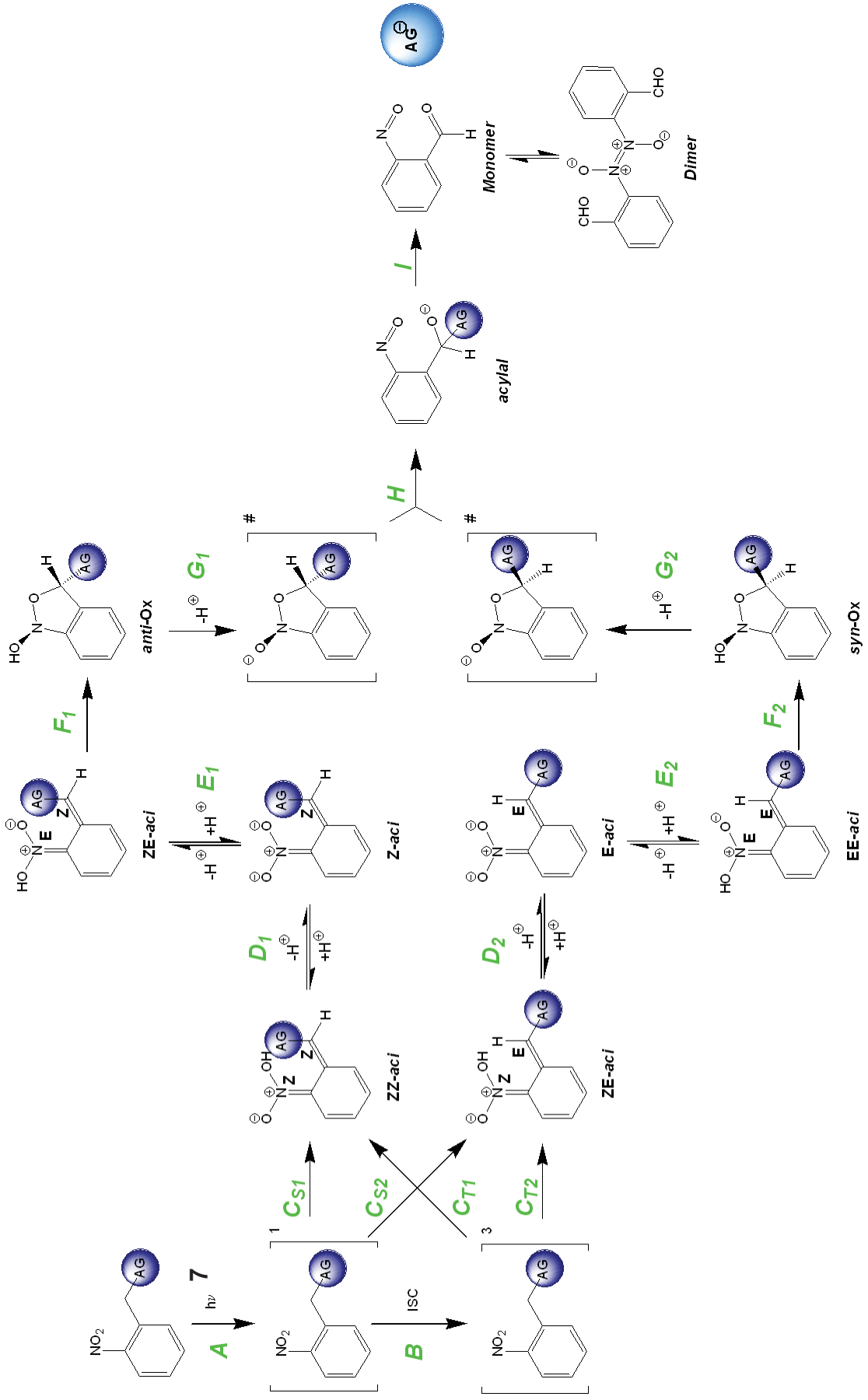


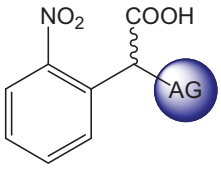
Abbildung 2.3: Photolysemechanismus der *o*-Nitrobenzylester.

Bei der Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge wird der **NB**-Chromophor in den Singulettzustand angeregt (Schritt A). Durch Intersystem Crossing geht er in den Triplettzustand über (Schritt B). Aus beiden angeregten Zuständen kann eine Photo-tautomerisation zu einer *aci*-Nitroverbindung erfolgen (Schritt C). Rechnungen und Messungen an **NB**-Acetat (**CC01**) haben gezeigt, dass diese Reaktion sowohl aus dem S_1- (Schritte C_{S1} und C_{S2}) als auch aus dem T_1-Zustand (Schritte C_{T1} und C_{T2}) erfolgt.[11] Sie erfolgt aus dem Singulettzustand in ~1 ps und aus dem Triplettzustand in ~2 ns. Dieser H-Transfer kann zum ZZ- (Schritte C_{S1} und C_{T1}) oder ZE-Tautomer (Schritte C_{S2} und C_{T2}) führen welche mittels transienter UV-Spektroskopie detektiert werden können. Diese wandeln sich wiederum durch Deprotonierung (Schritt D) und Protonierung (Schritt E) über anionische Zwischenstufen nach einigen Mikro- bis Millisekunden in die EZ- oder EE-*aci*-nitro Form um. Diese reaktiven Spezies cyclisieren schnell im Schritt F. Anschließende Deprotonierung (Schritt G) führt über anti- bzw. syn-Übergangszustände bei einem **NB**-Ester zum Nitrosoacylal (Schritt H). Aus diesem wird dann das Bioreagenz freigesetzt (Schritt I). Das resultierende Nebenprodukt Nitrosobenzaldehyd liegt im Monomer-Dimer Gleichgewicht vor.
Bei welchem Schritt es sich letztendlich um den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt handelt ist nicht klar. Einige gehen von der Cyclisierung (Schritt F) aus.[13] Eine starke pH-Abhängigkeit der Reaktion lässt allerdings darauf schließen, dass das vorgelagerte Deprotonierungs-/Protonierungsgleichgewicht je nach pH-Wert geschwindigkeitsbestimmend sein kann.[14]

Die **NB**-Schutzgruppe (**7**) weist neben ihrer Einfachheit viele Nachteile auf.

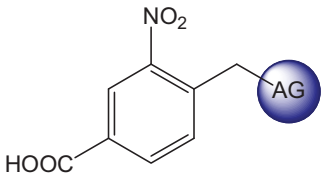
- Absorptionsmaximum im kurzwelligen UV/Vis-Bereich.
- Geringe Hydrophilie.
- Langsame Abspaltungsraten.
- Reaktive und hydrophobe Nebenprodukte.

Um diese Eigenschaften zu verbessern, wurden im Laufe der Jahre zahlreiche Derivate mit unterschiedlichen Substitutionsmustern synthetisiert.
Die Hydrophilie der *caged Compounds* konnte mit Carboxylgruppen, wie sie z.B. bei **α-CNB** (**12**), **4-CNB** (**13**) und **α,4-CNB** (**14**) zu sehen sind, gesteigert werden.[15-19] So konnte eine höhere Löslichkeit in wässrigen Puffersystemen beobachtet werden.[12-14]



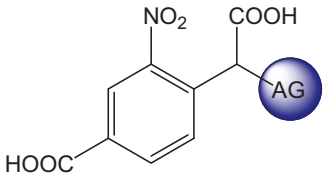
α-CNB

α-Carboxy-2-nitrobenzylgruppe (**12**)



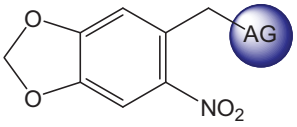
4-CNB

4-Carboxy-2-nitrobenzylgruppe (**13**)



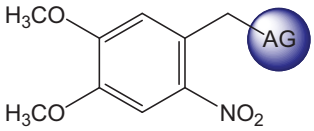
α,4-CNB

α,4-Dicarboxy-2-nitrobenzylgruppe (**14**)



MDNB

4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzylgruppe (**15**)



DMNB

4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe (**16**)

Abbildung 2.4: Ausgewählte Beispiele von Derivaten der **NB**-Schutzgruppe (**7**).

Um die UV-Vis-Absorption dieser Verbindungsklasse der *caged Compounds* bathochrom zu verschieben wurden Methoxy- und Methylendioxysubstituenten am Aromaten eingeführt (**DMNB** (**16**) und **MDNB** (**15**)). Die Anordnung der Substituenten wurde nach dem Verteilungssatz der Auxochrome von Kauffmann gewählt.[20] *Kauffmann et al.* untersuchten methoxysubstituierte Nitrobenzole und fanden heraus, dass die Stellung der Substituenten die Bathochromie bestimmt. Ihnen gelang es, dieses Prinzip auch auf andere Chromophorsysteme zu übertragen.[21]

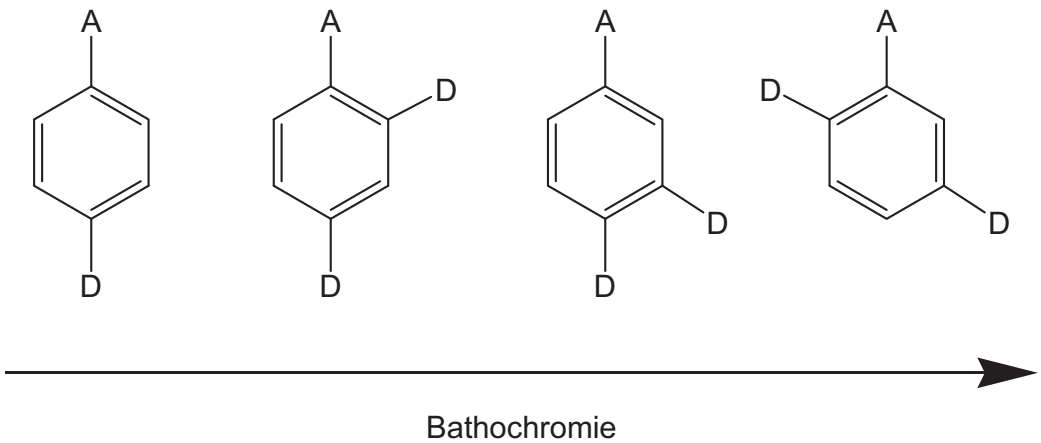


Abbildung 2.5: Verteilungssatz der Auxochrome nach *Kauffmann*; D = Donor, A = Akzeptor.[22]

Für ein *caged Compound* des *o*-Nitrobenzyltyps (**7**) ist eine benzylische Gruppe in *ortho*-Position zur Nitrogruppe erforderlich. Aus synthetischen Überlegungen heraus entschied man sich daher für 3,4-donorsubstituierte Nitrobenzole.

Durch die strategische Einführung von zwei Methoxysubstituenten bzw. einer Methylendioxyeinheit war es möglich die Absorption in Acetonitril von 259 nm auf 344 bzw. 345 nm zu verschieben.[23]

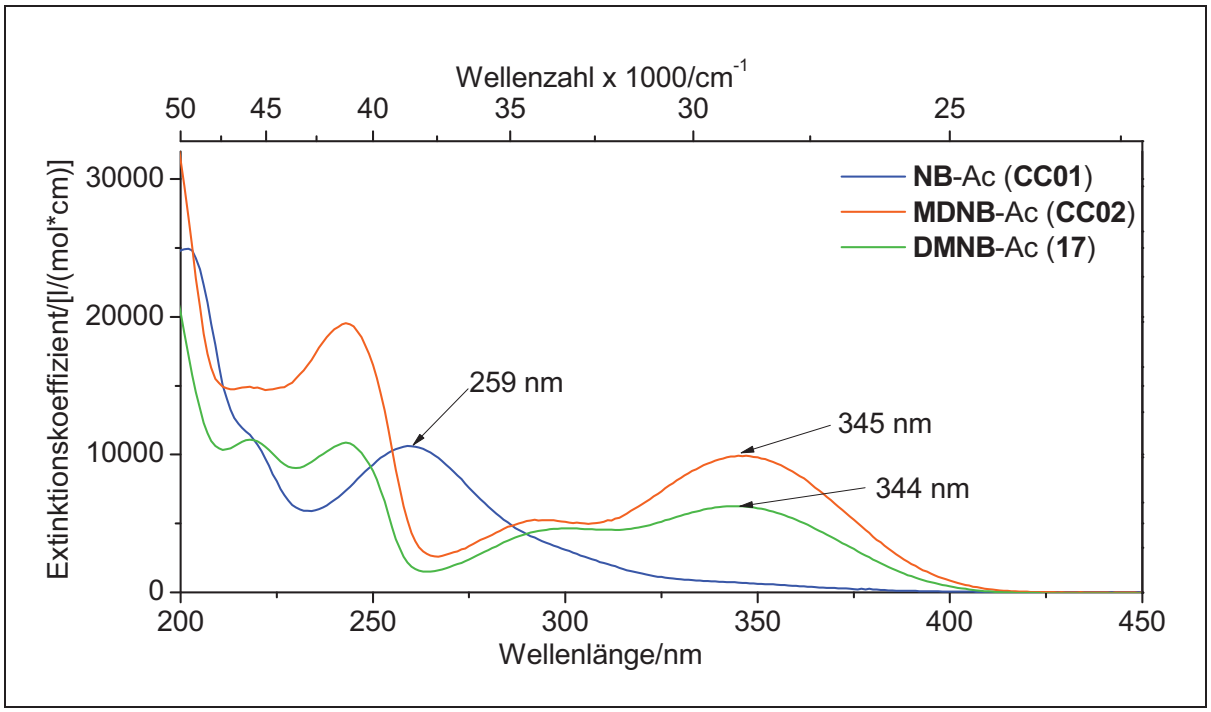


Abbildung 2.6: UV/VIS-Spektren von (2-Nitrobenzyl)-acetat/**NB**-Ac (**CC01**), (4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzyl)-acetat/**DMNB**-Ac (**CC02**)[24] und [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetat/**MDNB**–Ac (**17**) in Acetonitril, sowie die Wellenlänge der bathochromsten Maxima.

Die Quantenausbeuten der Photolyse einiger Derivate wurden bei einer Anregungswellenlänge von 254 nm bestimmt.[12]

Tabelle 2-1: Quantenausbeuten Φ der Photolyse von photolabil-geschützter Carbonsäuren.

Photolabile Schutzgruppe	Φ[9]
NB (**7**)	0.08-0.40
DMNB (**16**)	0.08-0.10
MDNB (**15**)	0.08-0.10

Bei einem Vergleich der bathochrom absorbierenden Verbindungen mit den **NB**-Derivaten (**7**) konnte so keine Steigerung der Quantenausbeuten beobachtet werden. In Wasser/Acetonitril Mischungen wurden sogar Fälle mit einer Quantenausbeute von 0 berichtet.[25] Verändert man jedoch die Anregungswellenlänge bathochrom (360 nm), so findet man bei kleinen Absorbanzen (A < 0.1) bei kontinuierlicher Bestrahlung in Acetonitril erhöhte Abspaltungsraten für **DMNB-** (**16**) und **MDNB**- (**15**) geschützte Verbindungen im Vergleich zum entsprechendem **NB**-Derivat (**7**).[26]
Obwohl die eingeführten Substituenten die an sie gestellten Erwartungen wie die Verbesserung der Bathochromie erfüllt haben, zeigen die Werte der Quantenausbeuten, dass sie auch einen Einfluss auf den Photolysemechanismus haben. Für ein verbessertes Verständnis der Substitutionseinflüsse auf die Photolyse benötigt man ein detailliertes photophysikalisches Verständnis der Reaktionsschritte.

Die Reaktionskaskade der Photolyse der 2-Nitrobenzylgruppe (**7**) beginnt mit der lichtinduzierten Anregung in einen Singulettzustand. Quantenmechanistische Untersuchungen haben gezeigt, dass der S_1-Zustand der 2-Nitrobenzylgruppe (**7**) ein nπ*-Zustand ist. Bei dem S_2-Zustand handelt es sich ebenfalls um einem nπ*-Zustand. Die direkte Anregung von S_1 und S_2 aus dem Grundzustand ist somit symmetrieverboten. S_3 und S_4 hingegen sind ππ*-Zustände mit *charge transfer* Charakter, deren Anregung erlaubt ist.

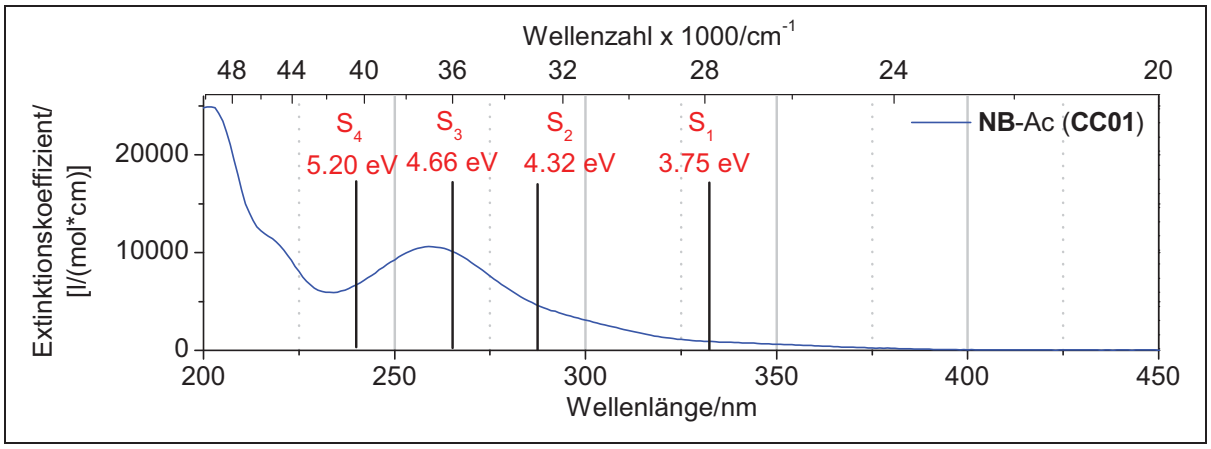


Abbildung 2.7: UV/VIS-Spektrum von **NB**-Ac (**CC01**) mit den Energien der berechneten Übergängen.[10]

Man kann daher davon ausgehen, dass eine Anregung bevorzugt in den S_3- oder S_4-Zustand erfolgt. Durch anschließende Relaxation geht das Molekül innerhalb von 50 fs in den S_1-Zustand ($n\pi^*$) über.

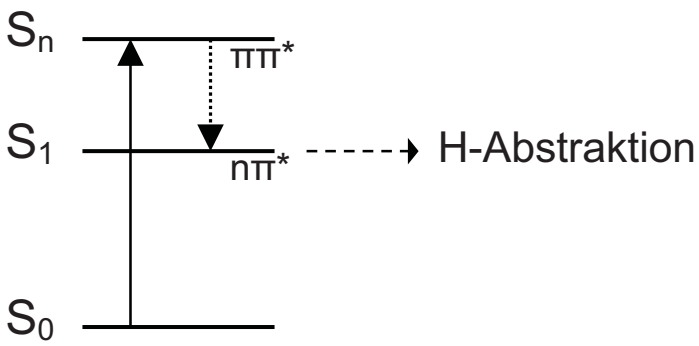


Abbildung 2.8: Anregungsschema der *o*-Nitrobenzylgruppe.

Entsprechend *Kashas Regel* erfolgen photochemische Reaktionen aus einem Singulettzustand immer aus dem S_1-Zustand.[27] Für eine effektive Photolyse aus dem Singulettzustand müsste der nächste Reaktionsschritt aus dem S_1 erlaubt sein. Es handelt sich dabei um die H-Abstraktion von der α-Position durch die Nitrogruppe, die man auch als [1,5]-H-Shift bezeichnen kann.

Turro schlägt vor, dass man Kenntnisse über photochemische H-Abstraktionen gewinnen kann in dem man H-Abstraktionen durch Alkoxyradikale betrachtet.[28] Er

fasst lokal nπ*-angeregte Carbonylgruppen als Biradikale auf und schlägt vor Alkoxyradikale als Modelle für lokal angeregte nπ*-Zustände einzusetzen.

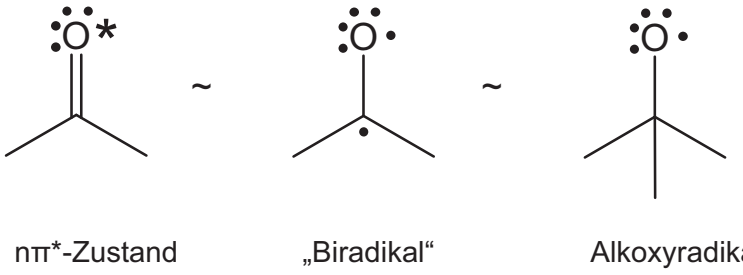


Abbildung 2.9: Alkoxyradikale als Modell für nπ*-angeregte Carbonylgruppen nach *Turro*.[28]

Aufgrund der elektronischen Ähnlichkeit von Nitro- und Carbonylgruppen lässt sich dieses Postulat auch auf nπ*-angeregte Nitrogruppen übertragen.[10]
Da Alkoxyradikale bekanntermaßen sehr gute H-Abstraktoren sind, ist nach diesen Überlegungen anzunehmen, dass auch die nπ*-angeregte Nitrogruppe effizient ein Wasserstoff aus der α-Position abstrahieren kann.

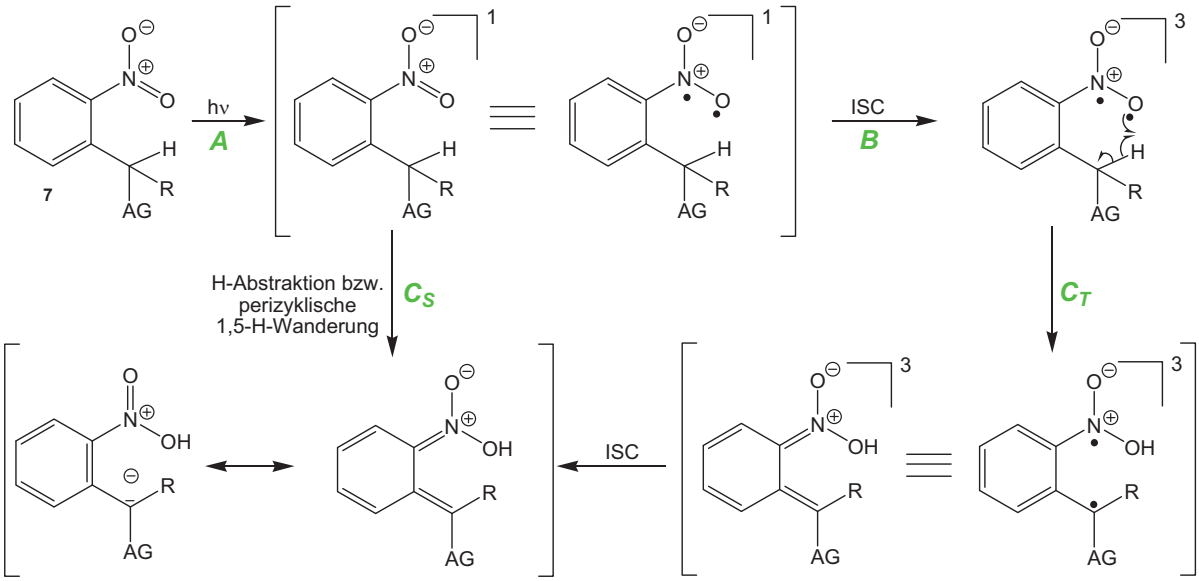


Abbildung 2.10: Mögliche Mechanismen für die H-Abstraktion des angeregten *caged Compounds*.

Wie in Abbildung 2.10 wird die Bildung der *aci*-Nitroform sowohl aus dem angeregten Singulett- (C_S) als auch Triplettzustand (C_T) gezeigt. Bei dieser Stufe konkurriert die perizyklische 1,5-H-Abstraktion aus dem angeregten Singulettzustand mit einem

biradikalischen Reaktionsweg über Zwischenstufen im Triplettzustand. Dieses Schema konnte von *Gilch et al.* mit Hilfe der Femtosekundenspektroskopie bestätigt werden. Ihnen war es möglich zwei Bildungsgeschwindigkeiten des *aci*-Nitrointermediats im Singulettzustand von 8 ps und 2 ns nachzuweisen.[11]

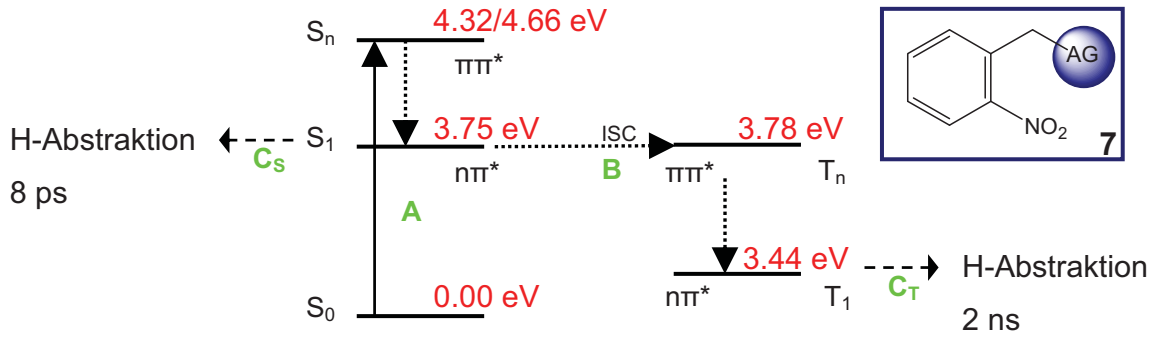


Abbildung 2.11: Anregungsschema über Singulett- und Triplettzustand der *o*-Nitrobenzylgruppe.

Der Reaktionsweg über den Triplettzustand (B→C_T) setzt ein effizientes *Inter System Crossing* voraus. Nach Kaschas Regel müsste sich das Molekül für eine Weiterreaktion in einen nπ*-angeregten T_1-Zustand befinden. Ein direktes ISC aus einem nπ*-Singulettzustand in einen nπ*-Triplettzustand ist spinverboten. Um in einen nπ*-angeregten T_1-Zustand zu gelangen müsste daher ein ISC in einen energetisch höheren ππ*-Triplettzustand erfolgen, gefolgt von Schwingungskühlung und IC (*Internal Conversion*) zum nπ*-angeregten T_1-Zustand.
Quantenmechanische Rechnungen von *Schaper, Fleig et al.* in 2009 haben gezeigt, dass im Falle des 2-Nitrobenzylacetats (**NB**-Ac, **CC01**) der T_2-Zustand ein ππ*-Zustand ist, der mit 3.78 eV nahezu isoenergetisch mit dem S_1-Zustand mit 3.75 eV ist.[10] Dieser geringe energetische Abstand macht ein ISC möglich. Der T_1-Zustand mit 3.44 eV ist, wie für eine anschließende H-Abstraktion nötig, ein nπ*-Zustand. So dass auch quantenmechanische Studien beide Reaktionswege, sowohl über den Singulett- als auch über den Triplettzustand, bestätigen.

Führt man nun Substituenten in das 2-Nitrobenzylsystem **7** ein, verändern sie die elektronischen und photophysikalischen Eigenschaften der Ausgangsverbindung und aller Intermediate. Quantenmechanische Rechnungen des Methylendioxyderivats konnten zeigen, dass auch hier der S_1-Zustand nπ*-Charakter besitzt. [9] Die elektro-

nenschiebenden Substituenten stabilisieren das π-System und bewirken, dass der erste angeregte ππ*-Zustand nun der S_2-Zustand mit 4.02 eV ist. Ohne Substituent handelte es sich bei dem ersten angeregten ππ*-Zustand um den S_3-Zustand mit 4.66 eV. Durch die Einführung der Methylendioxyeinheit war es also möglich die Anregungsenergie für den ersten optisch hellen Übergang um etwa 0.6 eV zu senken (siehe Abbildung 2.12).

Die Methylendioxysubstitution **15** wirkt sich auch auf die Energien der Triplettzustände aus. Für ein mögliches ISC stehen dem nπ*-S_1 wie zuvor ein nahezu isoenergetischer ππ*-Zustand zur Verfügung. Es handelt sich hierbei um den T_3-Zustand. Unglücklicherweise führte die substitutionsbedingte Stabilisierung des π-Systems zu einer Absenkung des ersten ππ*-Zustandes zum T_1 unter den niedrigsten nπ*-Zustand T_2. Es findet ein *State-Switching* statt. Obwohl eine H-Abstraktion aus dem T_2 möglich wäre, konkurriert dieser mit dem schnelleren IC in den T_1.

Es ist daher anzunehmen, dass die Photolyse von methylendioxysubstituierten 2-Nitrobenzylderivaten **15** nach ihrer Anregung aus dem Singulettzustand erfolgt. Da die Reaktion aus dem T_1 nicht stattfindet, verringert sich die Quantenausbeute.

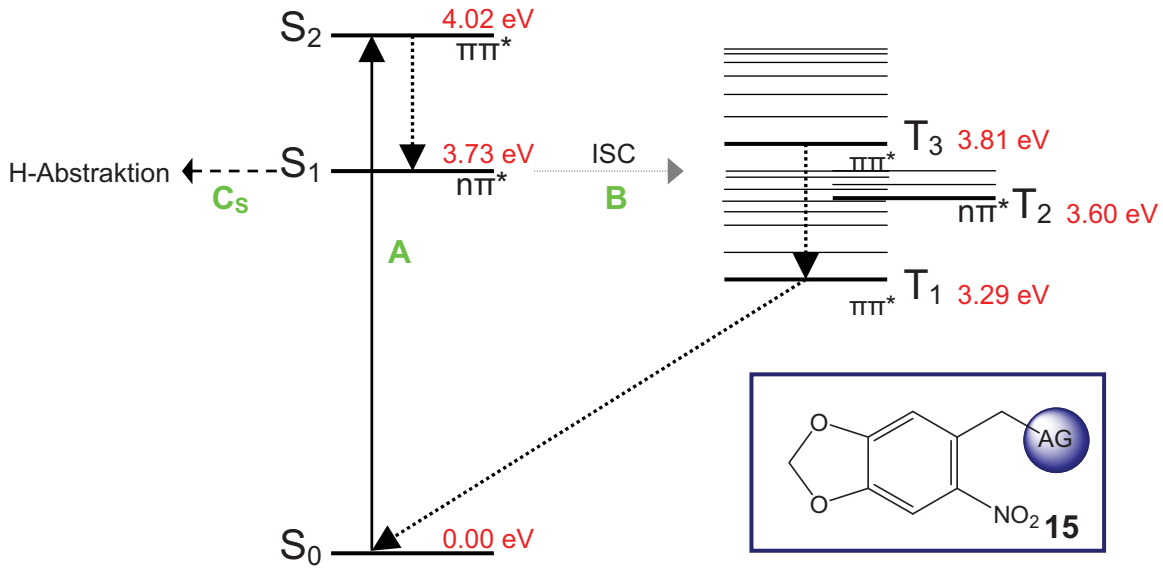


Abbildung 2.12: Anregungsschema für 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylderivate **15**.

Für die Berechnung der Zustandsenergien auf denen diese Schlussfolgerungen beruhen, wurde ein isoliertes Molekül im Vakuum angenommen. Das so vorher-

gesagte Verhalten würde somit einen Versuch in einem unpolaren Lösungsmittel beschreiben. In der Regel werden *Uncaging*experimente unter polareren Bedingungen wie z. B. in Acetonitril oder in wässrigen Puffersystemen durchgeführt. Eine polare Umgebung führt zu einer Stabilisierung polarer Zustände. Im Falle des [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetats (**CC02**) gibt es zwei Zustände mit *charge-transfer* (CT) Charakter. In der Gasphase wird der S_1-Zustand durch eine lokale nπ*-Anregung der NO_2-Gruppe dominiert; der S_2-Zustand durch eine lokale nπ*-Anregung vom Methylendioxyring zum Nitroaromaten mit deutlichem CT-Charakter. In polaren Medien werden somit beide Zustände energetisch abgesenkt. Jedoch ist dieser Effekt für den polaren S_2-Zustand größer. Je nach Polarität des Lösungsmittels kann es zu einem Austausch der Zustände in der energetischen Reihenfolge, *State Switching,* kommen (siehe Abbildung 2.13).[10] Dies führt zu einem S_1-Zustand mit ππ*-Charakter und verhindert somit die Photolyse des *caged Compounds*.

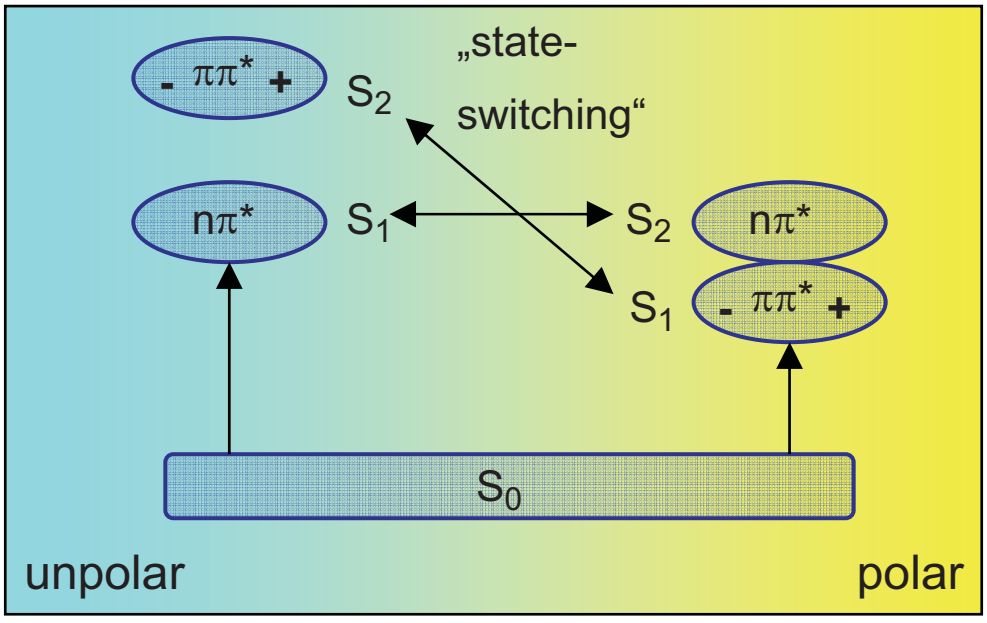


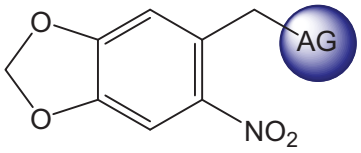
Abbildung 2.13: Schema für „*State-Switching*“ als Folge der lösungsmittelbedingten Stabilisierung.

Dies erklärt auch die unterschiedlichen Angaben von Quantenausbeuten dieser Derivate in der Literatur, sowie das bereits oben erwähnte gänzliche Ausbleiben der Photolyse.

Durch die intensiven mechanistischen Studien auf dem Feld der *caged Compounds* konnten viele Beobachtungen zum Photolyseverhalten der Verbindungen vom **NB**- (**7**) und **MDNB**- (**15**) Typ erklärt werden. Dieses Verständnis wird beim Design von verbesserten photolabilen Schutzgruppen verwendet.

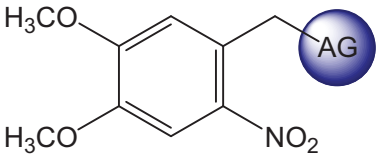
2.2 Zielsetzung

In der Vergangenheit ist es gelungen, bathochrom absorbierende *caged Compounds* zu synthetisieren, die auch unterhalb der für Gewebe schädlichen Strahlungsenergie ($\lambda > 300$ nm) noch eine hinreichende Absorbanz aufweisen. Solche Verbindungen enthalten als *Caging*gruppe z. B. die 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe **MDNB** (**15**) oder die 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe **DMNB** (**16**).



MDNB

4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzylgruppe (**15**)



DMNB

4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe (**16**)

Abbildung 2.14: Ausgewählte Beispiele bathochrom absorbierender *Caging*gruppen.

Die Einführung von elektronendonierenden Substituenten hat zu einer bathochromen Absorption der Verbindungen geführt. Jedoch haben die Substituenten die elektronischen Eigenschaften so verändert, dass im Vergleich zum unsubstituierten *o*-Nitrobenzylderivat **7** *State-Switching* auftritt und so die Quantenausbeute der Photolyse verringert ist oder, je nach Lösungsmittel, die Photolyse ganz unterbleibt.

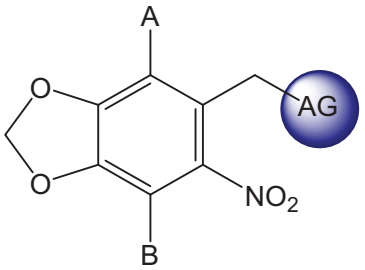


Abbildung 2.15: Beispiel einer donorsubstituierten MDNB-caged Verbindung. A und/oder B = Donor z. B. -OCH_3.

Für zukünftige *Uncaging*experimente wäre es von Interesse noch bathochromer absorbierende photolabile Schutzgruppen zu entwickeln, die sogar oberhalb 400 nm photolysierbar sind. Das Design und die Synthese einer solchen Schutzgruppe sind Ziele dieser Arbeit.

2.3 Design einer neuen photolabilen Schutzgruppe

Verfolgt man die bisherige Strategie für bathochrom absorbierende photolabile Schutzgruppen (siehe Kapitel 2.1), wäre die Einführung von weiteren Donoren in das **MDNB**-System (**15**) der nächste Schritt. Weitere Donoren am Aromaten würden auch wie erwartet zu einem weiteren bathochromen Shift führen. Jedoch würden dadurch die absorbierenden, nicht reaktiven ππ*-Zustände so weit abgesenkt, dass es sich bei ihnen um S_1 und T_1 handelt. Bei dem reaktiven nπ*-Zustand würde es sich dann um einen höher angeregten Zustand handeln, aus dem nach *Kasha* keine Reaktion erfolgt. Eine solche Verbindung wäre als photolabile Schutzgruppe unbrauchbar (siehe Abbildung 2.17).

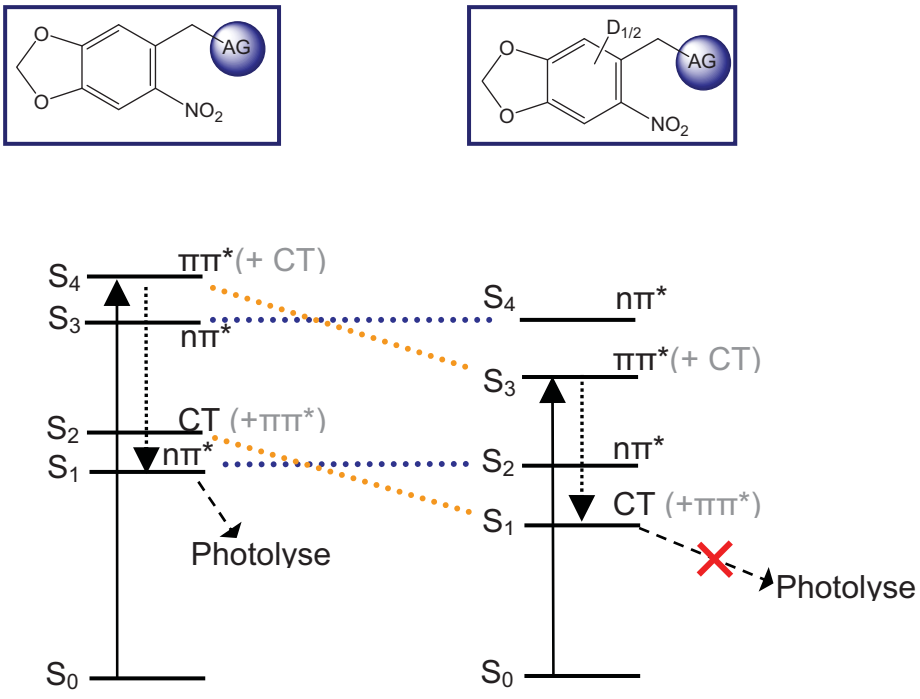


Abbildung 2.16: Vergleich der Zustandsdiagramme der Singulettregime für verschiedene **MDNB**-derivate. ··· : Shift der π π*-Zustände, ··· : Shift der nπ*-Zustände.

Für *caged Compounds*, die bathochrom absorbieren und dennoch effizient photolysieren muss ein Weg gefunden werden, die für die Reaktion essentiellen nπ*-Zustände als S_1- und T_1-Zustände energetisch unter die ππ*-Zustände abzusenken.

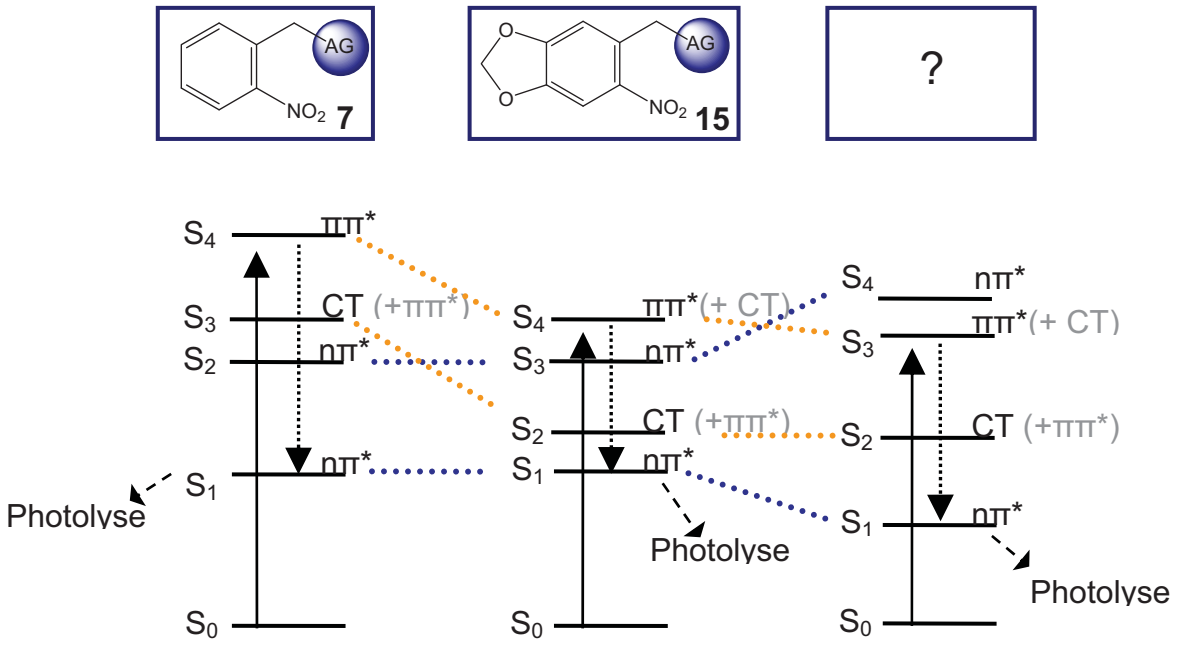


Abbildung 2.17: Zustandsdiagramm der Singulettregime für verschiedene *o*-Nitrobenzylderivate **7**. Links ein Orbitalschema für ein Standardderivat, in der Mitte für ein Methylendioxyderivat **15** und rechts für ein hypothetisches optimiertes Derivat (?). ···: Shift der ππ*-Zustände, ···: Shift der nπ*-Zustände.

Im Idealfall wäre auch für eine bathochromere Absorption der Schutzgruppe eine schwache Absenkung der ππ*-Zustände wünschenswert (siehe Abbildung 2.17).

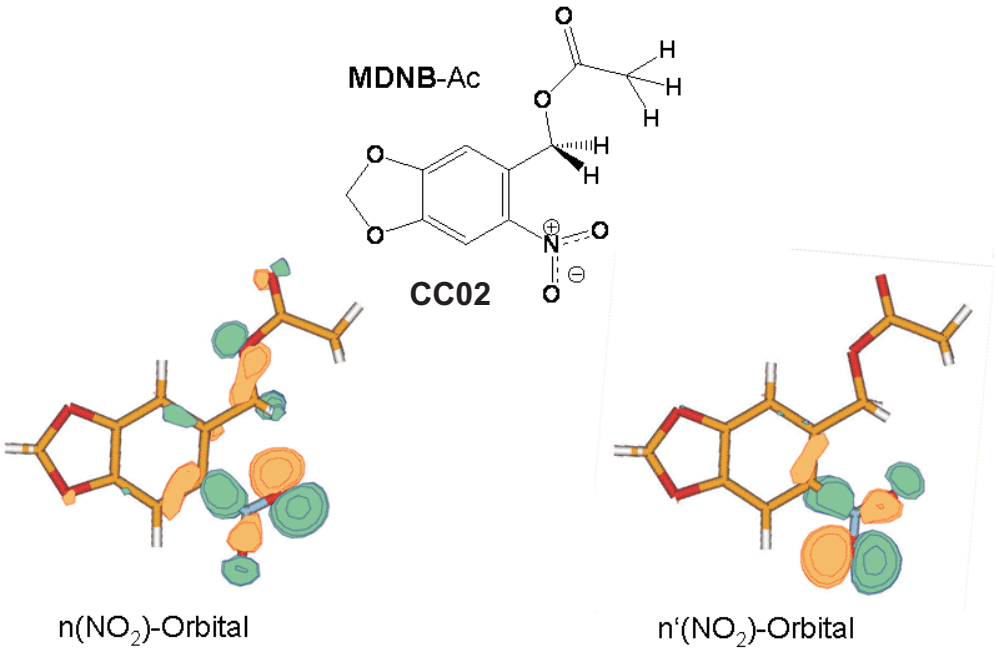


Abbildung 2.18: n-Orbitale der Nitrogruppen nach RI-CC2/aug-cc-pVDZ/RI-CC2/cc-pVDZ des [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetats (**MDNB**-Ac, **CC02**).[10]

Berechnete n-Orbitale der Nitrogruppen des [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetats (**MDNB**-Ac, **CC02**), n(NO_2) und n'(NO_2) (RI-CC2/aug-cc-pVDZ/RI-CC2/cc-pVDZ) lassen ihre Ausdehnung im Molekül erkennen (siehe Abbildung 2.18).

Ziel ist es nun durch einen neuen Substituenten **X** weitere n-Orbitale, n(X) in das bestehende **MDNB**-System einzuführen. Durch die Wechselwirkung mit den n-Orbitalen der Nitrogruppe, n(NO_2) bzw. n'(NO_2), sollen die letzteren energetisch angehoben werden. Je ähnlicher die Energie der n-Orbitale ist desto größer ist die zu erwartende Wechselwirkung (siehe Abbildung 2.19). Es bietet sich daher an eine weitere Nitrogruppe in den Chromophor einzubringen.

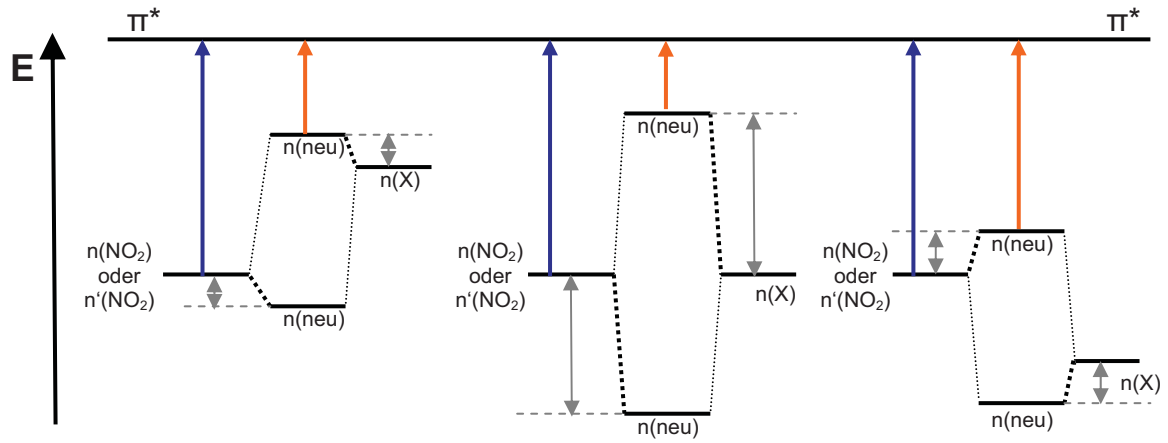


Abbildung 2.19: Energetische Aufspaltung der n-Orbitale n(NO_2) der Nitrogruppe und n(X) eines neuen Substituenten X in einem neuen **MDNB**-derivat. Die Stärke der Aufspaltung richtet sich nach der Ähnlichkeit der Energie der mischenden n-Orbitale. Die blauen Pfeile zeigen die Anregung der **MDNB**-Gruppe (**15**); die orange farbenen Pfeile die Anregung des neuen **MDNB**-Derivats.

An der Darstellung der n-Orbitale (Abbildung 2.18) erkennt man, dass im Falle des n(NO_2)-Orbitals die Konjugation bis in die α-Methyleneinheit und Abspaltungsgruppe reicht. Von einer zweiten Nitrogruppe in meta-Stellung zur ersten Nitrogruppe in α'-Position zur Methyleneinheit würde man ebenfalls dieses Verhalten erwarten. Kombiniert man die Gruppenorbitale der Nitrogruppen, wie sie von *Schaper et al*. berechnet wurden, mit einem typischen Gruppenorbital für die Methylengruppe eines benzylischen Systems, so lässt sich über die elektronische Struktur des obersten n-Orbitals die Wechselwirkung der Nitrogruppen visualisieren (siehe Abbildung 2.20).[10, 29]

Auch eine *ortho*-Stellung der zwei Nitrogruppen wäre für eine effektive elektronische Wechselwirkung denkbar. Da Nitrogruppen jedoch *meta*-dirigierend für eine Zweitsubstitution sind, ist die Einbringung einer weiteren Nitrogruppe in *ortho*-Position synthetisch äußerst schwierig und es sind nur wenige Beispiele für solche Systeme in der Literatur beschrieben.

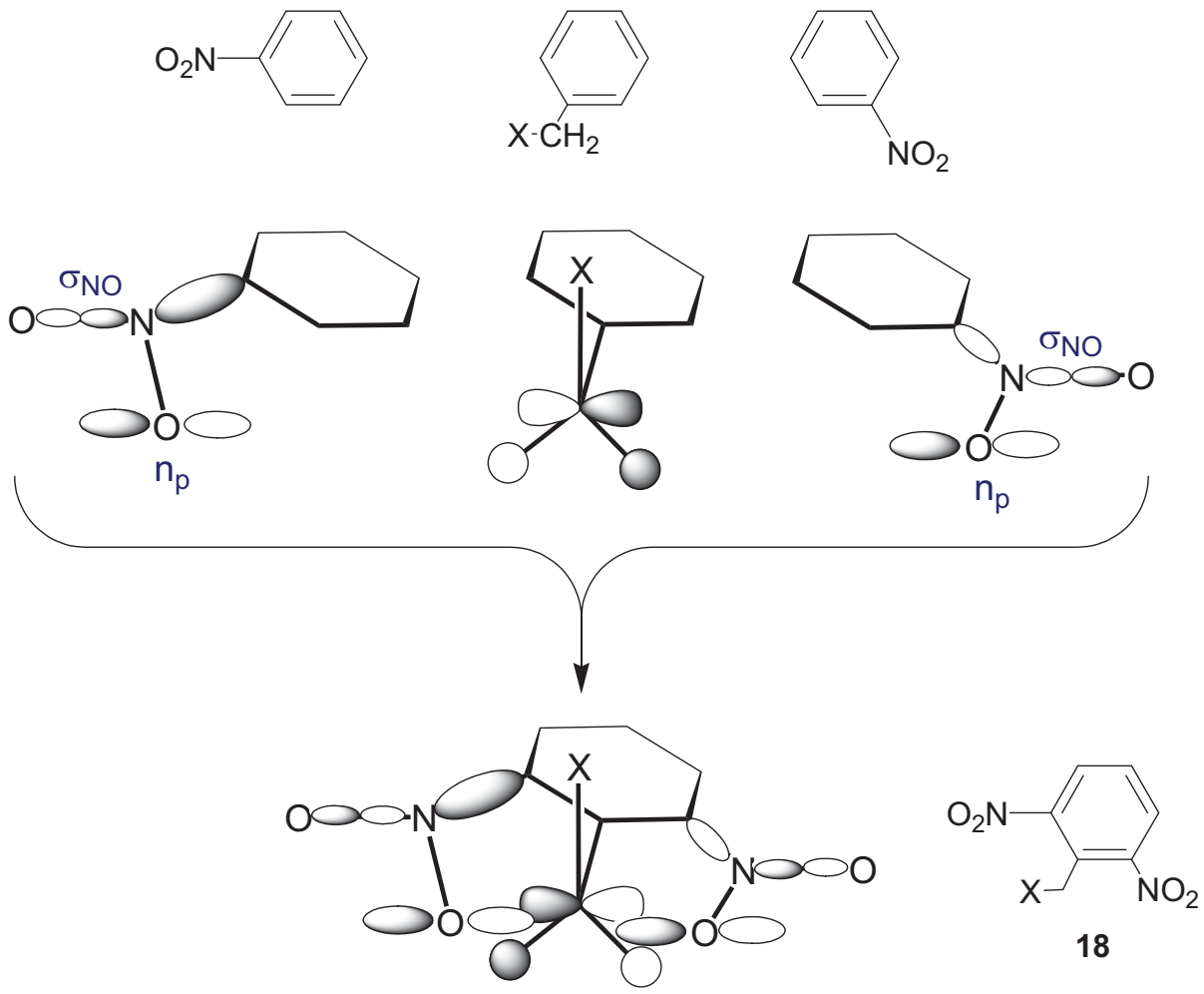
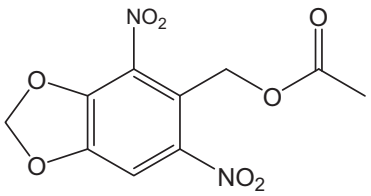


Abbildung 2.20: Vorhergesagte Wechselwirkung der n-Orbitale der Nitrogruppen über das benzylische Grundgerüst.

2,6-Dinitrobenzylgeschützte *caged Compounds* **18** sind bereits in der Vergangenheit synthetisiert und untersucht worden.[25, 30, 31] Es wurden Versuche mit 100%igem Umsatz nach der Bestrahlung mit einem Laserpuls und Quantenausbeuten von 0.59 berichtet. Es ist denkbar, dass durch die unmittelbare Nachbarschaft zweier Nitrogruppen zur Methylengruppe die Wahrscheinlichkeit einer idealen räumlichen Anordnung für die H-Abstraktion signifikant ansteigt. Trotz verstärkter Photolyseeffizienz wird die 2,6-Dinitrobenzylschutzgruppe (**18**) jedoch aufgrund des höheren synthetischen Aufwandes, der geringen Absorbanz im bathochromen Wellenlängenbereich oberhalb 350 nm und dem stark hydrophoben Charakters extrem selten in biologischen Untersuchungen eingesetzt.

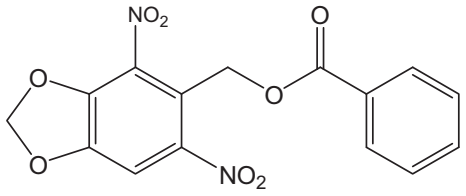
Ziel dieser Arbeit ist es die Eigenschaften der bathochrom absorbierenden methylendioxysubstituierten *caged Compounds* **15** mit denen der effizient photolysierenden

2,6-Dinitrobenzylverbindungen **18** in einer neuartigen photolabilen Schutzgruppe zu vereinen. Auch soll untersucht werden ob in einer Trimethoxynitrobenzylschutzgruppe (**TMNB, 19**) eine zweite Nitrogruppe das [ππ* -nπ*] state-switching unterbinden kann. Das Ergebnis wäre eine 3,4,5-Trimethoxy-2,6-dinitrobenzylgruppe (**TMdiNB, 20**). Um auf bisher erfolgte Untersuchungen aufbauen zu können, werden gezielt geschützte Acetate (Ac) und Benzoate (Bz) als Modellsubstanzen synthetisiert. Als Schutzgruppen werden neben der neuen 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe **MDdiNB** (**21**) und Trimethoxydinitrobenzylschutzgruppe **TMdiNB** (**20**), auch die bereits bekannten *o*-Nitrobenzylgruppe (**NB, 7**) und 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe (**MDNB, 15**) zum Schützen der Carbonsäuren eingesetzt. Die spektroskopischen Eigenschaften und das photolytische Verhalten dieser Verbindungen sollen anschließend mit denen der neuartigen **MDdiNB**-*caged Compounds* **21** untersucht und verglichen werden.



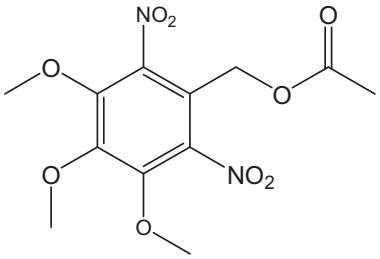
(3,4-Methylendioxy-2,6-dinitrobenzyl)-acetat (**CC03**)

MDdiNB-Ac



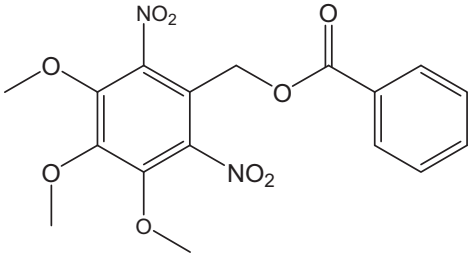
(3,4-Methylendioxy-2,6-dinitrobenzyl)-benzoat (**CC04**)

MDdiNB-Bz



(3,4,5-Trimethoxy-2,6-dinitrobenzyl)-acetat (**22**)

TMdiNB-Ac



(3,4,5-Trimethoxy-2,6-dinitrobenzyl)-benzoat (**23**)

TMdiNB-Bz

Abbildung 2.21: Strukturen der angestrebten Zielmoleküle.

Die Biomoleküle, die in *Uncaging*experimenten eingesetzt werden sind häufig aliphatische Carbonsäuren und Aminosäuren. Das einfachste Modell eines Bioreagenz mit einer Carbonsäureeinheit ist die Essigsäure (**24**). Im Rahmen dieser

Arbeit wird daher eine Auswahl photolabil geschützter Acetate (Ac) synthetisiert. Entsprechend den Überlegungen in Kapitel 2.2 liegt das Hauptaugenmerk auf der neuartigen 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe (**MDdiNB, 21**) als photolabile Schutzgruppe.

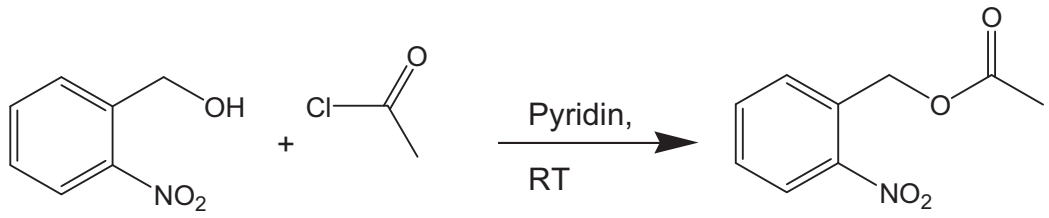
(2-Nitrobenzyl)-acetat (**NB**-Ac, **CC01**) soll in späteren photophysikalischen Untersuchungen als Standard eingesetzt werden, da das Verhalten der **NB**-Schutzgruppe (**7**) bislang am intensivsten untersucht wurde.

2.4 Synthese von *caged* Acetaten

Die Synthesen der *caged* Acetate werden hier als erstes beschrieben. Zunächst wird das Standard-*caged*-Acetat **NB**-Ac (**CC01**) dargestellt.

V1: Die Synthese von (2-Nitrobenzyl)-acetat, (**NB**-Ac, **CC01**) wird nach einer Vorschrift von *F.Bley* durchgeführt.[23]

V1



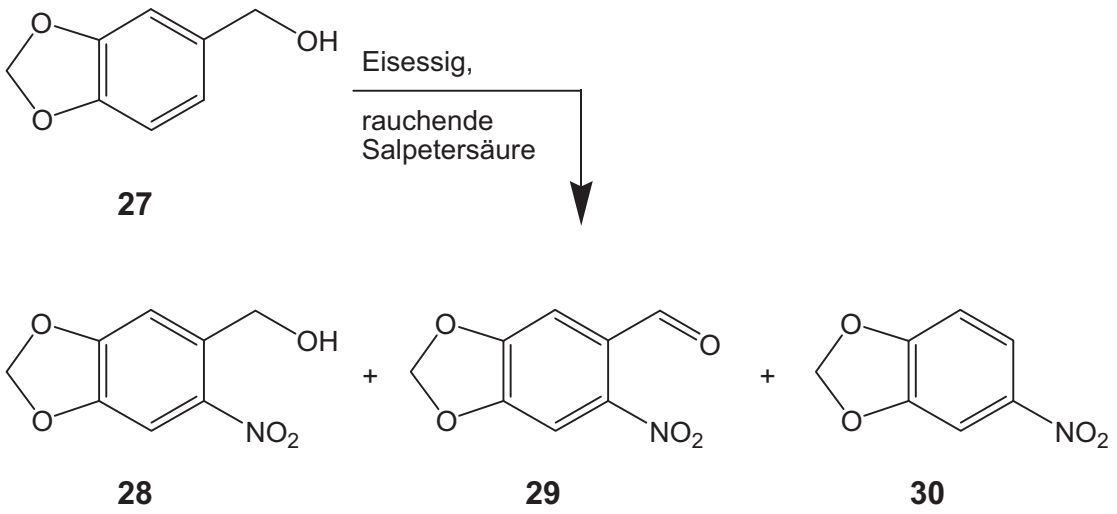
25 **26** **CC01**

Es wird *o*-Nitrobenzylalkohol (**25**) mit Acetylchlorid (**26**) in Pyridin umgesetzt. Man erhält das (2-Nitrobenzyl)-acetat (**CC01**) in einer Ausbeute von 85 %.

Für 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl-geschützte Acetat (**MDNB**-Ac, **CC03**) soll zunächst die Schutzgruppe dargestellt werden. So ist es dann möglich analog zum **NB**-Ac (**CC01**) eine Kopplung mit Acetylchlorid (**26**) durchzuführen. Die Synthese der **MDNB**-Schutzgruppe (**15**) soll durch die Nitrierung von Piperonylalkohol (**27**) gelingen.

V2: Dazu wird Piperonylalkohol (**27**) bei 0 °C mit rauchender Salpetersäure in Eisessig umgesetzt.

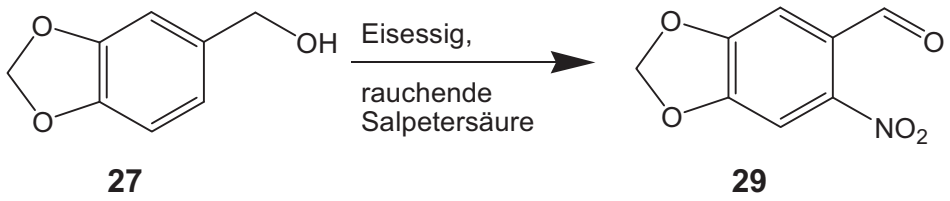
V2



Obwohl diese Synthese in der Vergangenheit erfolgreich mit Ausbeuten bis zu 91 % durchgeführt wurde[23], gelang es hier nur, Gemische aus dem erwünschten 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylalkohol (**28**), dem oxidiertem 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (**29**) und dem Zersetzungsprodukt 2,3-(Methylendioxy)nitrobenzol (**30**) zu erhalten. Es ist anzunehmen, dass die Qualität der Reagenzien sich zu den in der Vergangenheit eingesetzten Verbindungen unterscheidet.

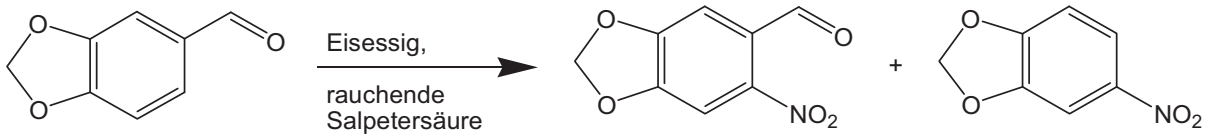
V3: Durch Zugabe des Piperonylalkohols (**27**) bei RT in einer Portion konnte schließlich 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (**29**) in einer Ausbeute von 39 % isoliert werden.

V3



V4: Der Versuch die **MDNB**-Schutzgruppe (**15**) durch die Nitrierung von Piperonylalkohol (**27**) darzustellen hat gezeigt, dass der Alkohol zu oxidationsempfindlich ist, um diese Syntheseroute effizient zu beschreiten. Daher wird der Umweg über den entsprechenden Aldehyd getestet. Das entstehende 6-Nitropiperonal (**29**) könnte dann mit Natriumborhydrid zum Nitropiperonylalkohol (**28**) reduziert werden. Dazu wird Piperonal (**31**) unter den Bedingungen von V2 nitriert.

V4



31 **29** **30**

Die säulenchromatographische Reinigung zeigt, dass man das 6-Nitropiperonal (**29**) in einer Ausbeute von 22 % gewinnt. Es fallen 4 % 3,4-(Methylendioxy)nitrobenzol (**30**) als Nebenprodukt an.

V5: Die Umsetzung des 6-Nitropiperonal (**31**) mit rauchender Salpetersäure ergibt 2,6-Dinitropiperonal (**32**) in einer Ausbeute von 2 %.

V5



29 **32**

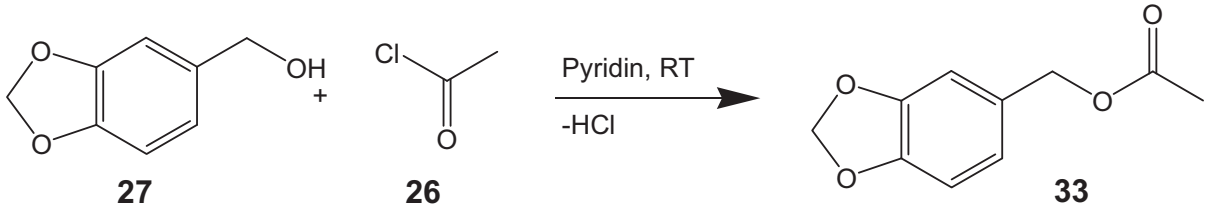
Eine direkte doppelte Nitrierung des Piperonylalkohols (**27**) mit rauchender Salpetersäure wurde nicht untersucht.

Aufgrund der geringen Ausbeute und der zu erwartenden Zunahme der Nebenprodukte bei drastischeren Reaktionsbedingungen, die nach dieser Herangehensweise zur Synthese der zweifach nitrierten **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) nötig wären, wurde diese Strategie aufgegeben.

Ein oxidativer Angriff der benzylischen Hydroxygruppe des Piperonylalkohols (**27**) bzw. der aldehydischen Carbonylgruppe des Piperonals (**31**) führt zu dem hohen Ausbeuteverlust und den vielen Nebenprodukten. Es wird daher eine Syntheseroute eingeschlagen, die zunächst diese Funktionalität blockiert. Entgegen den üblichen Synthesen von *caged Compounds* in denen zunächst die photolabile Schutzgruppe synthetisiert wird und die Kopplung an das Bioreagenz der letzte Syntheseschritt ist, wird hier zunächst die Kopplung der Modellverbindungen durchgeführt. Die entsprechende Nitrierung erfolgt dann in einem zweiten Schritt. Dieser Weg hat den Nachteil, dass bei teuren und empfindlichen Bioreagenzien zunächst eine gängige Carbonsäure als Platzhalter an den Piperonylalkohol (**27**) gekoppelt wird und im

letzten Schritt der Synthese durch eine Umesterung gegen das Bioreagenz ausgetauscht wird.

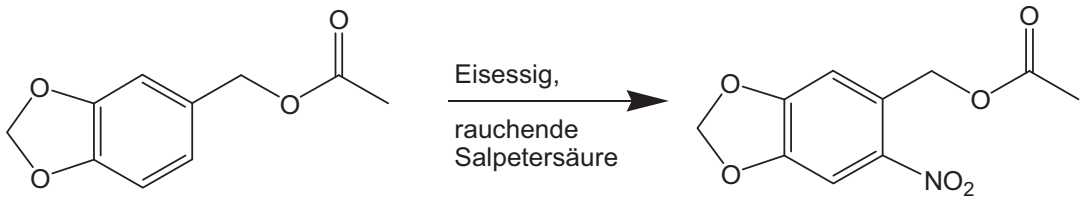
V6: Für die Darstellung des **MDNB**-Acetats (**CC02**) wird im ersten Syntheseschritt mittels Einhorn-Variante der Schotten-Baumann-Reaktion der Essigsäureester des Piperonylalkohols (**27**) synthetisiert.



27 **26** **33** **V6**

Man erhält das Piperonylacetat (**33**) in einer Ausbeute von 99 %.

V7: Die Nitrierung des Piperonylacetats (**33**) mit rauchender Salpertersäure ergibt [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetat (**MDNB**-Ac, **CC02**).



33 **CC02** **V7**

Man erhält das [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetat (**MDNB**-Ac, **CC02**) in einer Ausbeute von 96 %.

Die Gesamtausbeute über 2 Stufen von **MDNB**-Ac (**CC02**) beträgt 95 %. Bisherige Synthesen in denen zuerst die Nitrierung des Piperonylalkohols (**27**) und dann die entsprechende Veresterung durchgeführt wurden, wiesen Gesamtausbeuten von 4[26] – 90[23] % auf. Bei bis zu quantitativer Ausbeute im Falle des Veresterungsschritts ist der ausbeutelimitierende Syntheseschritt die Nitrierung des Alkohols **27**. Obwohl es in einzelnen Fällen gelang Ausbeuten bis zu 91 % für die Darstellung des [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]alkohols, (**MDNB**-OH, **28**) zu erreichen, schwanken die erzielten Ausbeuten dieser Synthese unreproduzierbar stark bis hin zum

kompletten Ausbeuteverlust. Dies ist vermutlich auf Qualitätsschwankungen der unterschiedlichen Produktionschargen des Piperonylalkohols (**27**) zurückzuführen und zeigt, dass es bei *caged Compounds* vom **MDNB**-Typ (**15**) sinnvoll ist die Veresterung vor der Nitrierung durchzuführen, wenn es das Bioreagenz zulässt. Bei Bioreagenzien, die jedoch durch die Nitrierungsbedingungen angegriffen werden, sollte man zunächst die Schutzgruppe mit einer leicht ersetzbaren Estergruppe darstellen. Die Kopplung an das Bioreagenz würde dann in Form einer Umesterung als letzter Syntheseschritt folgen.

V8: Zur Darstellung des [3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-acetats **MDdiNB**-Ac (**CC03**) wird wie bei der Darstellung des mononitrierten Derivats **MDNB**-Ac (**CC02**) Piperonylacetat (**33**) nitriert.

V8

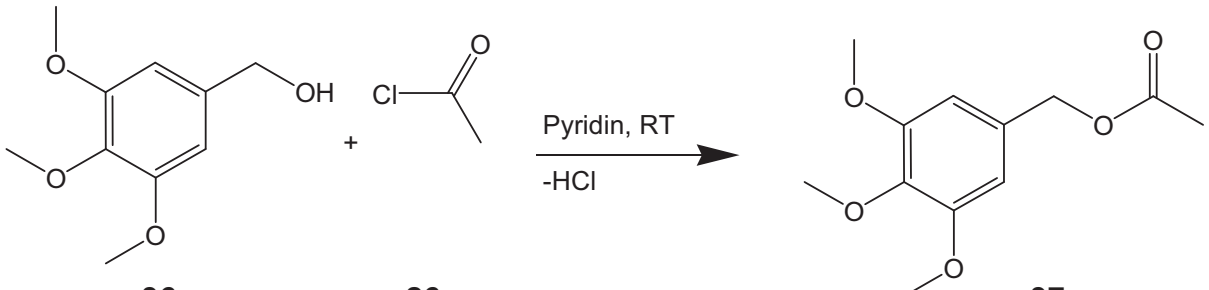


33 **CC03**

Dazu wird der Ester **33** mit rauchender Salpetersäure umgesetzt. Man erhält **MDdiNB**-Ac (**CC03**) in einer Ausbeute von 17 %. Als Nebenprodukt konnte decarboxyliertes, doppelt nitriertes Produkt **34** identifiziert werden.

V9: Zur Darstellung des (3,4,5-Trimethoxy-6-nitrobenzyl)-acetats (**TMNB**-Ac, **35**) wird zunächst 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (**36**) mit Acetylchlorid (**26**) in Pyridin verestert.

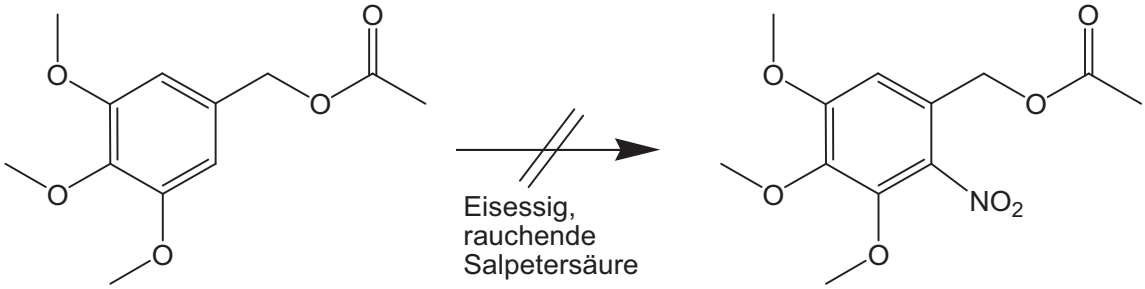
V9



36 **26** **37**

Man erhält 3,4,5-Trimethoxybenzylacetat (**TMB**-Ac, **37**), in einer Ausbeute von 89 %.

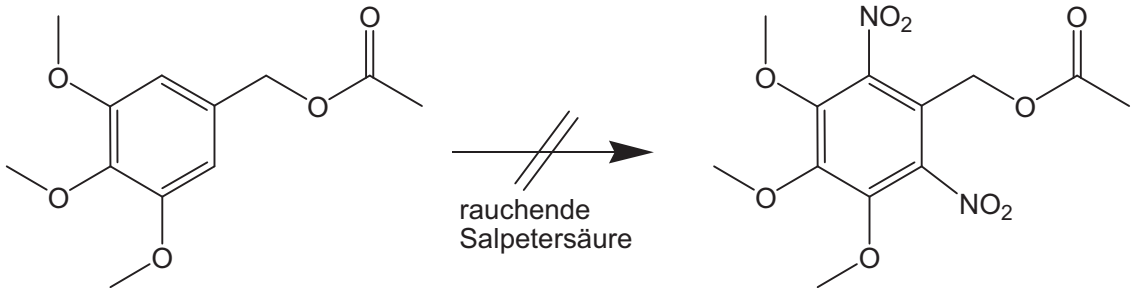
Die anschließende Nitrierung von **TMB**-Ac (**37**) mit Eisessig und rauchender Salpetersäure analog zu dem **V2** sollte zum (3,4,5-Trimethoxy-6-nitrobenzyl)-acetat, (**TMNB**-Ac, **35**) führen.



37 **35**

Das gewünschte Produkt **37** konnte nicht isoliert werden.

Auch der Versuch **TMB**-Ac (**37**) mit rauchender Salpetersäure doppelt zum (3,4,5-Trimethoxy-2,6-dinitrobenzyl)-acetat, (**TMdiNB**-Ac, **22**) zu nitrieren blieb erfolglos.

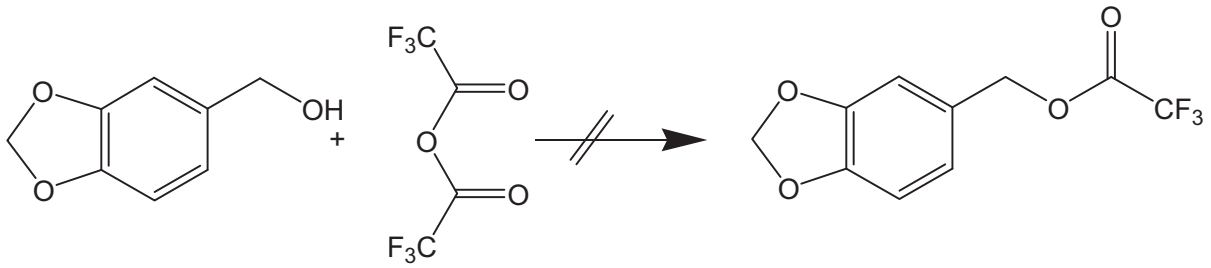


37 **22**

Die Syntheseversuche zur Darstellung **TMNB**-*caged* Acetate **19** wurden an dieser Stelle eingestellt.

Eine Alternative zur Essigsäure (**24**) als Abgangsgruppe stellt die Trifluoressigsäure (**38**) dar. Sie ist sterisch etwas anspruchsvoller. Durch die Fluoratome wirkt sie elektronenziehend und fördert die positive Polarisierung des α-Kohlenstoffatoms der Schutzgruppe. Dies sollte sich positiv auf die Geschwindigkeit der H-Abstraktion in der Photolyse auswirken.

Die Synthese beginnt mit der Veresterung von Piperonylalkohol (**27**). In Anlehnung an die katalysator- und lösungsmittelfreie Veresterung von Piperonylalkohol (**27**) mit Acetanhydrid (**39**) von *Ranu et al.,* wird Trifluoressigsäureanhydrid (**40**) unter Eiskühlung zu Piperonylalkohol (**27**) getropft.[32]

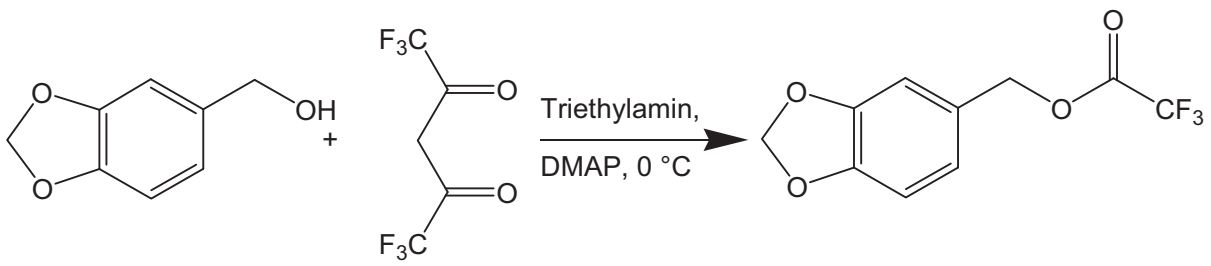


27 **40** **41**

Obwohl eine heftige Reaktion beobachtet werden konnte, gelang es nicht das (Piperonyl)-trifluoracetat (**41**) zu isolieren.

V10: Ein weiterer Versuch in Anlehnung an eine Vorschrift zur Veresterung von Allylalkoholen mit Essigsäureanhydrid von *T. Meier* wird mit Triflouressigsäureanhydrid unternommen.[33]

V10



27 **40** **41**

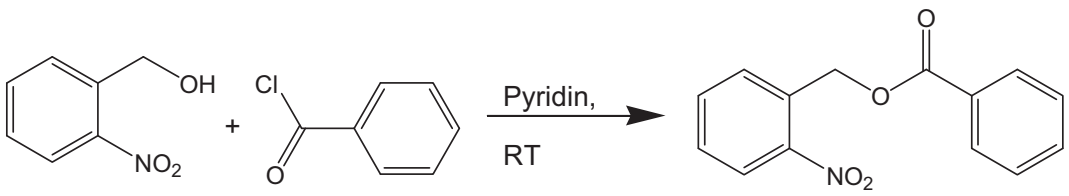
Man erhält das (Piperonyl)-trifluoracetat (**41**) in einer Ausbeute von 35 %. Es konnte eine Zersetzung des Esters bei Raumtemperatur beobachtet werden. Ein erneuter Syntheseversuch schlug fehl, so dass weitere Arbeiten nicht sinnvoll erschienen.

2.5 Synthese von *caged* Benzoaten

Caged Compounds mit der gleichen photolabilen Schutzgruppe aber verschiedenen Abgangsgruppen ermöglichen Kinetikstudien über den Einfluss der Abgangsgruppe auf die Photolyse. Breite Anwendung in Studien von *caged Compounds* finden neben den bereits in Kapitel 2.3 vorgestellten Acetaten auch *caged* Benzoate (Bz).[12, 23, 26, 34] Bei der quantitativen HPLC-Analyse bieten *caged* Benzoate den Vorteil, dass nicht nur die Menge der geschützten Verbindung sondern auch der freien Abgangsgruppe gemessen werden kann. Im Rahmen dieser Arbeit wird versucht photolabil geschützte Benzoate für den Vergleich mit den bereits vorhandenen Acetaten zu synthetisieren. Wie im Kapitel zuvor stehen auch hier die 2-Nitrobenzylgruppe (**NB, 7**), als Standardreferenz und die 4,5-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe (**MDdiNB, 21**) als neuartige Schutzgruppe im Vordergrund.

V11: Das (2-Nitrobenzyl)-benzoat, (**NB**-Bz, **CC05**) kann durch eine einstufige Synthese gewonnen werden.

V11



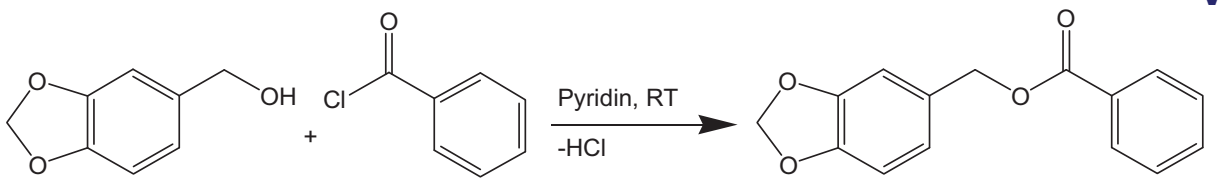
25 **42** **CC05**

In Pyridin wird 2-Nitrobenzylalkohol (**25**) mit Benzoylchlorid (**42**) umgesetzt. Man erhält das Benzoat **NB**-Bz (**CC05**) in quantitativer Ausbeute.

Aus der gewonnenen Syntheseerfahrung bei der Darstellung der methlyendioxy-nitrobenzylgeschützten Acetate, **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**) wird zur Darstellung der entsprechenden Benzoate, [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-benzoat (**MDNB**-Bz, **CC06**) und [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-benzoat (**MDdiNB**-Bz, **CC04**) die Syntheseroute über den Benzoesäureester eingeschlagen.

V12: Analog zum (2-Nitrobenzyl)-benzoat (**CC05**) wird Piperonylalkohol in Pyridin mit Benzoylchlorid verestert.

V12

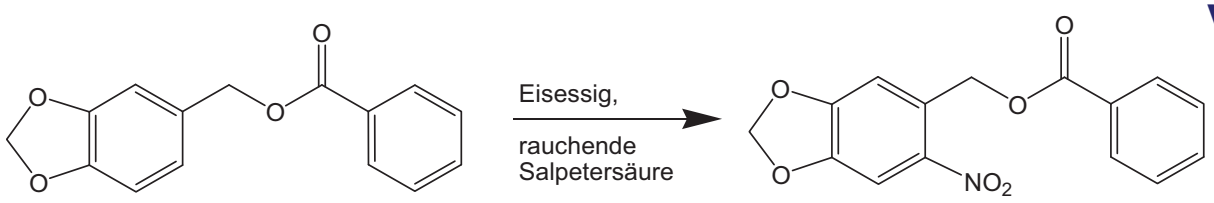


27 **42** **43**

Man erhält das Benzoat **43** quantitativ.

V13: Die Nitrierung des Piperonylbenzoat (**43**) zum [4,5-(Methylendioxy)-2-nitro-benzyl]-benzoat (**CC06**) erfolgt analog **V7** mit Eisessig und rauchender Salpetersäure in einer Ausbeute von 58 %.

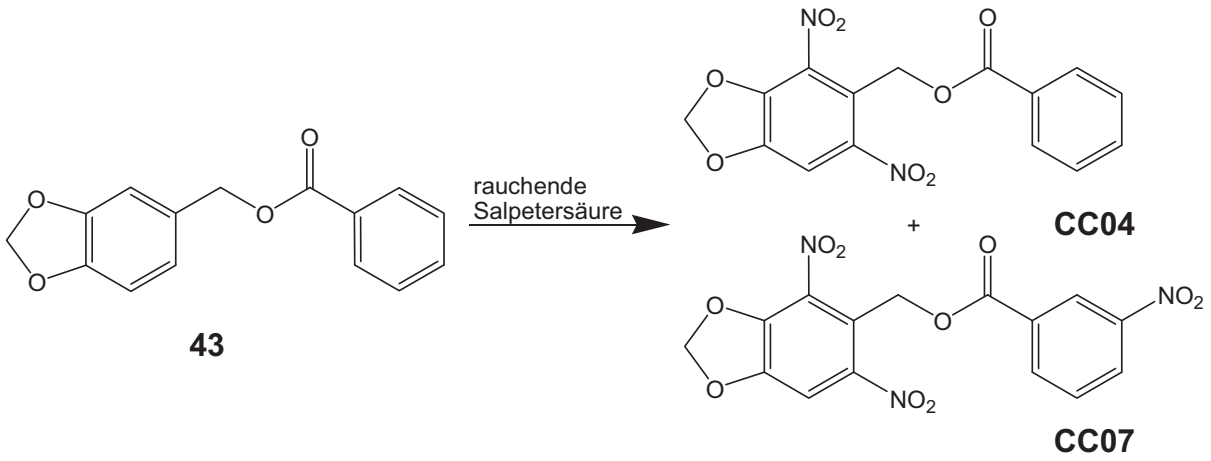
V13



43 **CC06**

V14: Für die Darstellung des [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-benzoats, **MDdiNB**-Bz, (**CC04**) wird von dem Piperonylbenzoat (**43**) ausgegangen. Die Umsetzung erfolgt analog dem Versuch für **MDdiNB**-Ac (**CC03**).

V14



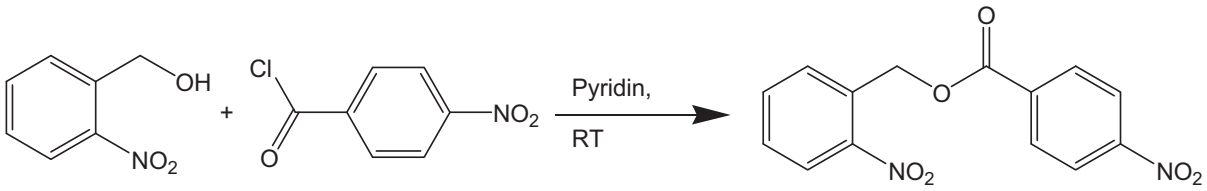
43 **CC04** **CC07**

Auf diese Weise erhält man weitere Produkte: das gewünschte **MDdiNB**-Bz (**CC04**) und [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-2-nitrobenzoat **(MDdiNB**-2NBz, **CC07**). Die isolierte Produktmenge betrug ca. 50 %. Es gelang nicht dieses Verbindungsgemisch säulenchromatographisch zu trennen.

Bisherige Studien von *caged Compounds* haben gezeigt, dass der Einfluss der geschützten Carbonsäureeinheit auf die Quantenausbeute gering ist.[25] Um ein sauberes **MDdiNB**-geschütztes Benzoat zu erhalten, wird daher ein Benzoesäurederivat als Modellbioreagenz gewählt, welches durch die Nitrierung nicht beeinflusst wird. Die Wahl fällt auf 4-Nitrobenzoesäure. *Caged* 4-Nitrobenzoate werden bei der Nitrierung der Schutzgruppe nicht ebenfalls nitriert und bieten durch die Spiegelsymmetrie des Aromaten einfachere NMR-spektroskopische Daten.

V15: Für die Darstellung von (2-Nitrobenzyl)-4-nitrobenzoat **NB**-4NBz (**CC08**) wird 2-Nitrobenzylalkohol (**25**) in Pyridin mit 4-Nitrobenzoylchlorid (**44**) verestert.

V15

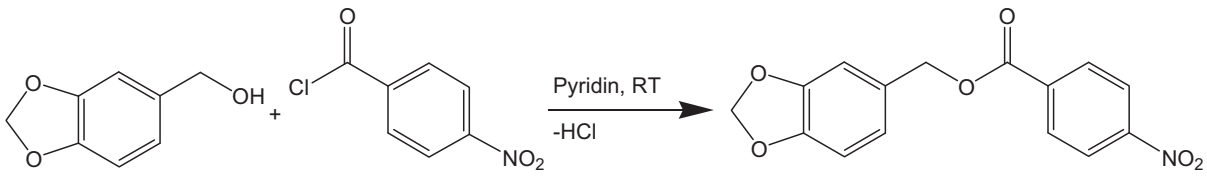


25 **44** **CC08**

Nach säulenchromatographischer Reinigung kann das Produkt in einer Ausbeute von 95 % isoliert werden.

V16: Zur Synthese von **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) wird im ersten Schritt das Piperonyl-4-nitrobenzoat (**45**) dargestellt.

V16

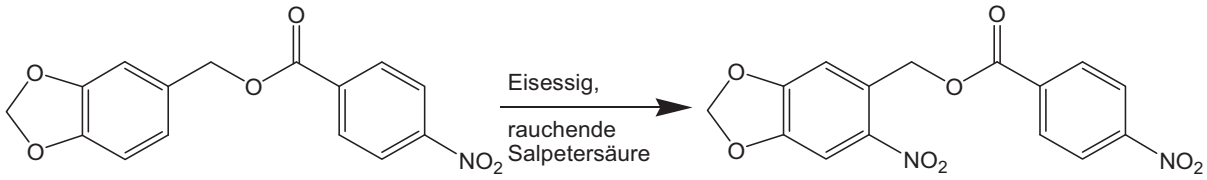


25 **44** **45**

Dies geschieht in Anlehnung an die bisher in dieser Arbeit vorgestellten Synthesen zu Piperonylestern. Piperonylalkohol wird in Pyridin mit 4-Nitrobenzoylchlorid umgesetzt. Man erhält den Ester **MDB**-4NBz (**45**) in einer Ausbeute von 92 %.

V17: Die Nitrierung des Ester **MDB**-4NBz (**45**) erfolgt analog zu **V2,** der Darstellung von [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]alkohol (**28**), mit einem Gemisch aus rauchender Salpetersäure und Eisessig. Sie ergibt [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-4-nitrobenzoat (**MDNB**-4NBz, **CC10**) in einer Ausbeute von 98 %.

V17



45 **CC10**

V18: Nitrierung des Ester **MDB**-4NBz (**45**) in rauchender Salpetersäure führt zur [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-*caged* 4-Nitrobenzoesäure (**MDdiNB**-4NBz, **CC09**) in einer Ausbeute von 92 %.

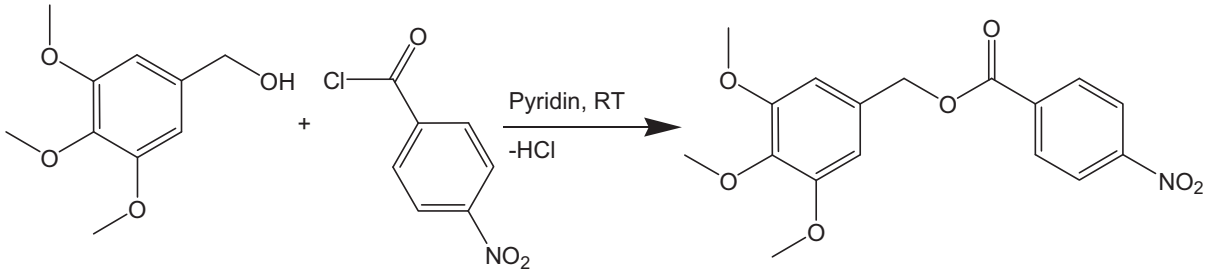
V18



45 **CC09**

V19: Zur Darstellung des 3,4,5-Trimethoxy-6-nitrobenzyl-geschützten 4-Nitrobenzoats **TMNB**-4NBz (**46**) wird 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (**36**) mit 4-Nitrobenzoylchlorid (**44**) in Pyridin verestert.

V19



36 **44** **47**

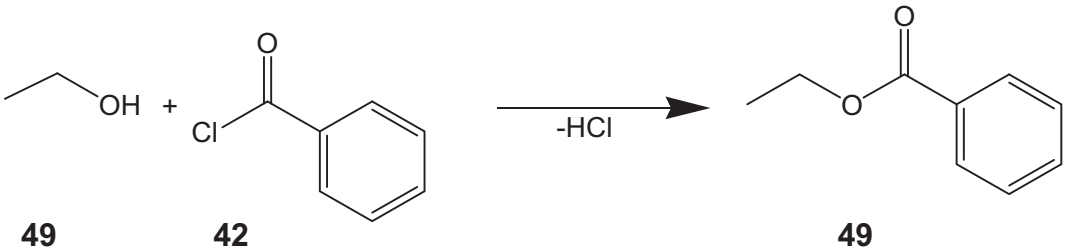
Man erhält (3,4,5-Trimethoxybenzyl)-4-nitrobenzoat (**TMB**-Bz, **47**), in einer Ausbeute von 90 %.

Da die zuvor beschriebenen Synthesen des trimethoxynitrobenzyl-geschützten Acetats **35** nicht erfolgreich waren, werden keine Versuche unternommen **TMB**-4NBz (**47**) zu nitrieren und es so in eine *caged* Verbindung umzuwandeln.

Für spätere Untersuchungen (siehe Kapitel 2.5) werden UV-Vis-spektroskopische Daten der Acetat-, Benzoat- und 4-Nitrobenzoateinheiten der synthetisierten *caged Compounds* benötigt. Als Modellverbindungen sollen die Ethylester der entsprechenden Säuren dienen: Ethylacetat (**Et**-Ac, **48**) Ethylbenzoat (**Et**-Bz, **49**) und Ethyl-4-nitrobenzoat (**Et**-4NBz, **50**). Ethylbenzoat (**49**) und Ethyl-4-nitrobenzoat (**50**) müssen synthetisiert werden.

V20: Für die Synthese von Ethylbenzoat (**49**) wird Benzoylchlorid (**42**) mit Ethanol (**51**) bei RT umgesetzt. Man erhält das Produkt **49** in einer Ausbeute von 41 %

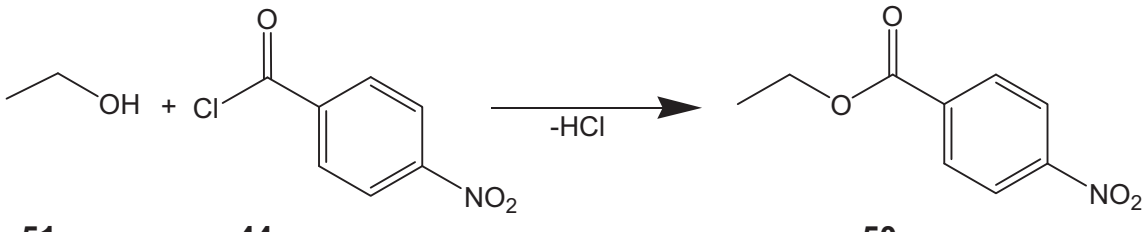
V20



49 **42** **49**

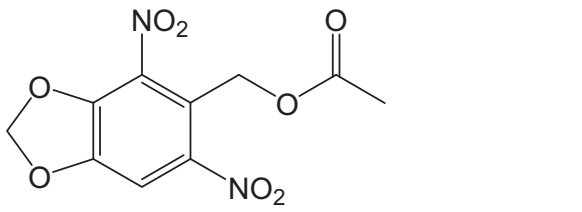
V21: Das Ethyl-4-nitrobenzoat (**50**) erhält man aus der Umsetzung von Nitrobenzoylchlorid (**44**) mit Ethanol (**51**) in einer Ausbeute von 89 %.

V21

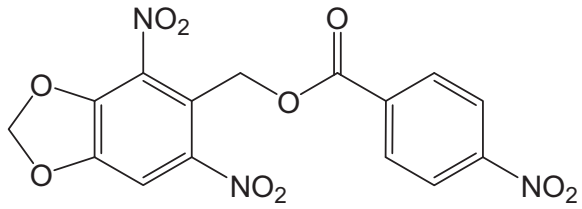


51 **44** **50**

2.6 UV-Vis-spektroskopische Untersuchung der synthetisierten *caged Compounds*



CC03
MDdiNB-Ac



CC09
MDdiNB-4NBz

Abbildung 2.22: Synthetisierte neue *caged Compounds* mit der 3,4-Methylen-2,6-dinitrobenzyl-Schutzgruppe **MDdiNB.**

In Kapitel 2.1 wurde die Motivation zum Design neuer bathochrom absorbierender *caged Compounds* dargelegt. Um dieses Ziel zu erreichen wurden [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-acetat, (**MDdiNB**-Ac, **CC03**) und [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-4-nitrobenzoat, (**MDdiNB**-4NBz, **CC09**) erfolgreich synthetisiert. Ihr Absorptionsverhalten soll nun mit Derivaten verglichen werden, die andere photolabile Schutzgruppen tragen. Dazu wurden Essigsäure und 4-Nitrobenzoesäure jeweils mit einer *o*-Nitrobenzylgruppe **NB** (**7**) und einer 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe **MDNB** (**15**) geschützt. Man erhält die Acetate **NB**-Ac (**CC01**) und **MDNB**-Ac (**CC02**) und 4-Nitrobenzoate **NB**-4NBz (**CC08**) und **MDNB**-4NBz (**CC10**). Weiterhin wurden auch die entsprechenden Benzoesäurederivate **NB**-Bz (**CC05**) und **MDNB**-Bz (**CC06**) synthetisiert.

Vergleicht man die UV-Vis-Spektren von den drei *caged* Acetaten: **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**), in Acetonitril so erkennt man, dass die zweite Nitrogruppe des **MDdiNB**-Ac (**CC03**) den erhofften Einfluss auf die Absorption des Chromophors aufweist. Zu der bereits in Kapitel 2.2 erwähnten bathochromen Verschiebung der Absorptionskante durch die Einführung der Methylendioxyeinheit um ca. 35 nm wird diese im Absorptionsspektrum des **MDdiNB**-Ac (**CC03**) durch die Nitrogruppe um weitere ca. 25 nm bathochrom verschoben. Das Maximum der bathochromsten Bande wird dabei um 17 nm von 345 nm auf 362 nm verschoben.

Die Intensität der Bande nimmt von ε(**MDNB**-Ac@345nm) = 9920 l/(mol·cm) auf ε(**MDdiNB**-Ac@362nm) = 8740 l/(mol·cm) ab.

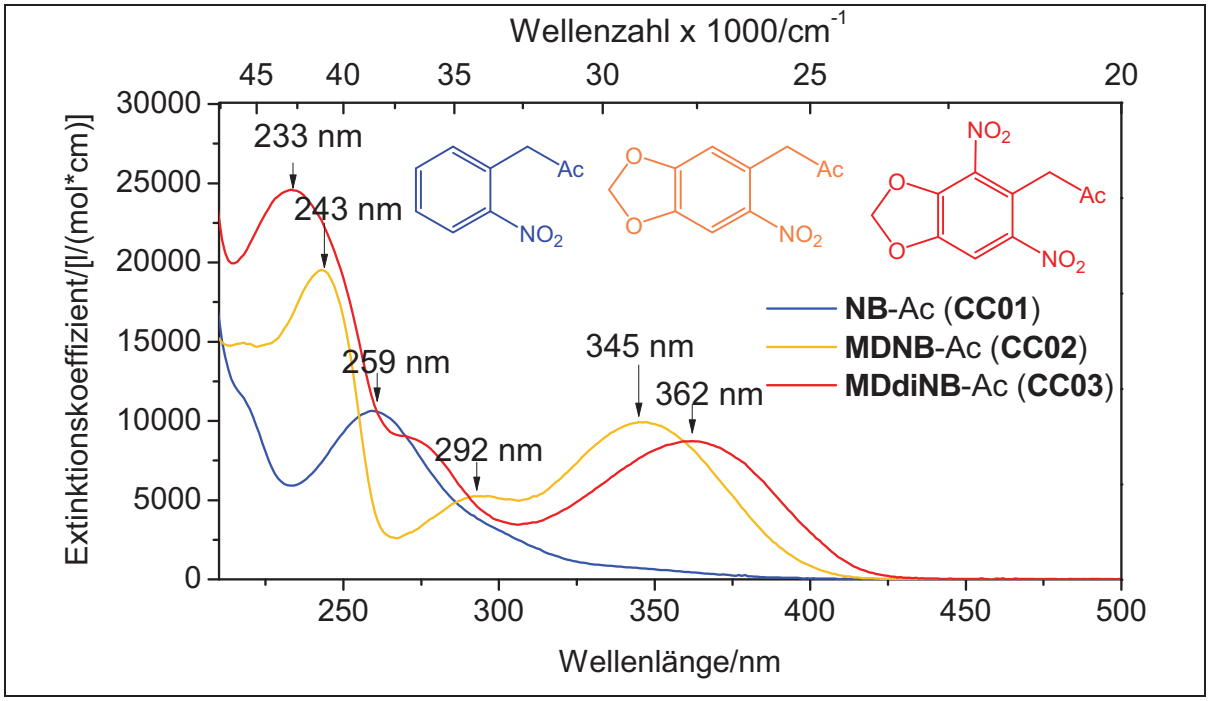


Abbildung 2.23: UV-Vis-Spektren der photolabil geschützten Acetate **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**) in Acetonitril.

Bei den UV-Vis-Spektren der 4-Nitrobenzoate (siehe Abbildung 2.24) ist ebenfalls eine zusätzliche bathochrome Verschiebung der bathochromen Bande um 13 nm durch die zweite Nitrogruppe zu beobachten.

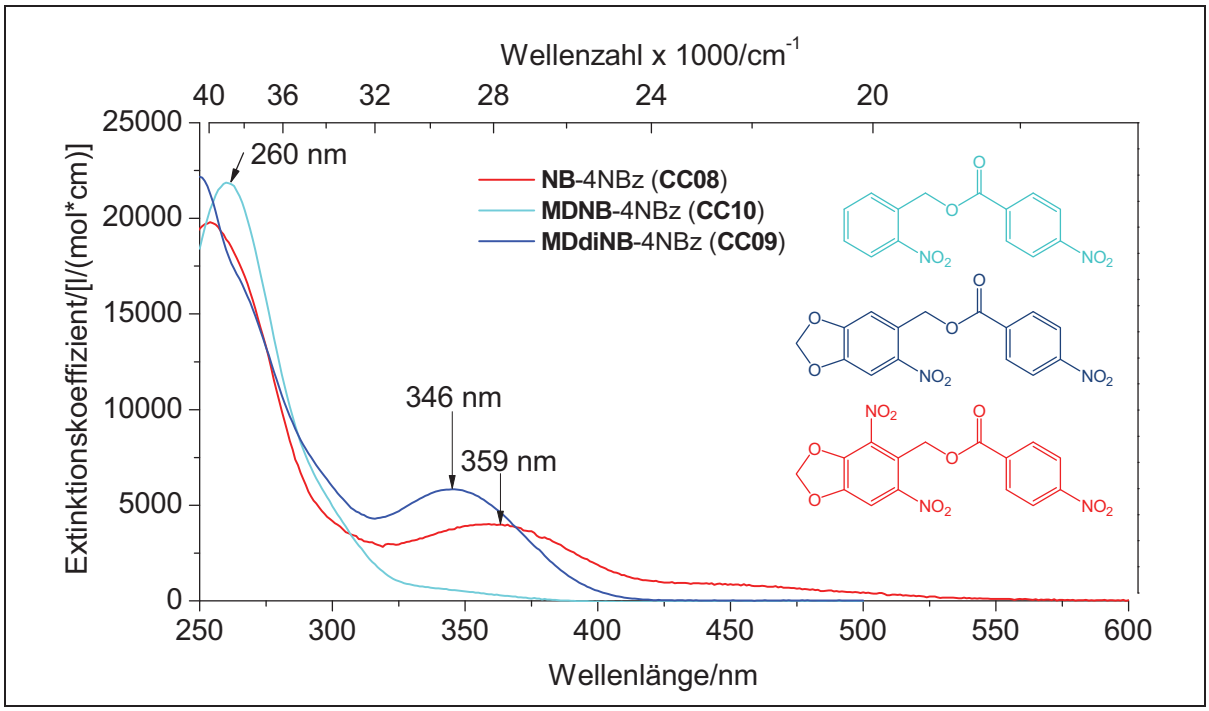


Abbildung 2.24: UV-vis-Spektren der photolabil geschützten Nitrobenzoate **NB**-4NBz (**CC08**), **MDNB**-4NBz (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) in Acetonitril.

Auch hier verliert die Bande an Intensität. Durch das Sichtbarwerden einer schwachen weiteren Bande bei ca. 450 nm wird die Absorptionskante sogar um ca. 135 nm bathochrom verschoben.

In Hinblick auf reale *Caging*experimente mit der 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe (**21**) ist eine höhere Effizienz der Photolyse bei Bestrahlung mit Licht längerer Wellenlänge zu erwarten als beim Einsatz der *o*-Nitrobenzyl- (**7**) und der 4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzylgruppe (**15**). Dies soll durch Bestrahlungsversuchen bei denen der photolytische Abbau der **MDdiNB**-*caged Compounds* untersucht wird, bestätigt werden.

2.7 Studien zum photolytischen Abbau von *caged Compounds*

Die UV-Vis-spektroskopischen Untersuchungen (siehe Kapitel 2.5) haben gezeigt, dass *caged Compounds*, die mit der 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe **MDdiNB** (**21**) versehen wurden, bathochromer absorbieren als die Analoga vom *o*-Nitrobenzyl- **NB** (**7**) und 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl-Typs **MDNB** (**15**). Es ist daher zu erwarten, dass diese neuen Verbindungen bei Bestrahlung mit langwelligerem Licht effizienter photolysieren. Um dieses Verhalten eingehend zu studieren werden Lösungen von *caged Compounds* bestrahlt und der resultierende Abbau der *caged Compounds* quantifiziert. Die Quantifizierung des Abbaus erfolgt durch die Mengenbestimmung des *caged Compounds* oder der abgespaltenen Substanz mit Hilfe einer NMR spektroskopischen Analyse oder HPLC.

Die Menge der abgebauten *caged Compounds* können mit der Quantenausbeute der Abbaureaktion Φ und der Anzahl der absorbierten Photonen I_{Abs} beschrieben werden.

$$\Phi = \frac{\partial n_x}{\partial n_p^{Abs}} \quad \rightarrow \quad \partial n_p^{Abs} = \frac{\partial n_x}{\Phi} \qquad (\mathbf{2.1})$$

Φ: Quantenausbeute des Abbaus
n_x: Menge der abgebauten *caged Compounds*
n_p^{Abs}: Anzahl der absorbierten Photonen

Dabei ergibt sich die Anzahl der absorbierten Photonen zu:

$$I_{Abs} = \frac{\partial n_p^{Abs}}{\partial t} \rightarrow \quad \partial n_p^{Abs} = I_{Abs} \cdot \partial t \qquad (\mathbf{2.2})$$

I_{Abs}: Intensität des absorbierten Lichts

t: Zeit/s

$$\frac{\partial n_x}{\Phi} = I_{Abs} \cdot \partial t \qquad \rightarrow \qquad \partial n_x = I_{Abs} \cdot \partial t \cdot \Phi \tag{2.3}$$

Um die Eignung der verschiedenen *Caging*gruppen später beurteilen zu können, liegt das Interesse auf der Abbaueffizienz der Verbindungen. Dies ist entspricht der Menge der freigesetzten biologisch aktiven Verbindung unter den angewandten Versuchsbedingungen. Idealerweise bedeutet dies die Bestrahlung mit einem kurzen energiearmen Laserpuls. Wellenlängen über ca. 300 nm minimieren eine Wechselwirkung mit dem biologischen Material wie z. B. Proteine oder DNA. Ein kurzer Puls ermöglicht eine hohe zeitliche Auflösung. Aufgrund der kurzen Belichtungsdauer ist die Abspaltungsgeschwindigkeit v zu Beginn der Bestrahlung zum Zeitpunkt t = 0 s ein vergleichbares Mass für die Abbaueffizienz.

$$v = \frac{\partial n_x}{\partial t} \tag{2.4}$$

Diese Menge des abgebauten *caged Compounds* kann nun in die Formel für die Geschwindigkeit des photolytischen Abbaus eingesetzt werden (**2.3** in **2.4**).

$$v = \frac{I_{Abs} \cdot \partial t \cdot \Phi}{\partial t} \qquad \rightarrow \qquad v = \Phi \cdot I_{Abs} \tag{2.5}$$

Die Quantenausbeute ist eine wellenlängenunabhängige Konstante. I_{Abs} hingegen ist keine Konstante. Die Absorptionsfähigkeit einer Lösung wird durch das Lambert-Beersche Gesetz beschrieben.

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot c \cdot d \tag{2.6}$$

I: Intensität des transmittierten Lichts

I_0: Intensität des eingestrahlten Lichts

ε: Extinktionskoeffizient/($l \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$)

c: Konzentration/($mol \cdot l^{-1}$)

d: Schichtdicke/cm

Da die Intensität des eingestrahlten Lichts der Summe des absorbierten und transmittierten Lichts entspricht ergibt sich für die Absorbanz A:

$$A = -\log\frac{I}{I_0} = \log\frac{I_0}{I_0 - I_{Abs}} \qquad (\mathbf{2.7})$$

Durch Umformen erhält man folgenden Zusammenhang zwischen dem absorbierten und eingestrahlten Licht:

$$\Leftrightarrow \quad 10^A = \frac{I_0}{I_0 - I_{Abs}}$$

$$\Leftrightarrow \quad 10^A \cdot (I_0 - I_{Abs}) = I_0$$

$$\Leftrightarrow \quad 10^A \cdot I_{Abs} = 10^A \cdot I_0 - I_0$$

$$\Leftrightarrow \quad 10^A \cdot I_{Abs} = I_0 \cdot (10^A - 1)$$

$$\Leftrightarrow \quad \boxed{I_{Abs} = I_0 \cdot \frac{(10^A - 1)}{10^A}} \qquad \Leftrightarrow \quad I_{Abs} = I_0 \cdot \frac{(10^{\varepsilon \cdot c \cdot d} - 1)}{10^{\varepsilon \cdot c \cdot d}}$$

$$\Leftrightarrow \quad I_{Abs} = I_0 \cdot (1 - 10^{-\varepsilon \cdot c \cdot d}) \qquad \Leftrightarrow \quad I_{Abs} = I_0 \cdot (1 - e^{-2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d}) \qquad (\mathbf{2.8})$$

Der Extinktionskoeffizient und die Schichtdicke sind in den durchgeführten Experimenten konstant. Die Konzentration hingegen nimmt durch den photolytischen Abbau ab. Dies bedeutet, dass auch weniger Moleküle zur Absorption zur Verfügung stehen und I_{Abs} sinkt. Bei hohen Konzentrationen jedoch wird das Licht komplett absorbiert und eine Konzentrationsänderung wirkt sich nicht auf die Anzahl an absorbierten Photonen pro Zeit aus.
Bei einer Absorbanz von 1 wird gemäß der obigen eingerahmten Gleichung 90 % des eingestrahlten Lichts absorbiert. Bei einer Absorbanz von 2 sind es bereits 99 %. Man kann daher davon ausgehen, dass bei einer Absorbanz > 2 die Intensität des eingestrahlten Lichts I_0 der Intensität des absorbierten Lichts I_{Abs} entspricht.

$$A > 2 \quad \Leftrightarrow \quad I_{Abs} \cong I_0 \cong const. \qquad (\mathbf{2.9})$$

Mit Hilfe der zuvor hergeleiteten Reaktionsgeschwindigkeit v lässt sich bei hoch konzentrierten Lösungen mit A > 2 einen linearen Zusammenhang zwischen der Kon-

zentration des *caged Compounds* zur Bestrahlungszeit beobachten. Für den photolytischen Abbau erhält man eine Gerade deren Steigung das Produkt des eingestrahlten Lichts und der Quantenausbeute ist.

$$v = -\frac{\partial c}{\partial t} = \Phi \cdot I_{Abs} \cong \Phi \cdot I_0$$

$$\Leftrightarrow \quad \partial c \cong \Phi \cdot I_0 \cdot \partial t$$

$$\Leftrightarrow \quad \partial c \cong \Phi \cdot I_0 \cdot \partial t$$

$$\Leftrightarrow \quad \partial c \cong const \cdot \partial t \qquad (\mathbf{2.10})$$

Bei niedrigeren Konzentrationen ist diese Näherung nicht anwendbar. Zur Vereinfachung wird eine Taylorentwicklung am Punkt a = 0 durchgeführt.

$$T_n(x) = g(a) + \frac{g'(a)}{1!}(x-a) + \frac{g''(a)}{2!}(x-a)^2 + ... + \frac{g^{(n)}(a)}{n!}(x-a)^n \qquad (\mathbf{2.11})$$

Die Taylorreihenentwicklung wird für die e-Funktion g(x) durchgeführt.

$$f(x) = I_{Abs} = I_0 \cdot (1 - e^{-x}) = I_0 - I_0 e^{-x} \qquad \text{mit: } x = 2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d$$

$$\Leftrightarrow \quad g(x) = e^{-x}$$

$$\Leftrightarrow \quad g'(x) = -e^{-x} \quad \rightarrow \quad g'(0) = -1$$

$$\Leftrightarrow \quad g''(x) = e^{-x} \quad \rightarrow \quad g''(0) = 1 \qquad (\mathbf{2.12})$$

Für die Funktion g(x) am Punkt a = 0 ergibt sich durch das Einsetzen der obigen Werte die folgende Potenzreihe.

$$T_n(x) = 1 - 1x + \frac{1}{2}x^2 - \frac{1}{6}x^3 + \frac{1}{24}x^4 .... + \frac{g^{(n)}(0)}{n!}(x)^n \qquad (\mathbf{2.13})$$

Hier soll der Fall niedriger Konzentrationen untersucht werden. Dies bedeutet folglich niedrige Werte für x = 2.303·ε·c·d. Geht man von Werten für A = ε·c·d ≤ 0.1 aus erhält man die Funktion g(0.2303) = 0.7943, so ergibt sich der maximale Fehler für

A = 0.1, je nach dem Term n nach dem die Taylorreihe abgebrochen wird, folgende Werte für $T_n(0.2303)$.

Tabelle 2-2: Werte für $T_n(0.2303)$ je nach dem Polynom n nach dem die Taylorreihe abgebrochen wird.

Term n	$T_n(0.2303)$	Δ zu g(0.2303)
0	1	21 %
1	0.7697	-3 %
2	0.7962	0.24 %
3	0.7942	-0.01 %

Wie man aus Tabelle 2-2 erkennen kann, kann die Taylorreihe nach dem linearen Term abgebrochen werden für Werte für $A = \varepsilon \cdot c \cdot d < 0.1$.

$$T_2(x) = 1 - x \approx e^{-x} = g(x)$$
$$T_2(c) = 1 - 2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d \approx e^{-2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d} = g(c) \qquad (\mathbf{2.14})$$

Die Funktion f(x) kann daher auch wie folgt geschrieben werden:

$$f(\varepsilon \cdot c \cdot d < 0.1) = I_{Abs} = I_0 \cdot (1 - e^{-2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d})$$
$$= I_0 \cdot (1 - (1 - 2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d))$$
$$= 2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d \cdot I_0 \qquad (\mathbf{2.15})$$

Da in den Bestrahlungsexperimenten ε, d und I_0 konstant sind folgt daraus, dass die Intensität des absorbierten Lichts proportional zur Konzentration ist.

$$I_{Abs} = const \cdot c$$
$$\Rightarrow \qquad I_{Abs} \sim c \qquad (\mathbf{2.16})$$

Für die Reaktionsgeschwindigkeit zu Beginn der Photolyse bedeutet dies:

$$v = -\frac{\partial c}{\partial t} = \Phi \cdot const \cdot c = const \cdot c \qquad (\mathbf{2.17})$$

Man erhält eine Gleichung, die ein kinetisches Zeitgesetz erster Ordnung beschreibt. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist nur von der Konzentration der zerfallenden Substanz abhängig. Nach der Auflösung des totalen Differentials lässt sich bei niedrig konzentrierten Lösungen mit A < 0.2 ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Konzentration des *caged Compounds* zur Bestrahlungszeit beobachten.

$$\Rightarrow \qquad c(t) = c_0 \cdot e^{-const \cdot t} \qquad \Leftrightarrow \qquad c(t) = c_0 \cdot e^{-2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d \cdot \Phi \cdot t} \qquad (\mathbf{2.18})$$

c(t): Konzentration des *caged Compounds* zur Zeit t
c_0: Startkonzentration des *caged Compounds*

Bestrahlt man nun Lösungen der synthetisierten *caged Compounds* und trägt deren Menge gegen die Bestrahlungszeit erhält man je nach Konzentration der Lösungen unterschiedliche Kurven. Bei hohen Konzentrationen, die zu A = ε·c·d > 2 führen, ist gemäß der vorherigen Herleitung eine Gerade zu erwarten.

$$-\partial c \cong \Phi \cdot I_0 \cdot \partial t \qquad (\mathbf{2.19})$$

Bei niedrigen Konzentrationen ist ein exponentielles Verhalten zu erwarten.

$$c(t) = c_0 \cdot e^{-2.303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d \cdot \Phi \cdot t} \qquad (\mathbf{2.20})$$

Bei Lösungen mit Konzentration zwischen 2 < A = ε·c·d < 0.2 ist zu erwarten, dass die Messkurve von einer linearen in eine exponentielle Form übergeht. In diesem Bereich ist eine Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit zu t = 0 nicht so einfach möglich.

2.8 NMR-spektroskopische Untersuchung der Photolyse der synthetisierten *caged* Acetate

Zur Untersuchung des Abbauverhaltens des **MDdiNB**-*caged* Acetats (**CC03**) im Vergleich zu anderen Derivaten durch Bestrahlung (> 300 nm) werden Lösungen der verschiedenen *caged* Acetate unterschiedlich lang bestrahlt. Es handelt sich hierbei um Lösungen von **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**).

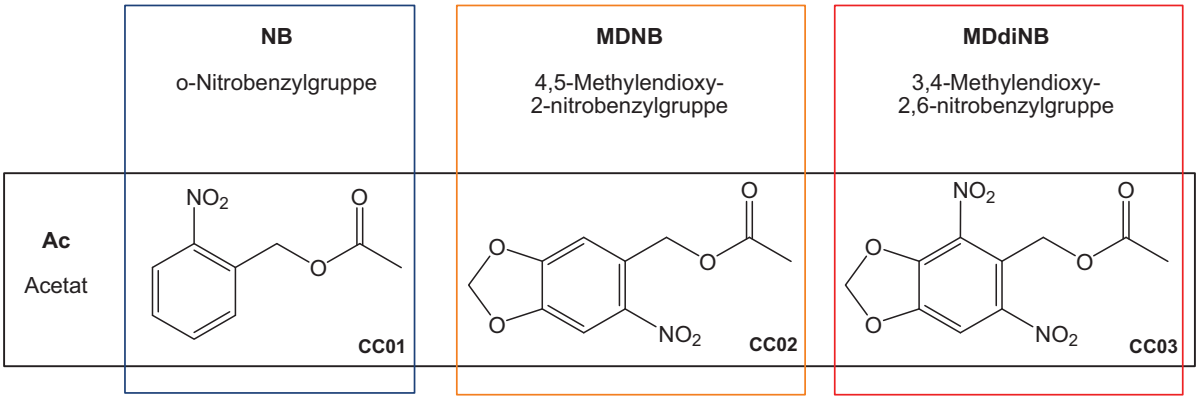


Abbildung 2.25: Übersicht der untersuchten *caged* Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03**.

Als Strahlungsquelle wird eine Gräntzelapparatur verwendet (für apparative Details siehe Kapitel 6.12). Es handelt sich um eine kreisförmig angeordnete Quecksilberdampflampe als Lichtquelle in die zylindrische Phosphoreszenzfilter gesteckt werden können. Je nach Art des Filters wird Licht mit unterschiedlicher Wellenlänge in den Innenraum emittiert. Für diese Bestrahlungsversuche wurde der „350 nm-Filter“ verwendet.

Zur Quantifizierung der *caged* Verbindungen und der abgespaltenen Essigsäure werden ^{1}H-NMR Spektren von den bestrahlten Lösungen aufgezeichnet. Als Maß des Abbaus werden die Signale der Methylgruppen verfolgt.

Ansetzen der Messlösungen: Zunächst werden die zu untersuchenden Lösungen angesetzt. Da sich die Acetate weder in reinem deuteriertem Chloroform noch in

Tetrachlorkohlenstoff lösen, wird als Lösungsmittel eine Mischung dieser beiden zu gleichen Teilen verwendet. Je Verbindungen werden 25 ml Lösung angesetzt. Da typische Einwaagen für die Aufzeichnung von NMR-Spektren 1-5 mg/ml betragen, wird die Lösung der Verbindung mit der geringsten molaren Masse mit 2.5 mg/ml angesetzt. In diesem Fall bedeutet dies eine Konzentration der **NB**-Ac Lösung (**CC01**) von 16 mmol/l. Diese Konzentration wird dann auch für alle anderen Messlösungen eingewogen.

Tabelle 2-3: Einwaagen und Konzentrationen der 25 ml Acetat-Messlösungen in deuteriertem Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff zu gleichen Teilen.

caged Compound	Einwaage/mg	Konzentration/(mmol/l)
NB-Ac (**CC01**)	124.40	16.247
MDNB-Ac (**CC02**)	194.09	16.230
MDdiNB-Ac (**CC03**)	229.14	16.126

Ginge man von monochromatischem Licht mit einer Wellenlänge von 350 nm bei dieser Bestrahlung und einer Schichtdicke von 0.42 cm für die zylindrischen NMR-Röhrchen aus, die in der Bestrahlung verwendet werden, so würde man für die Acetate folgende Werte für $A = \varepsilon \cdot c \cdot d$ erhalten:

Tabelle 2-4: Errechnete ε·c·d-Werte für die bestrahlten *caged* Acetat Lösungen bei einer Bestrahlungswellenlänge von 350 nm.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
$\varepsilon_{@350\ nm}$	471	9640	8180
A = ε·c·d	4	67	55

Bei Werten von A > 2 ist ein linearer Verlauf der Abbaukurven zu erwarten.

Versuchsaufbau: Für die Bestrahlung werden je 1 ml Messlösung in Quarzglas NMR-Röhrchen gefüllt. Je Verbindung werden 7 NMR-Röhrchen gefüllt. Jeweils eine

Probe pro Verbindung wird nicht bestrahlt. Die übrigen 18 Proben werden zeitgleich in ein rundes Karussell gehangen, so dass der Lösungsabschnitt frei hängt. Der Probenhalter wird durch einen Motor gedreht.

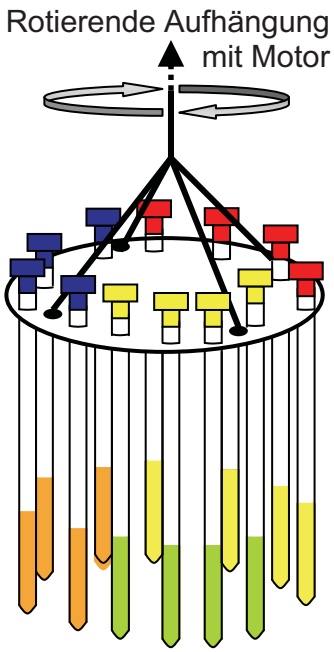


Abbildung 2.26: Skizze des Probenhalters gefüllt mit NMR-Röhrchen für die Bestrahlungsexperimente.

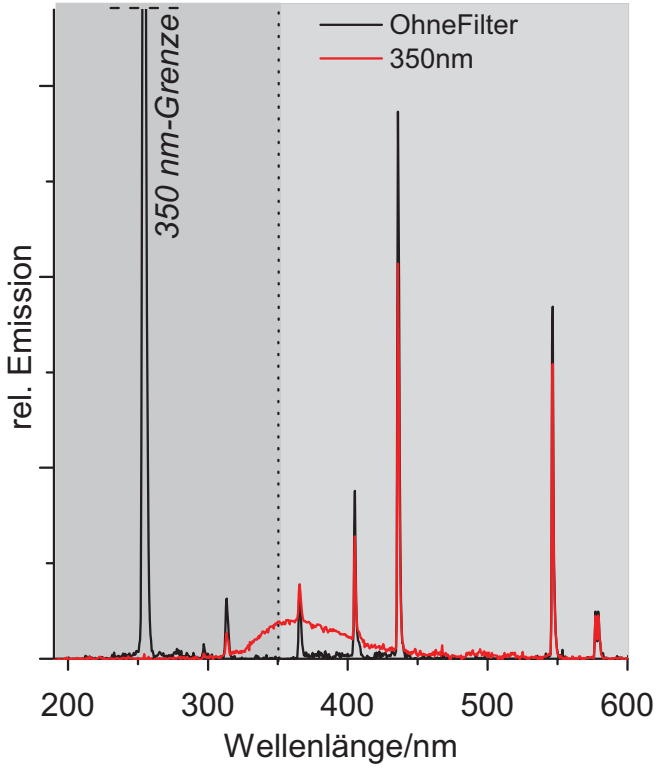


Abbildung 2.27: Relative Emissionsspektren der Gräntzelapparatur mit und ohne eingesetztem "350 nm-Filter".

Bestrahlung: Der rotierende Probenhalter wird in den Innenraum der eingebrannten Gräntzelapparatur herabgelassen. In verschiedenen, länger werdenden Zeitintervallen werden pro Substanz immer je ein NMR-Röhrchen mit bestrahlten Messlösungen entnommen; nach 15, 30, 45, 60, 90 und 120 min. Die entnommenen Proben werden bis zur NMR-spektroskopischen Untersuchung unter Lichtausschuss gelagert.

NMR-spektroskopische Untersuchung: Es werden ^{1}H-NMR Spektren der unbestrahlten und bestrahlten Messlösungen aufgezeichnet. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf den Signalen in dem aliphatischen Bereich mit einer chemischen Verschiebung von knapp über 2 ppm. Es handelt sich dabei um die Signale der Methylgruppe des Acetat bzw. der Methylgruppe der abgespaltenen Essigsäure.

Als Beispiel sind in Abbildung 2.28 Ausschnitte ausgewählter NMR-Spektren von (*o*-Nitrobenzyl)-acetat Proben (**CC01**) zu sehen. Es handelt sich um Lösungen gleicher Konzentration die 0, 30 bzw. 120 min bei 350 nm bestrahlt wurden. Das Signal mit einer chemischen Verschiebung von 2.16 ppm, das in jedem der drei Spektren stammt von der Methylgruppe des Acetats **CC01**.

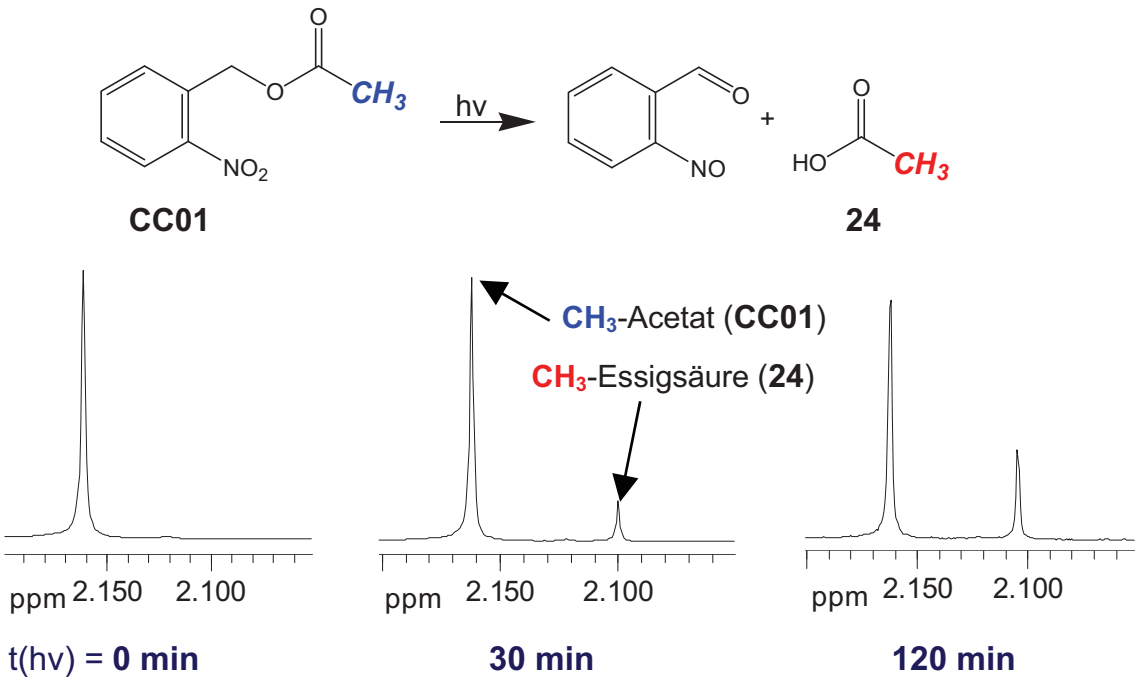


Abbildung 2.28: Oben: Photolyse von (*o*-Nitrobenzyl)-acetat (**CC01**). **Unten:** Ausschnitte von NMR-Spektren unterschiedlich lang belichteten Proben von (*o*-Nitrobenzyl)-acetat (**CC01**).

Nach der Bestrahlung taucht ein Signal mit einer chemischen Verschiebung von 2.10 ppm auf. Dies gehört zur Methylgruppe der Essigsäure (**24**). Wie man aus den Spektren sehen kann, nimmt die Menge an gebildeter Essigsäure (**24**) mit zunehmender Bestrahlungsdauer zu.

Auswertung: Das Verhältnis der Intensitäten I der einzelnen Signalen I(CH_3-Acetat) bzw. I(CH_3-Essigsäure) zu der Summe der Intensitäten beider Signale entspricht dem Abbau des Acetats bzw. der Zunahme der Essigsäure.

$$\frac{I(CH_3\text{–}Essigsäure)}{I(CH_3\text{–}Acetat)+I(CH_3\text{–}Essigsäure)} = rel.\ Menge\ der\ Essigsäure$$ bzw.

$$\frac{I(CH_3{-}Acetat)}{I(CH_3{-}Acetat)+I(CH_3{-}Essigsäure)} = rel.\ Menge\ des\ Acetats \qquad (\mathbf{2.21})$$

Durch die Kenntnis der Ausgangskonzentrationen an Acetat in den unbestrahlten Messlösungen c(Acetat@t_0) ist es möglich die vorliegenden Konzentrationen an Acetat und Essigsäure in den Messlösungen nach einer Bestrahlungsdauer von x min zu errechnen.

$$\frac{I(CH_3{-}Acetat)}{I(CH_3{-}Acetat)+I(CH_3{-}Essigsäure)} * c(Acetat@t_0) = c(Acetat@t_x) \qquad (\mathbf{2.22})$$

Im Falle von **NB**-Ac (**CC01**) und **MDNB**-Ac (**CC02**) ist diese Auswertung der ^{1}H-NMR Spektren möglich. Im Fall des **MDdiNB**-Ac (**CC03**) besitzt das Signal der Methylgruppe eine chemische Verschiebung von 2.16 ppm. Es überlagert somit das Signal der Methylgruppe der Essigsäure. Die Signale lassen sich nicht einzeln auflösen. Es wird daher die Intensität des Methylsignals bei 2.16 ppm ins Verhältnis zu den übrigen ^{1}H-Signalen des **MDdiNB**-Ac (**CC03**) gesetzt. Die Differenz des aktuellen Signal I(CH_3(Ac+Essigsäure@t_x)) zu I(CH_3-Acetat@t_0) gibt die Menge der gebildeten Essigsäure I(CH_3-Essigsäure@t_x) wieder.

$$\left(1 - \frac{I(CH_3(Ac + Essigsäure@t_x)) - I(CH_3 - Acetat@t_0)}{I(CH_3(Ac + Essigsäure@t_x)}\right) = rel.\ Menge\ des\ Acetats \qquad (\mathbf{2.23})$$

Wertet man nun die ^{1}H-NMR Spektren der bestrahlten *caged* Acetat Lösungen aus und trägt die relative Menge des Acetats in den Lösungen gegen die Bestrahlungszeit auf, so erhält man Abbildung 2.29.

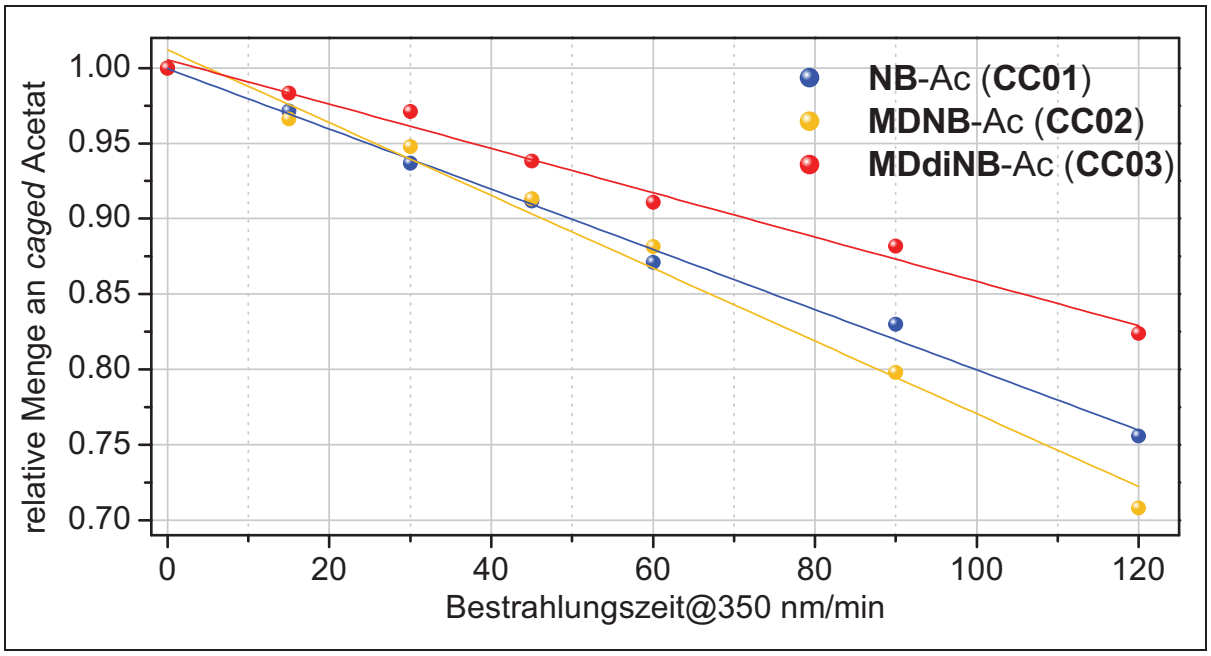


Abbildung 2.29: Auftragung der relativen Menge der *caged* Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** gegen die Bestrahlungszeit in min in der Gräntzelapparatur mit eingesetztem 350 nm Filter.

Man erkennt, dass alle drei *caged* Acetate **CC01, CC02** und **CC03**, wie erwartet, ein lineares Abbauverhalten zeigen. Ein linearer Fit: y =a + b·x ist somit gerechtfertigt. Für die Messkurven ergeben sich folgende Fits:

Tabelle 2-5: Einzelne Werte der linearen Fitparameter der Messkurven.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
a	1.00	1.01	1.01	Achsenabschnitt
b	-0.00200	-0.00242	-0.00147	Steigung = $-\frac{dc}{c_0 \cdot dt}$
R^2	0.994	0.984	0.986	

Zum Zeitpunkt t = 0 sollte a =1 sein; a > 0 resultiert aus bereits vorhandener Essigsäure durch Zersetzung vor der Bestrahlung.

An den Kurven lässt sich bereits mit bloßem Auge erkennen, dass das **MDNB**-Acetat (**CC02**) am schnellsten unter diesen Versuchsbedingungen abbaut. *o*-Nitrobenzyl-*caged* Acetat photolysiert ähnlich gut. Das **MDdiNB**-*caged* Acetat (**CC03**) hingegen baut deutlich langsamer ab.

Die aufgetragene relative Menge Acetat entspricht der *caged Compound*-Konzentration geteilt durch die Startkonzentration c_0. Die resultierende Steigung m entspricht daher $m = \frac{dc}{c_0 \cdot dt}$ (**2.24**). Rechnet man die Steigungen um in Konzentrationsänderung pro Sekunde so erhält man die Abbaugeschwindigkeiten der *caged Compounds* v.

Tabelle 2-6: Photolysegeschwindigkeiten der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·min)**	$32.5 \cdot 10^{-6}$	$39.3 \cdot 10^{-6}$	$23.7 \cdot 10^{-6}$	Abbaugeschwindigkeit pro min
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·s)**	5.4210^{-7}	$6.55 \cdot 10^{-7}$	3.9510^{-7}	Abbaugeschwindigkeit pro s

Für Lösungen mit Konzentrationen bei denen A = ε·c·d ≥ 2, wie in diesem Fall, gilt $I_{Abs} \approx I_0$. Daraus folgt:

$$v = -\frac{dc}{dt} = \Phi \cdot I_{Abs} \cong \Phi \cdot I_0 \qquad (\mathbf{2.25})$$

Da die verschiedenen *caged* Acetatmesslösungen gemeinsam bestrahlt wurden, ist I_0 bei den Messungen stets gleich: $I_0^{NB} = I_0^{MDNB} = I_0^{MDdiNB}$.

$$\Rightarrow \qquad \frac{v_{NB}}{\Phi_{NB}} = \frac{v_{MDNB}}{\Phi_{MDNB}} = \frac{v_{MDidNB}}{\Phi_{MDdiNB}} \qquad (\mathbf{2.26})$$

Dies bedeutet, dass das Verhältnis der Abbaugeschwindigkeiten der unterschiedlichen *caged Compounds* proportional zu ihren Quantenausbeuten ist. Die Quantenausbeuten Φ der **NB**- (**7**) und **MDNB**- (**15**) Schutzgruppen sind bekannt.[9, 12] Sie

werden in Acetonitril mit Φ_{NB} = 0.08-0.1 bzw. Φ_{MDNB} = 0.08-0.1 angegeben (siehe auch Kapitel 2.1).[9, 12] Da die *o*-Nitrobenzylgruppe unter diesen Versuchsbedingungen einen sehr kleinen Extinktionskoeffizient aufweist, wird die Quantenausbeute von der **MDNB**- (**15**) Gruppe mit Φ_{MDNB} = 0.1 im Folgenden als Referenz verwendet.

Tabelle 2-7: Experimentell bestimmte Quantenausbeuten der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
$\frac{v_{cC}}{v_{MDNB}}$	0.83	1.0	0.60
Φ_{cC}	0.08	Richtwert **Φ_{MDNB} = 0.1**	0.06

Die errechnete Quantenausbeute für **NB**-Ac (**CC01**) Φ_{NB} liegt mit 0.08 im Bereich der bisher experimentell bestimmten Werte. Für die Quantenausbeute von **MDdiNB**-Ac (**CC03**) Φ_{MDdiNB} erhält man einen Wert von 0.06. Die Quantenausbeute von **MDdiNB**-Ac (**CC03**) entspricht ca. 60 % der Quantenausbeute von **MDNB**-Ac (**CC02**).
Man muss jedoch berücksichtigen, dass diese Experimente in einer Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff-Mischung (1:1) durchgeführt wurden und die Referenzwerte aus Versuchen in Acetonitril stammen. Der Vergleich der normierten, empirischen $E_T(30)^N$-Werte für die Polarität von Lösungsmitteln, zeigt, dass die chlorierten Lösungsmittel, im Vergleich zum Acetonitril, eine unpolare Umgebung darstellen.

Tabelle 2-8: Normierte, empirische $E_T(30)^N$-Werte für Polarität ausgewählter Lösungsmittel.

Lösungsmittel	$E_T(30)^N$
Chloroform	0.259
Tetrachlorkohlenstoff	0.052
Acetonitril	0.460

Versuche von *Nerbonne et al.* haben gezeigt, dass die Quantenausbeute von **MDNB**-Ac (**CC02**) mit zunehmender Polarität des Lösungsmittels abnimmt ($\Phi_{MDNB}(H_2O)= 0$); die Quantenausbeute von **NB**-Ac (**CC01**) wird nicht davon beeinflusst. [25] Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass in einem unpolaren Medium von **MDNB**-Ac (**CC02**) eine höhere Quantenausbeute als von **NB**-Ac (**CC01**) zu erwarten ist. Ein niedriger Wert für **NB**-Ac (**CC01**) um etwa 20 % ist daher in Übereinstimmung mit den Literaturwerten.

2.9 Untersuchung der Photolyse der synthetisierten *caged Compounds* mittels HPLC

Für weitere detaillierte Untersuchungen zum Abbauverhalten der *caged Compounds* werden Bestrahlungsreihen mit Hilfe von HPLC-Methoden verfolgt.

2.9.1 Untersuchung der Photolyse der *caged* Acetate mittels HPLC

Zunächst wird das Abbauverhalten der *caged* Acetate untersucht. Es handelt sich um (*o*-Nitrobenzyl)-acetat (**NB**-Ac, **CC01**), [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetat (**MDNB**-Ac, **CC02**), und [3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-acetat (**MDdiNB**-Ac, **CC03**).

Diese Experimente werden ähnlich den NMR-gestützten Versuchen durchgeführt. Auch hier werden Lösungen der *caged Compounds* mit Licht bestrahlt. Nach den Bestrahlungen wird die nicht abgebaute Menge quantifiziert.

Ansetzen der Messlösungen: Im Unterschied zu den bisherigen Versuchen werden hier 4.507 micromolare Lösungen von **NB**-Ac **CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**) mit Acetonitril als Lösungsmittel verwendet. Pro *caged* Acetat wird je eine Fluoreszenzküvette mit 1 cm Kantenlänge mit Lösung gefüllt. Das Küvettenvolumina beträgt 4 ml.

Bei einer Konzentration von 4.51 µmol/l und einer Schichtdicke von 1 cm beträgt $A_{@350\ nm} = \varepsilon \cdot c \cdot d$ bei einer Wellenlänge von 350 nm je nach Verbindung:

$A_{@350\ nm}$ (**NB**-Ac) = $2.86 \cdot 10^{-3}$

$A_{@350\ nm}$ (**MDNB**-Ac) = $44.3 \cdot 10^{-3}$ bzw.

$A_{@350\ nm}$ (**MDdiNB**-Ac) = $36.8 \cdot 10^{-3.}$

Da ε·c·d in allen Fällen kleiner 0.1 ist, ist, wie in Kapitel 2.7 beschrieben, unter diesen Bedingungen ein exponentielles Abbauverhalten der *caged* Acetate zu erwarten.

Für die Bestrahlung werden 3 identische Fluoreszenzküvetten mit je 4 ml Messlösung verwendet. Jeweils eine Küvette wird mit Messlösung von **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) bzw. **MDdiNB**-Ac (**CC03**) gefüllt. Die Küvetten werden in einen Probenhalter gestellt. Der Probenhalter wird durch einen Motor gedreht, um sicherzustellen, dass alle drei Proben gleich stark belichtet werden.

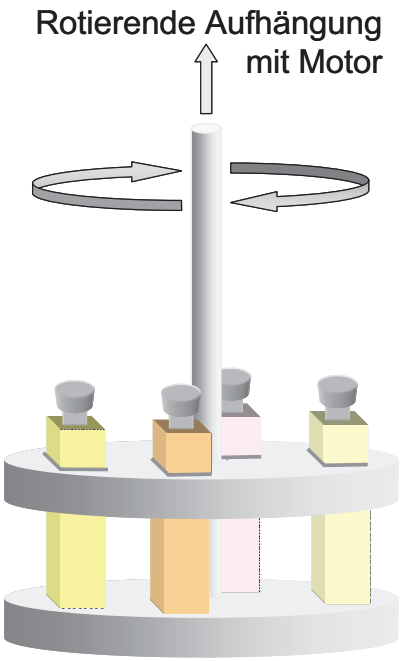


Abbildung 2.30: Skizze des rotierbaren Probenhalters gefüllt mit Küvetten für die Bestrahlungsexperimente.

Als Strahlungsquelle wird wie zuvor die Gräntzelapparatur verwendet (für apparative Details siehe Anhang). Für diese Bestrahlungsversuche wurde der „350 nm- Phosphoreszenzfilter“ verwendet. Das Emissionsspektrum ist in Abbildung 2.27 gezeigt.

Der rotierende Probenhalter wird in den Innenraum der eingebrannten Gräntzelapparatur herabgelassen. Nach 5-minütiger Bestrahlung wird der Probenhalter aus der Gräntzelapparatur herausgenommen. Die Küvetten werden für die Dauer der HPLC-Messungen unter Lichtausschluss gelagert. Anschließend werden die Küvetten wieder in den Probenhalter gestellt und erneut bestrahlt. Diese Prozedur wird wiederholt, so dass die Proben insgesamt 60 min bestrahlt wurden.

Quantifizierung mit der HPLC: Die Quantifizierung der *caged Compounds* erfolgt mittels HPLC. Die apparativen Details sowie die Messprozedur sind im Experimentalteil erläutert. Registriert werden die Flächen der UV-Vis-Absorptionssignale in den Chromatogrammen der *caged* Acetate. Das UV-Signal wird entsprechend der Absorptionsmaxima der Verbindungen für **NB**-Ac (**CC01**) bei 260 nm, **MDNB**-Ac (**CC02**) bei 347 nm und bei **MDdiNB**-Ac (**CC03**) bei 361 nm detektiert. Die Abnahme der Signalflächen entspricht dem photolytischen Abbau der Verbindungen.

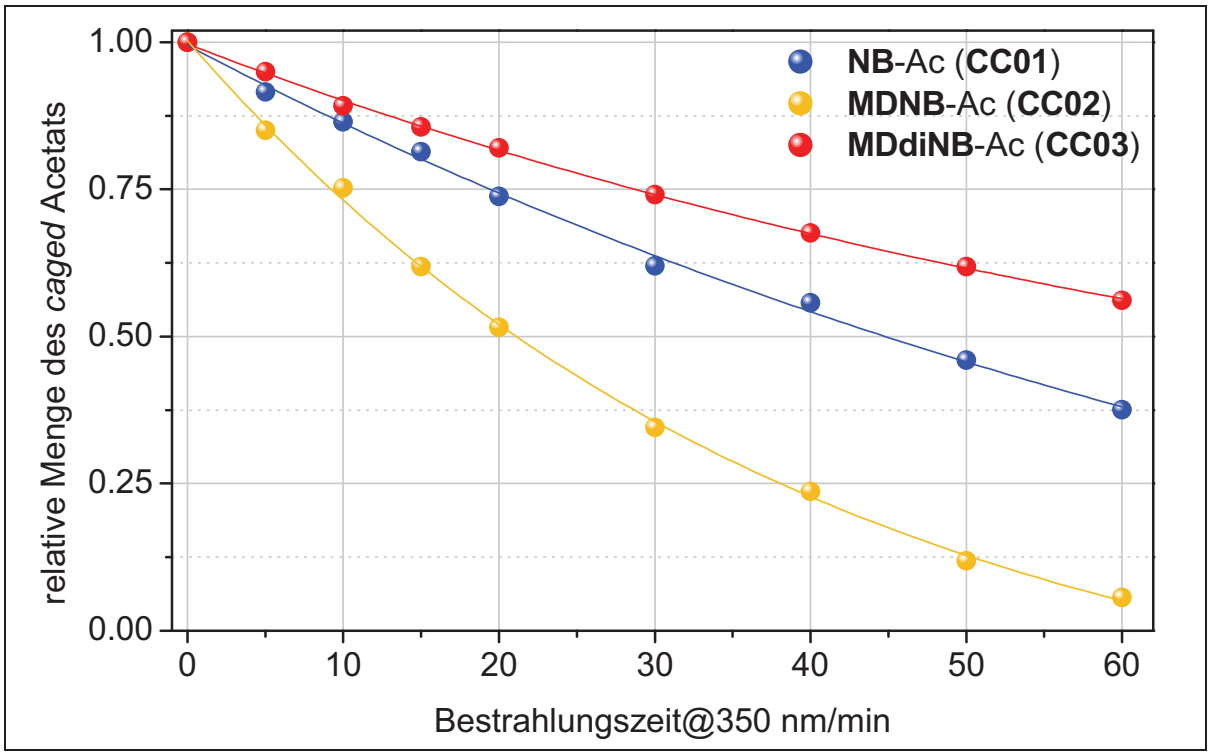


Abbildung 2.31: Auftragung der relativen Menge der *caged* Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** gegen die Bestrahlungszeit in min in der Gräntzelapparatur mit eingesetztem 350 nm Filter.

Wie in den bisherigen Untersuchungen wird die relative Menge an vorhandenem *caged* Acetat gegen die Bestrahlungsdauer aufgetragen. Wie erwartet lässt sich unter diesen Bedingungen ein exponentielles Abbauverhalten beobachten. Die erhaltenen Messkurven werden daher mit der exponentiellen Funktion ExpDec1 von OriginPro 8 gefittet: $y = A \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} + y_0$.[35] Für die Messkurven ergeben sich folgende Parameter:

Tabelle 2-9: Einzelne Werte der exponentiellen Fitparameter der Messkurven.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
y_0	-0.275	-0.221	0.165	Offset
A	1.27	1.22	0.832	Amplitude
τ	90.7	39.9	81.6	Zerfallskonstante
R^2	0.997	0.999	0.999	

Hohe zeitliche Auflösung in *Caging*experimenten erreicht man, in dem die Photolyse nicht mit kontinuierlicher Bestrahlung sondern mit einem einzigen Laserpuls (LPP: laser pulse photolysis) initiiert wird. Maßgebend für die Verwendbarkeit einer photolabilen Schutzgruppe ist daher die Zerfallsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt t_0. Dies entspricht der Steigung der Exponentialfunktion, welche man aus der ersten Ableitung erhält.

Mit $k = \frac{1}{\tau}$ folgt:

$$f(t) = y_0 + A \cdot e^{-kt}$$

$$f(t) = \frac{dA}{dt} \quad \rightarrow \quad f'(t) = A \cdot e^{-kt} \cdot (-k) \qquad (\mathbf{2.27})$$

Für die Steigung zum Zeitpunkt t_0 mit t=0 ergibt sich:

$$f'(0) = -A \cdot k \qquad (\mathbf{2.28})$$

Im Fall dieser Messkurven beschreibt A·k in dieser Gleichung die Geschwindigkeit des relativen Umsatzes pro Minute in [min^{-1}] zum Zeitpunkt t_0. Um die Konzentrationsänderung pro Minute [mol/(l·min)] zu erhalten, muss A·k mit der Startkonzentration c_{start} in zum Zeitpunkt t = 0 multipliziert werden. Für die Konzentrationsänderung pro Sekunde in [mol/(l·s)] wird durch 60 geteilt.

$$f'(0) = -\frac{c_{start} \cdot A}{60} \cdot k = -\frac{c_{start} \cdot A}{60 \cdot \tau} \qquad (\mathbf{2.29})$$

Durch Einsetzen der entsprechenden Werte lassen sich die Zerfallsgeschwindigkeiten der einzelnen *caged* Acetate bestimmen. Multipliziert man mit dem Bestrahlungsvolumen von $4 \cdot 10^{-3}$ l erhält man den Stoffmengenumsatz pro Sekunde.

Tabelle 2-10: Photolysegeschwindigkeiten der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·min)**	$6.32 \cdot 10^{-8}$	$1.38 \cdot 10^{-7}$	$4.60 \cdot 10^{-8}$	Abbaugeschwindigkeit pro min
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·s)**	$1.05 \cdot 10^{-9}$	$2.30 \cdot 10^{-9}$	$7.67 \cdot 10^{-10}$	Abbaugeschwindigkeit pro s
$-\frac{dn}{dt}$ **/(mol/·s)**	$4.21 \cdot 10^{-12}$	$9.20 \cdot 10^{-12}$	$3.06 \cdot 10^{-12}$	Stoffmengenumsatz pro s

Der Stoffmengenumsatz entspricht den Photolyseereignissen in mol. Die Quantenausbeute der *caged Compounds* Φ_{cC} ist das Verhältnis der Photolyseereignisse pro Zeit zur Intensität des absorbierten Lichts:

$$\Phi_{cC} = \frac{Ereignisse}{I_{Abs}} \qquad (\mathbf{2.30})$$

Die Intensität des absorbierten Lichts kann über $I_{Abs} = I_0(1-10^{-\varepsilon \cdot c \cdot d})$ (**2.31**) beschrieben werden. Für die einzelnen *caged* Acetate ergeben sich somit die folgenden Werte für I_{Abs} und Φ_{cC}.

Tabelle 2-11: Intensität des absorbierten Lichts der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
I_{Abs}	$0.00657 \cdot I_0$	$0.0970 \cdot I_0$	$0.0813 \cdot I_0$
Φ_{cC}/mol	$6.41 \cdot 10^{-10}/I_0$	$9.48 \cdot 10^{-11}/I_0$	$3.77 \cdot 10^{-11}/I_0$

Setzt man die errechneten Terme für die Quantenausbeute ins Verhältnis zueinander und nimmt wieder wie in Kapitel 2.8 die Quantenausbeute von der **MDNB**-Gruppe (**15**) mit $\Phi_{MDNB} = 0.1$ als Referenzwert, erhält man die folgenden Quantenausbeuten

für die **NB**- (**7**) und **MDdiNB**- (**21**) Gruppe. Die Intensität des eingestrahlten Lichts lässt sich herauskürzen.

Tabelle 2-12: Experimentell ermittelten Werte für die Quantenausbeuten der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
$\frac{\Phi_{cC} / mol}{\Phi_{MDNB} / mol}$	6.76	1.0	0.40
Φ_{cC}	0.7	Referenzwert $\mathbf{\Phi_{MDNB}=0.1}$	0.04

Die erhaltene Quantenausbeute für **MDdiNB**-Ac (**CC03**) liegt mit 0.04 im Bereich des zuvor in Kapitel 2.7 bestimmten Wertes von 0.06. Die Quantenausbeute für das **NB**-Ac (**CC01**) ist mit Φ_{NB} = 0.7 in Bezug auf die bisher beschriebenen experimentellen Werte von 0.1 bzw. 0.08 eine Größenordnung zu groß.

Betrachtet man das Emissionsspektrum der Gräntzelapparatur mit des 350 nm-Phosphoreszenzfilter in Abbildung 2.32 (schraffierter Bereich) so sieht man, dass nicht nur bei 350 nm eingestrahlt wird, sondern über einen ganzen Bereich, der von ca. 300 – 450 nm.

Bei der Bestimmung der Quantenausbeuten wurde von monochromatischem Licht mit der Wellenlänge von 350 nm ausgegangen. Als Maß für die Menge des absorbierten Lichtes wurde daher der Extinktionskoeffizient der Verbindungen bei 350 nm herangezogen. In der Abbildung 2.32 erkennt man, dass die Schnittflächen des Emissionsspektrums der Gräntzelapparatur und der Absorptionsspektren der *caged Compounds* besser geeignet sind. Sie werden als spektrale Überlappungs-integrale (engl. *spectral overlaps*) bezeichnet.

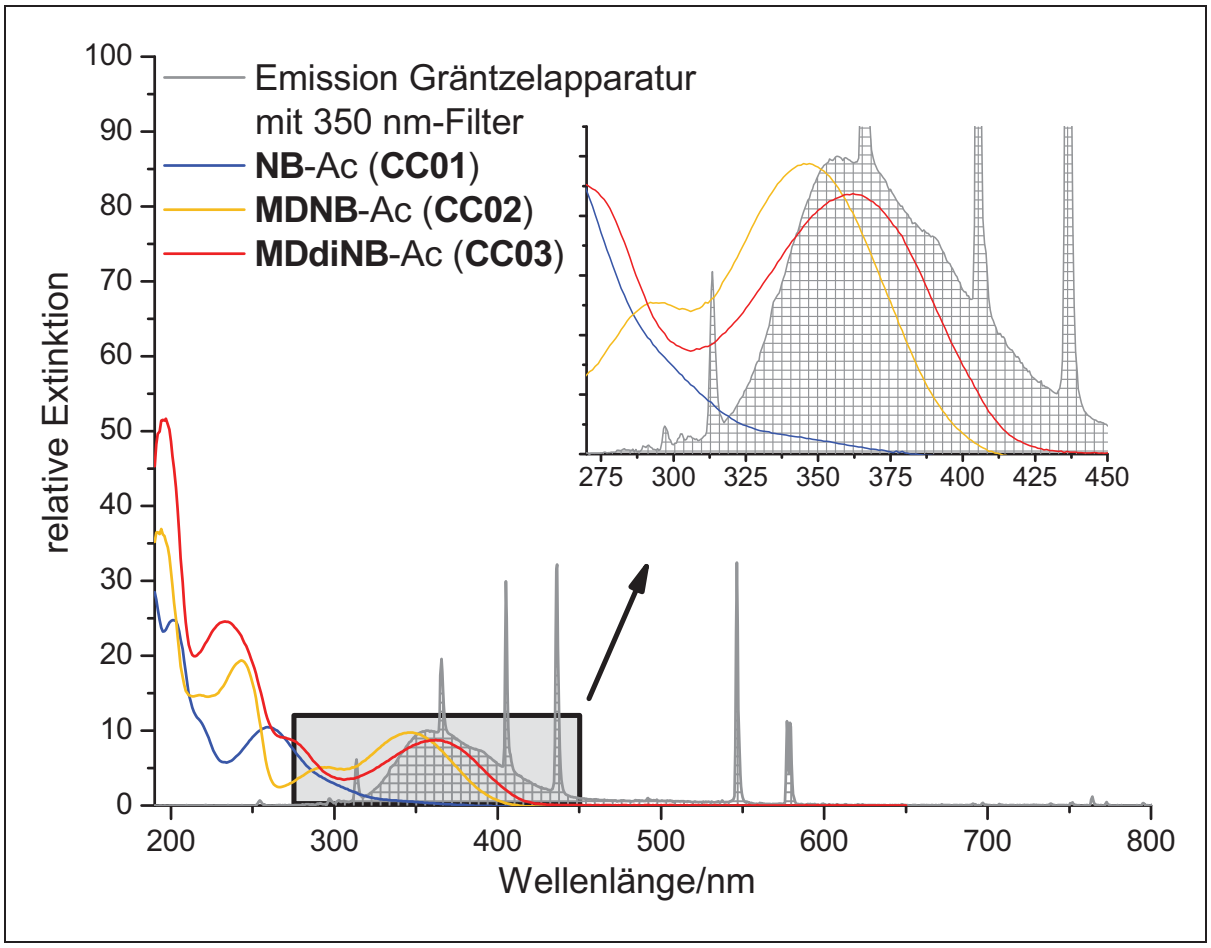


Abbildung 2.32: Relative Absorptionsspektren von **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**) und Emissionsspektrum der Gräntzelapparatur mit 350 nm-Filter.

Dieses Überlappungsintegral erhält man in dem man über das Produkt der Emissions- und Absorptionsfunktion integriert. Die entsprechende Prozedur ist in Kapitel 6.2.1 beschrieben. Berechnet man diese Flächen so erhält man ein Maß für das von der bestrahlten Verbindung absorbierte Licht. Es handelt sich dabei um eine relative Größe, da die Emission der Gräntzelapparatur nicht absolut gemessen wurde.

$$\int \text{Überlappungsintegral} = \textit{const.} \cdot I_{Abs} \qquad (\mathbf{2.32})$$

Bestimmt man nun die Überlappungsintegrale für die *caged* Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** mit der Gräntzel-Emission und erneut die Quantenausbeuten so erhält man folgende Werte:

Tabelle 2-13: Berechnung der Quantenausbeuten der *caged* Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** unter Berücksichtigung der Überlappungsintegrale.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
c/(µmol/l)	4.51	4.51	4.51	Konzentration
d/cm	1	1	1	Überlappungsintegral
const. · I_{Abs}	370	4269	4706	Schichtdicke
v/(mol/l·min)	$6.32 \cdot 10^{-8}$	$1.38 \cdot 10^{-7}$	$4.60 \cdot 10^{-8}$	Abbaugeschwindigkeit pro min
v/(mol/l·s)	$1.05 \cdot 10^{-9}$	$2.30 \cdot 10^{-9}$	$7.67 \cdot 10^{-10}$	Abbaugeschwindigkeit pro s
$-\frac{dn}{dt}$ **/(mol/·s)**	$4.21 \cdot 10^{-12}$	$9.20 \cdot 10^{-12}$	$3.06 \cdot 10^{-12}$	Stoffmengenumsatz pro s
Φ_{cC}/(const · mol)	$1.14 \cdot 10^{-14}$	$2.16 \cdot 10^{-15}$	$6.50 \cdot 10^{-16}$	relative Quantenausbeute
Φ_{cC}	0.09	Referenzwert **Φ_{MDNB}=0.1**	0.06	absolute Quantenausbeute

Vergleicht man nun der erhaltenen Quantenausbeuten der *caged* Acetate ($\Phi_{NB\text{-}Ac}$ = 0.09, $\Phi_{MDNB\text{-}Ac}$ = 0.1, $\Phi_{MDdiNB\text{-}Ac}$ = 0.06) so sieht man, dass sie im Rahmen der Genauigkeit mit den Literaturwerten ($\Phi_{NB\text{-}Ac}$ = 0.1) sowie den zuvor in Kapitel 2.8.1 experimentell bestimmten Werten mittels HPLC ($\Phi_{NB\text{-}Ac}$ = 0.08, $\Phi_{MDNB\text{-}Ac}$ = 0.1, $\Phi_{MDdiNB\text{-}Ac}$ = 0.06) überein stimmen.

2.9.2 Untersuchung der Photolyse der *caged* Benzoate mittels HPLC

Das Abbauverhalten von verschiedenen *caged* Benzoaten und 4-Nitrobenzoaten wird untersucht. Es handelt sich um die Benzoate:

(2-Nitrobenzyl)-benzoat (**NB**-Bz, **CC05**) und
[4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-benzoat (**MDNB**-Bz, **CC06**)

und die 4-Nitrobenzoate:

(*2*-Nitrobenzyl)-4-nitrobenzoat (**NB**-4NBz, **CC08**),
[4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-4-nitrobenzoat (**MDNB**-4NBz, **CC10**) und
[3,4-(Methylendioxy)-2,6-nitrobenzyl]-4-nitrobenzoat (**MDdiNB**-4NBz, **CC09**).

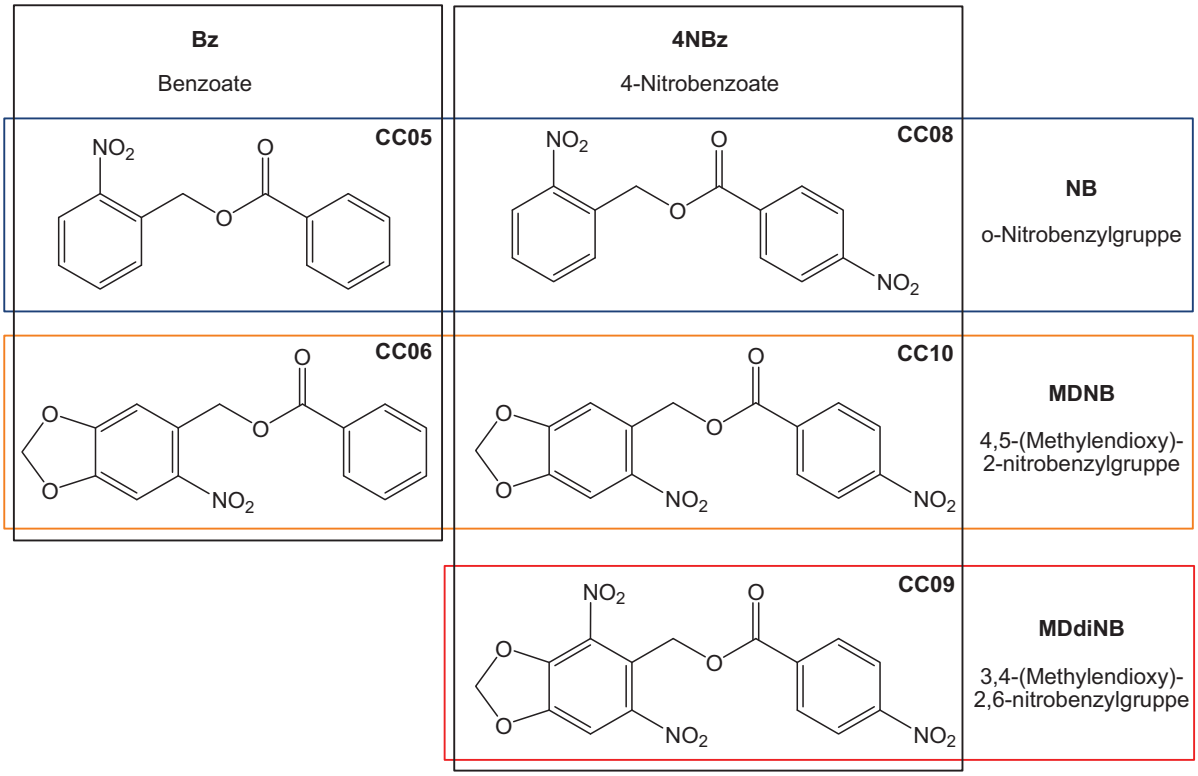


Abbildung 2.33: Übersicht der untersuchten *caged* Benzoate, **CC05** und **CC06**, und 4-Nitrobenzoate, **CC08**, **CC10** und **CC09**.

Zur Untersuchung des Abbauverhaltens der **MDdiNB**-*Caging*gruppe (**21)** werden Lösungen des **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) und der Modellverbindungen mit Licht > 300 nm bestrahlt. Der photolytische Abbau wird wie in Kapitel 2.8.2 mittels HPLC verfolgt. In diesen Bestrahlungen wird abweichend von den bisher beschriebenen Abbauexperimenten nicht die Gräntzelapparatur benutzt. Als Lichtquelle wird eine LUMOS 43 von Atlas Photonics verwendet.[36] Die Bestrahlungsapparatur ist mit Dioden der Wellenlängen 255, 360 und 405 nm ausgerüstet. Die Monochromatizität wird vom Hersteller mit 5 nm angegeben. Diese Angabe entspricht der Halbwertsbreite der Emissionsbanden. Die Emissionsspektren der Dioden zeigen Signalpeaks, die an ihrer Basis bis zu 50 nm breit sind. Die 255nm-Diode weist zu dem noch eine flache, breite Emissionsbande von 400-500 nm auf.

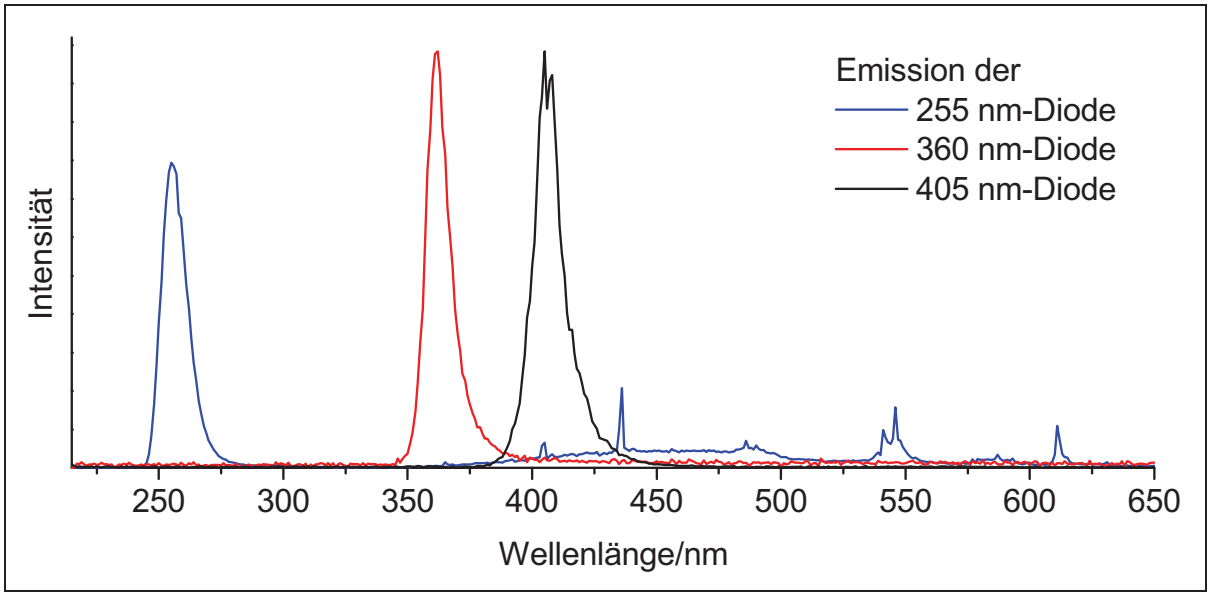


Abbildung 2.34: Emissionsspektren der 255 , 360 und 405 nm-Dioden von der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43.

Bei der Berechnung der Quantenausbeuten wird daher wie in Kapitel 2.9.1 die Menge des absorbierten Lichtes mit Hilfe des Überlappungsintegrals bestimmt.
Das Abbauverhalten der *caged* Verbindungen wird bei allen drei Wellenlängen untersucht.
Die UV-VIS-spektrometrische Untersuchung des **MDdiNB**-*caged* 4-Nitrobenzoats (**CC09**) in Kapitel 2.6 hat gezeigt, dass diese *Caging*gruppe im Vergleich zu den 4-Nitrobenzoaten des **NB**- (**CC08**) und **MDNB**- (**CC10**) Typs ein bathochromes

Absorptionsverhalten aufweist. Es ist daher zu erwarten, dass **MDdiNB**-*caged* Verbindungen (**21**) bei *Uncaging*experimenten mit bathochromem Licht auch effizienter photolysieren.

2.9.2.1 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 255 nm

Zunächst wird das Abbauverhalten von **NB**-Bz (**CC05**), **MDNB**-Bz (**CC06**), **NB**-4NBz (**CC08**), **MDNB**-4NBz (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) bei der Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 255 nm untersucht.

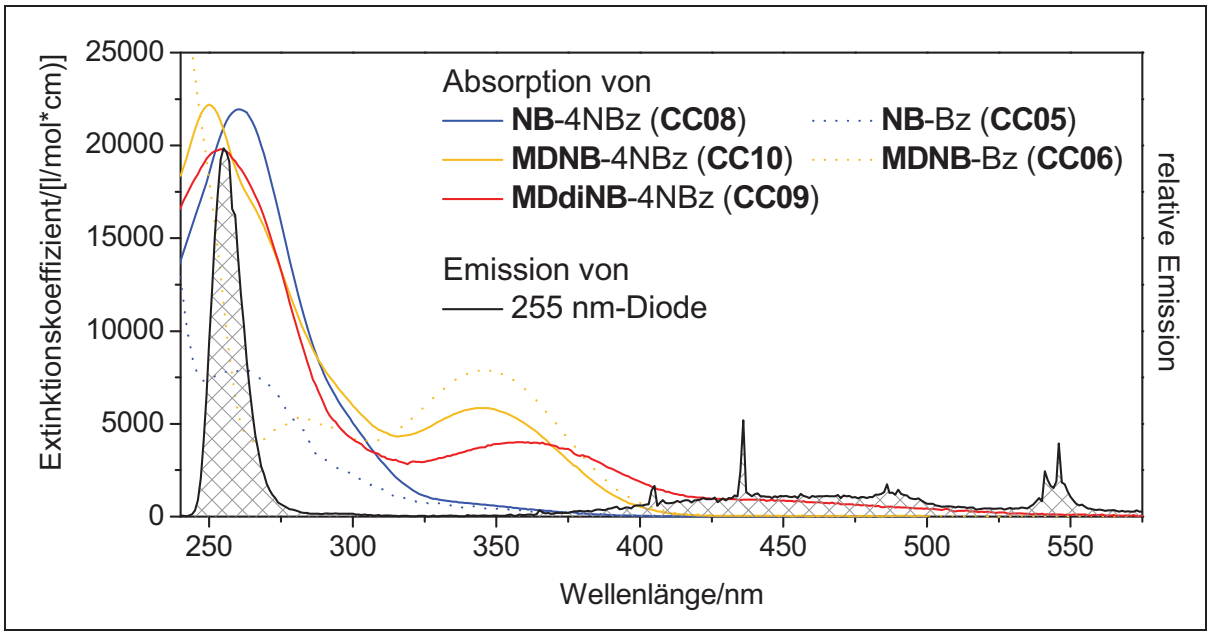


Abbildung 2.35: UV-Vis-Spektren der zu untersuchenden Benzoate und 4-Nitrobenzoate und das Emissionsspektrum der 255 nm-Diode der LUMOS 43.

Ansetzen der Messlösungen: Die Messlösungen werden in Acetonitril, HPLC-Grade, angesetzt. Die Konzentration wird so gewählt, dass $A = \varepsilon \cdot c \cdot d \approx 0.1$ ist.

Tabelle 2-14: Parameter der Messlösungen für die Bestrahlungen bei 255 nm.

	***c*/(mol/l)**	**$\varepsilon_{@255\ nm}$/l (mol·cm)$^{-1}$**	***A*=ε·*c*·*d***
NB-Bz (**CC05**)	$1.29 \cdot 10^{-5}$	7350	0.0948
NB-4NBz (**CC08**)	$4.80 \cdot 10^{-6}$	20927	0.100
MDNB-Bz (**CC06**)	$1.31 \cdot 10^{-5}$	11460	0.150
MDNB-4NBz (**CC10**)	$4.68 \cdot 10^{-6}$	20831	0.0975
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	$4.60 \cdot 10^{-6}$	15047	0.0909

Wie in Kapitel 2.6 beschrieben ist unter diesen Bedingungen ein nahezu exponentielles Abbauverhalten der *caged Compounds* zu erwarten. Für die Bestrahlungen werden 4.0 ml der Messlösungen mit einem kleinen Magnetrührstab in eine Fluoreszenzküvette mit einer Kantenlänge von 1 cm gefüllt.

Die Bestrahlung erfolgt in der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43. Diese wurde auf einen Magnetrührer gesetzt, so dass die Messlösungen während der Bestrahlung gerührt werden. Die LUMOS 43 wird angestellt, so dass es bei 255 nm emittiert. Die Lösungen werden mit zunehmenden Bestrahlungsdauern in die Bestrahlungskammer gestellt. Während der Belichtung werden Proben entnommen und mittels HPLC untersucht.

Die apparativen Details sowie die Messprozedur sind in Kapitel 6.2.2 erläutert. Registriert werden die Flächen der UV-Vis-Absorptionssignale in dem Chromatogramm. Die Abnahme der Signalflächen entspricht dem photolytischen Abbau der Verbindungen.

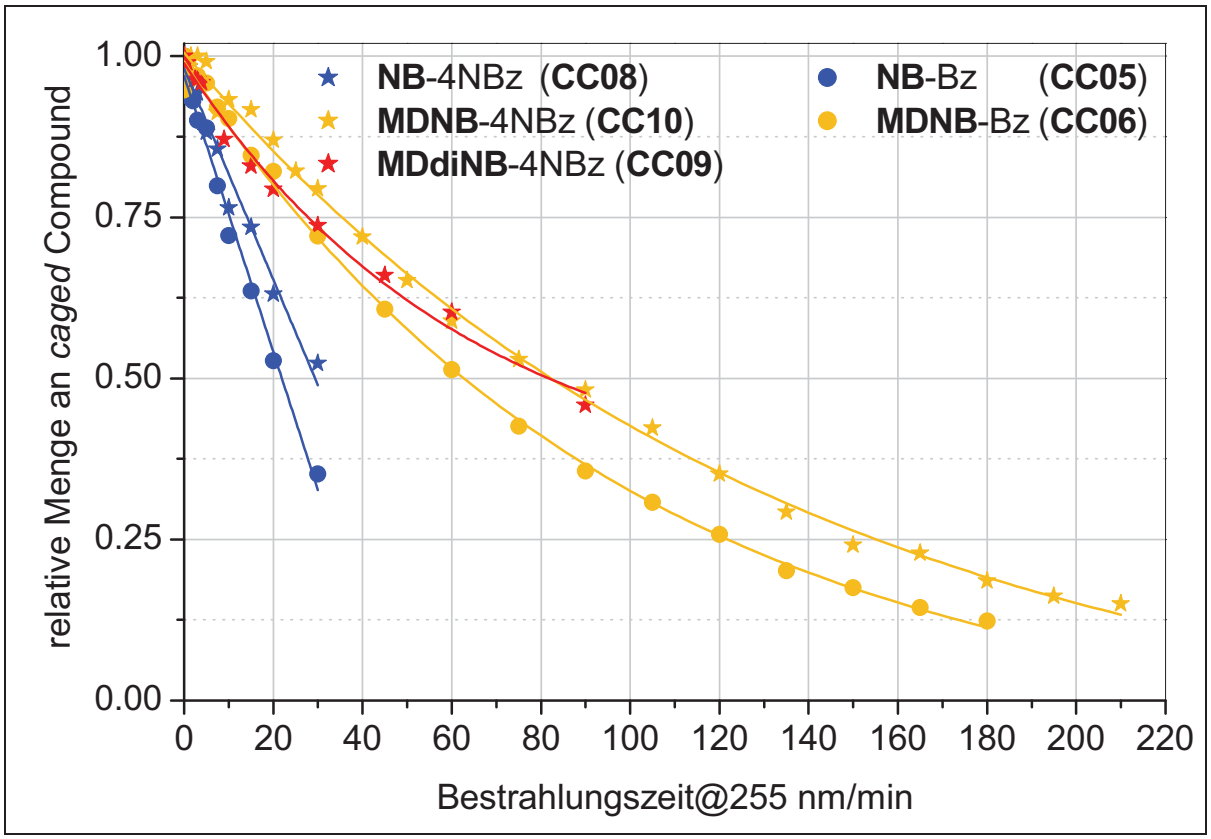


Abbildung 2.36: Auftragung der relativen Menge der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate gegen die Bestrahlungszeit in min in der LUMOS 43 bei 255 nm.

Die relative Menge an vorhandenem *caged Compound* wird gegen die Bestrahlungsdauer aufgetragen. Wie vorhergesagt, lässt sich unter diesen Bedingungen ein exponentielles Abbauverhalten beobachten. Die erhaltenen Messkurven werden daher mit der exponentiellen Funktion ExpDec1 von OriginPro 8 gefittet: $y = A \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} + y_0$.[35] Aufgrund der geringen Krümmung der Abbaukurven der **NB**-*caged* Verbindungen wurde hier ein linearer Fit durchgeführt: $y = a + b \cdot x$. Für die Messkurven ergeben sich folgende Parameter:

Tabelle 2-15: Einzelne Werte der exponentiellen Fitparameter der Messkurven.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)	
a	0.969	0.981	/	/	/	Achsenabschnitt
b	-0.0124	-0.0164	/	/	/	Steigung
y_0	/	/	-0.0566	-0.0974	-0.0734	Offset
A	/	/	1.05	1.10	1.09	Amplitude
τ	/	/	99.1	134	128	Zerfallskonstante
R^2	0.990	0.974	0.998	0.998	0.997	
-A/τ	/	/	-0.0106	-0.00821	-0.008526	Steigung

Entsprechend der Herleitung aus Kapitel 2.6 lässt sich aus den Fitparametern und der Startkonzentration der Stoffmengenumsatz errechnen.

Tabelle 2-16: Photolysegeschwindigkeiten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·min)**	$1.60 \cdot 10^{-7}$	$7.78 \cdot 10^{-8}$	$1.38 \cdot 10^{-7}$	$3.84 \cdot 10^{-8}$	$3.91 \cdot 10^{-8}$
$-\frac{dn}{dt}$ **/(mol/·s)**	$1.07 \cdot 10^{-11}$	$5.25 \cdot 10^{-12}$	$9.20 \cdot 10^{-12}$	$2.56 \cdot 10^{-12}$	$2.61 \cdot 10^{-12}$

Der Stoffmengenumsatz entspricht, wie auch zuvor beschrieben, den Photolyseereignissen in mol. Das Verhältnis der Photolyseereignisse zur Intensität des absorbierten Lichts: $\Phi_{cC} = \frac{Ereignisse}{I_{Abs}}$ (**2.30**) ist die Quantenausbeute des *caged Compounds* Φ_{cC} Die Intensität des absorbierten Lichts kann über

$I_{Abs} = I_0(1-10^{-\varepsilon \cdot c \cdot d})$ (**2.31**) beschrieben werden und wird, wie oben beschrieben, mit Hilfe des Überlappungsintegrals bestimmt (siehe Kapitel 2.91). Für die einzelnen Verbindungen ergeben sich somit die folgenden Werte für I_{Abs} und Φ_{cC}.

Tabelle 2-17: Intensität des absorbierten Lichts der *caged* Benzoate und Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
const. · I_{Abs}	26647	26509	23419	24981	24433
Φ_{cC}/(const · mol)	$4.00 \cdot 10^{-16}$	$1.98 \cdot 10^{-16}$	$3.93 \cdot 10^{-16}$	$1.02 \cdot 10^{-16}$	$1.07 \cdot 10^{-16}$

Setzt man die errechneten Terme für die Quantenausbeute ins Verhältnis zueinander und nimmt wieder wie in Kapitel 2.8.1 die Quantenausbeute von der **MDNB**-Gruppe (**15**) mit $\Phi_{MDNB\text{-}Bz}$ = 0.1 als Referenzwert, erhält man die folgenden Quantenausbeuten für die **NB**- (**7**) und **MDdiNB**-Gruppe (**21**). Die Intensität des eingestrahlten Lichts lässt sich herauskürzen.

Tabelle 2-18: Experimentell ermittelten Werte für die Quantenausbeuten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
Φ_{cC}	0.10	0.05	Referenzwert **Φ_{NB}=0.1**	0.03	0.03

Für die Quantenausbeute für **NB**-Bz (**CC05**) erhält man einen Wert von 0.10. Dies entspricht im Rahmen der Genauigkeit dem Literaturwert von 0.12. Die Werte für die 4-Nitrobenzoate sind mit $\Phi_{NB\text{-}4NBz}$ = 0.05, $\Phi_{MDNB\text{-}4NBz}$ = 0.03 und $\Phi_{MDdiNB\text{-}4NBz}$ = 0.03 merklich niedriger als die Werte der Benzoate ($\Phi_{NB\text{-}Bz}$ = 0.10, $\Phi_{MDNB\text{-}Bz}$ = 0.10).

2.9.2.2 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 360 nm

Im folgenden Kapitel wird das Abbauverhalten von **NB**-Bz (**CC05**), **MDNB**-Bz (**CC06**), **NB**-4NBz (**CC08**), **MDNB**-4NBz (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 360 nm diskutiert. Die Durchführung erfolgt analog den Versuchen aus dem vorherigen Kapitel in dem jedoch Licht der Wellenlänge 255 nm verwendet wurde.

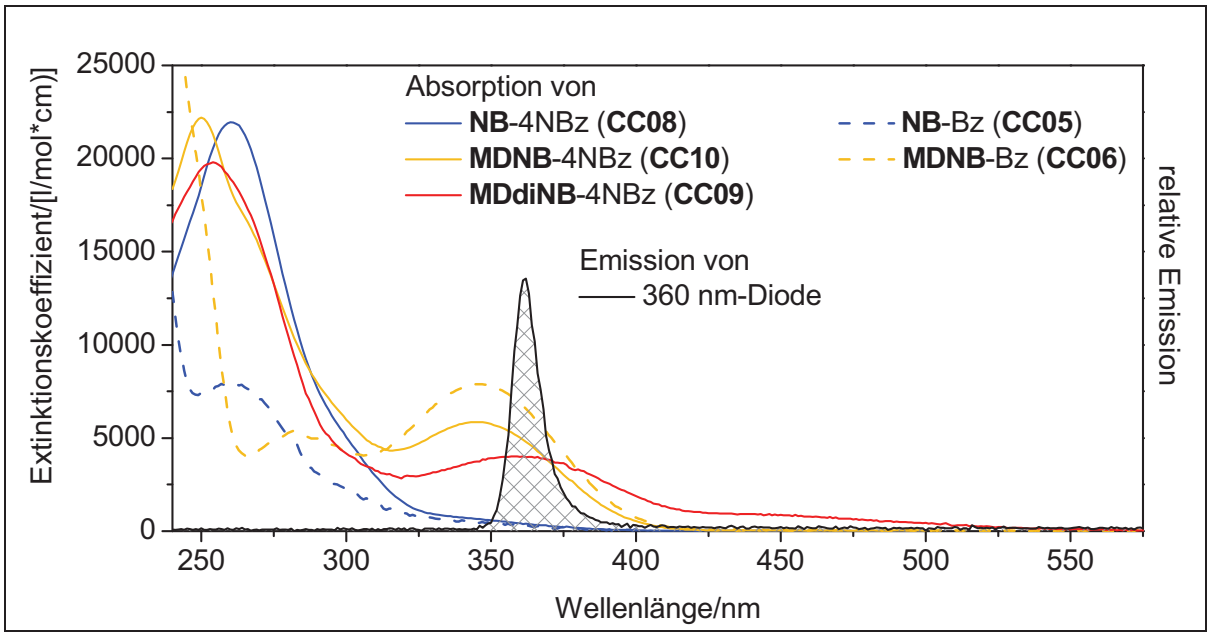


Abbildung 2.37: UV-Vis-Spektren der zu untersuchenden Benzoate und 4-Nitrobenzoate und das Emissionsspektrum der 360 nm-Diode der LUMOS 43.

Ansetzen der Messlösungen: Die Messlösungen werden in Acetonitril angesetzt. Die Konzentration der verwendeten Messlösungen wird an den jeweiligen Extinktionskoeffizienten bei 360 nm angepasst. Die Konzentrationen der Verbindungen von **NB**-Typ (**7**) sind entsprechend den geringen Extinktionskoeffizienten eine Größenordnung höher als die **MDNB**- (**15**) und **MDdiNB**- (**21**) *caged* Verbindungen. Die Absorbanz der einzelnen Lösungen ist daher $A=\varepsilon \cdot c \cdot d \approx 0.1$ und lässt daher ebenfalls eine exponentielles Abbauverhalten erwarten.

Tabelle 2-19: Parameter der Messlösungen für die Bestrahlungen bei 360 nm.

	***c*/(mol/l)**	**$\varepsilon_{@360\ nm}$/l (mol·cm)$^{-1}$**	***A*=ε·c·d**
NB-Bz (**CC05**)	$2.07 \cdot 10^{-4}$	440	0.0911
NB-4NBz (**CC08**)	$2.76 \cdot 10^{-4}$	348	0.0960
MDNB-Bz (**CC06**)	$2.04 \cdot 10^{-5}$	6470	0.132
MDNB-4NBz (**CC10**)	$1.80 \cdot 10^{-5}$	5000	0.0900
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	$2.34 \cdot 10^{-5}$	4000	0.0936

Bestrahlung und Quantifizierung mit der HPLC: Die Bestrahlung und Quantifizierung der *caged Compounds* erfolgt analog der Versuche im Kapitel 2.9.2.1. Die HPLC-Parameter sowie die Messprozedur sind in Kapitel 6 erläutert.

Die relative Menge an vorhandenem *caged Compound* wird gegen die Bestrahlungsdauer aufgetragen. Wie vorhergesagt, lässt sich unter diesen Bedingungen ein exponentielles Abbauverhalten beobachten.

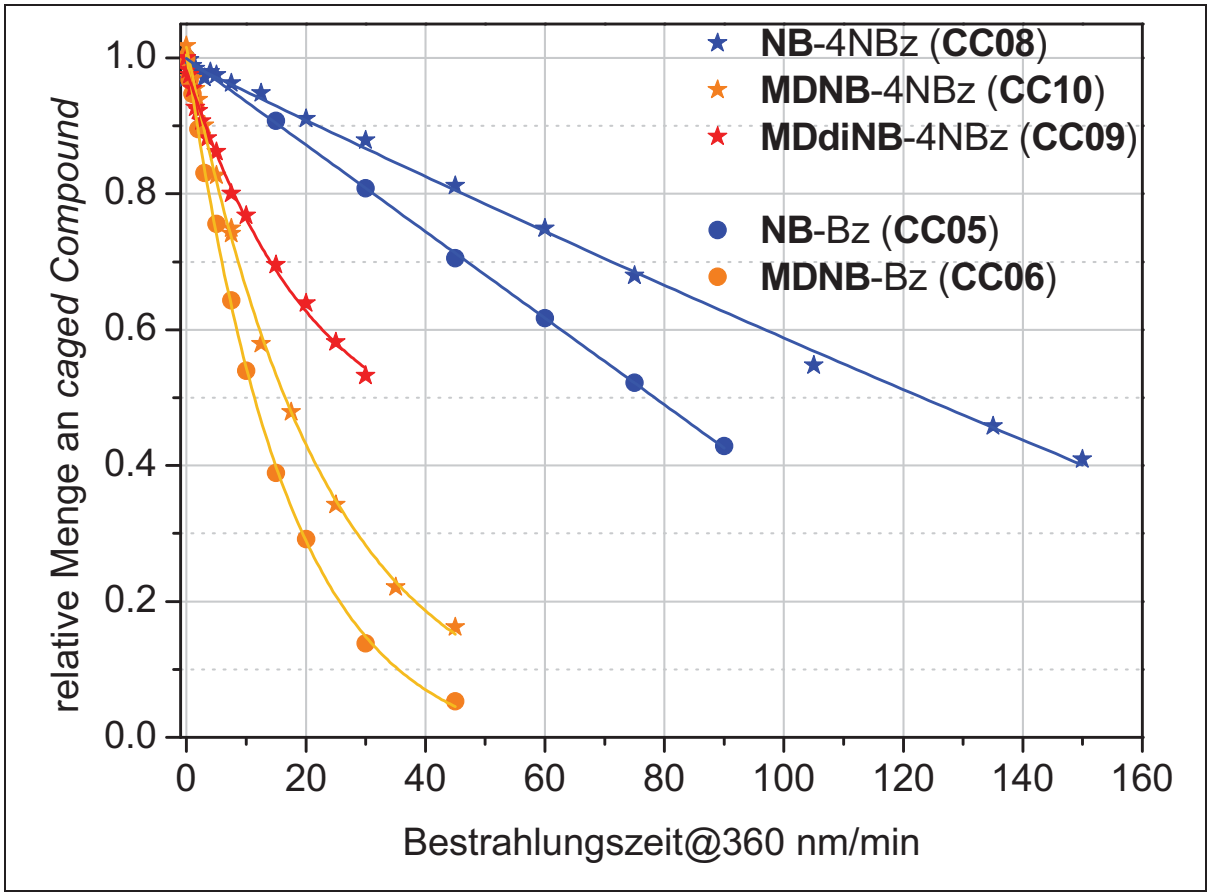


Abbildung 2.38: Auftragung der relativen Menge der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate gegen die Bestrahlungszeit in min in der LUMOS 43 bei 360 nm.

Die erhaltenen Messkurven werden mit der exponentiellen Funktion ExpDec1 von OriginPro 8 gefittet: $y = A \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} + y_0$.[35] Der Abbau der Verbindungen vom Nitrobenzyltyp ist so langsam, dass hier ein linearer Fit verwendet wird: $y = a + b \cdot x$.Für die Messkurven ergeben sich folgende Parameter:

Tabelle 2-20: Einzelne Werte der exponentiellen Fitparameter der Messkurven.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)	
a	1.00	0.994	/	/	/	Achsenabschnitt
b	-0.00639	-0.00402	/	/	/	Steigung
y_0	/	/	-0.0268	-0.0101	-0.143	Offset
A	/	/	1.03	1.01	0.826	Amplitude
τ	/	/	16.9	23	39.2	Zerfallskonstante
R^2	1.00	0.997	0.999	0.999	0.997	
-A/ τ	/	/	-0.0609	-0.0439	-0.0211	Steigung

Entsprechend der Herleitung aus Kapitel 2.7 lässt sich aus den Fitparametern und der Startkonzentration der Stoffmengenumsatz errechnen.

Tabelle 2-21: Photolysegeschwindigkeiten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·min)**	$1.32 \cdot 10^{-6}$	$1.11 \cdot 10^{-6}$	$1.24 \cdot 10^{-6}$	$7.90 \cdot 10^{-7}$	$6.45 \cdot 10^{-7}$
$-\frac{dn}{dt}$ **/(mol/s)**	$8.80 \cdot 10^{-11}$	$7.40 \cdot 10^{-11}$	$8.27 \cdot 10^{-11}$	$5.27 \cdot 10^{-11}$	$4.30 \cdot 10^{-11}$

Der Stoffmengenumsatz entspricht, wie auch zuvor beschrieben, den Photolyseereignissen in mol. Die Quantenausbeute der c*aged Compounds* Φ_{cC} ist das Verhältnis der Photolyseereignisse zur Intensität des absorbierten Lichts: $\Phi_{cC} = \frac{Ereignisse}{I_{Abs}}$ (**2.30**).Für die einzelnen Verbindungen ergeben sich somit die folgenden Werte für I_{Abs} und Φ_{cC}.

Tabelle 2-22: Intensität des absorbierten Lichts der *caged* Benzoate und Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
const. · I_{Abs}	30568	48390	36547	33545	40174
Φ_{cC}/(const · mol)	$2.88 \cdot 10^{-15}$	$1.53 \cdot 10^{-15}$	$2.26 \cdot 10^{-15}$	$1.57 \cdot 10^{-15}$	$1.07 \cdot 10^{-15}$

Setzt man die errechneten Terme für die Quantenausbeute ins Verhältnis zueinander und nimmt wieder wie in Kapitel 2.9.1 die Quantenausbeute von der **MDNB**-Gruppe (**15**) mit $\Phi_{MDNB} = 0.1$ als Referenzwert, erhält man die folgenden Werte.

Tabelle 2-23: Experimentell ermittelte Werte für die Quantenausbeuten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
Φ_{cC}	0.13	0.07	Referenzwert **Φ_{NB}=0.1**	0.07	0.05

Die Quantenausbeute für **NB**-Bz (**CC05**) entspricht mit einem Wert von 0.13 im Rahmen der Genauigkeit dem Literaturwert von 0.12.

Die Werte für die 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** sind $\Phi_{NB\text{-}4NBz}$ = 0.07, $\Phi_{MDNB\text{-}4NBz}$ = 0.07 und $\Phi_{MDdiNB\text{-}4NBz}$ = 0.05. Diese sind zwar zwischen 0.02 und 0.04 größer als die Werte, die bei der Bestrahlung bei 255 nm ermittelt wurden. Somit sind auch bei diesen Messungen die Quantenausbeuten der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** noch merklich kleiner als bei den entsprechenden Acetaten **CC01**, **CC2** und **CC03** und Benzoaten **CC05** und **CC06**.

2.9.2.3 Abbau der *caged* Benzoate bei Licht mit λ = 405 nm

Das Abbauverhalten von **NB**-Bz (**CC05**), **MDNB**-Bz (**CC06**), **NB**-4NBz (**CC08**), **MDNB**-4NBz (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) bei der Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 405 nm wird in diesem Kapitel diskutiert. Die Durchführung dieser Versuche erfolgt analog denen aus den vorherigen Kapiteln (2.9.2.1 und 2.9.2.2) in denen jedoch Licht der Wellenlänge 255 und 360 nm verwendet wurde.

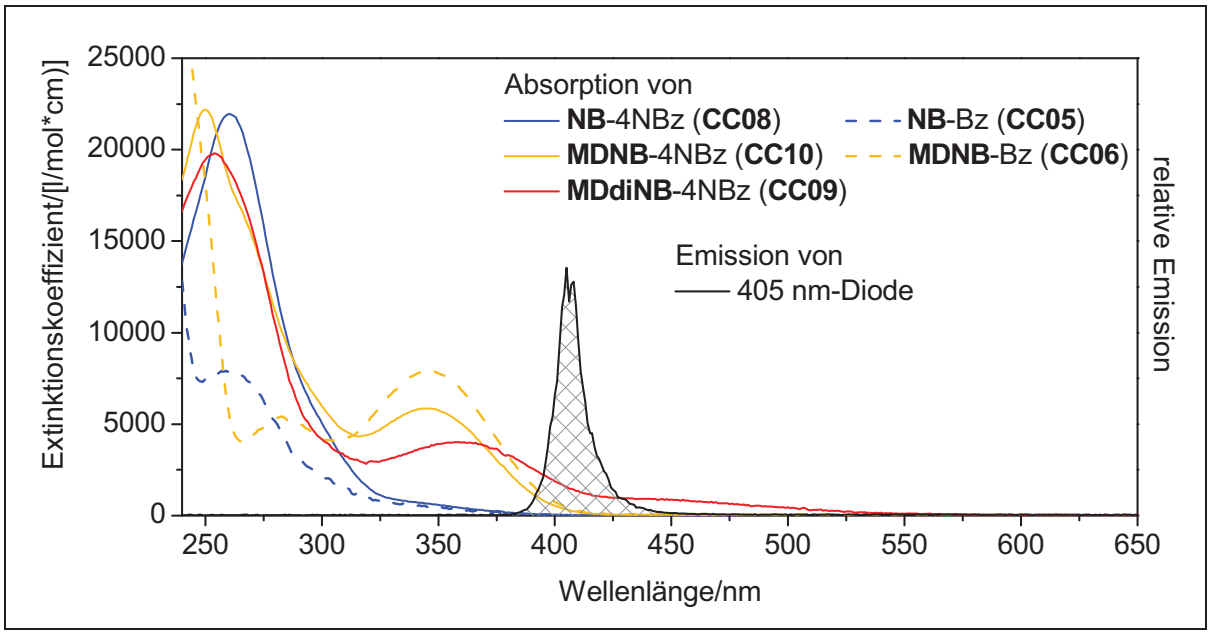


Abbildung 2.39: UV-Spektren der zu untersuchenden Benzoate und 4-Nitrobenzoate und das Emissionsspektrum der 405 nm-Diode der LUMOS 43.v

Ansetzen der Messlösungen: Die Messlösungen werden in Acetonitril angesetzt. Die Konzentration der verwendeten Messlösungen wird an den jeweiligen Extinktionskoeffizienten bei 405 nm angepasst. Die Verbindungen des **NB**-Typs weisen bei 405 nm keine Absorption auf. In ihrem Fall werden die Lösungen aus den Versuchen in Kapitel 2.9.2.2 wieder verwendet. Die Absorbanz der einzelnen Lösungen ist daher $A=\varepsilon \cdot c \cdot d \approx 0.1$ und lässt eine exponentielles Abbauverhalten erwarten.

Tabelle 2-24: Parameter der Messlösungen für die Bestrahlungen bei 405 nm.

	c/(mol/l)	$\varepsilon_{@405\ nm}$/*l (mol·cm)*$^{-1}$	*A=ε·c·d*
NB-Bz (**CC05**)	$2.07 \cdot 10^{-4}$	/	/
NB-4NBz (**CC08**)	$2.76 \cdot 10^{-4}$	/	/
MDNB-Bz (**CC06**)	$2.91 \cdot 10^{-4}$	211	0.0614
MDNB-4NBz (**CC10**)	$3.60 \cdot 10^{-4}$	311	0.112
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	$5.20 \cdot 10^{-5}$	1559	0.0811

Bestrahlung und Quantifizierung mit der HPLC: Die Bestrahlung und Quantifizierung der *caged Compounds* erfolgt analog der Versuche im Kapitel 2.9.2.1. Die HPLC-Parameter sowie die Messprozedur sind in Kapitel 6 erläutert.

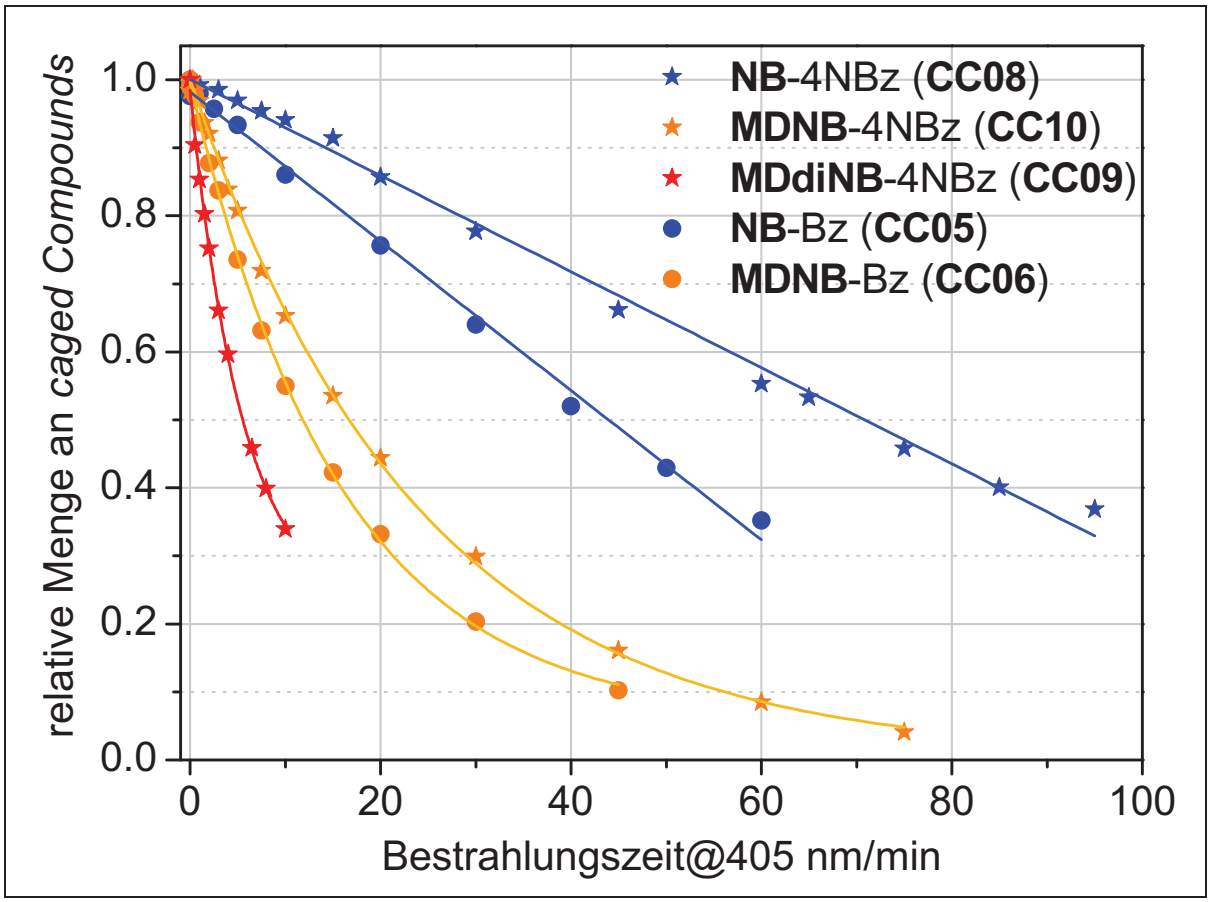


Abbildung 2.40: Auftragung der relativen Menge der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate gegen die Bestrahlungszeit in min in der LUMOS 43 bei 405 nm.

Die relative Menge an vorhandenem *caged Compound* wird gegen die Bestrahlungsdauer aufgetragen. Wie vorhergesagt, lässt sich unter diesen Bedingungen ein exponentielles Abbauverhalten beobachten. Die erhaltenen Messkurven werden daher mit der exponentiellen Funktion ExpDec1 von OriginPro 8 gefittet: $y = A \cdot e^{-\frac{t}{\tau}} + y_0$.[35] Da die Messkurven für die NB-geschützten Verbindungen nur schwach abbauen werden sie nicht exponentiell, sondern linear mit $x = a + b \cdot y$ gefittet. Für die Messkurven ergeben sich folgende Parameter:

Tabelle 2-25: Einzelne Werte der exponentiellen Fitparameter der Messkurven.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)	
a	0.982	0.982	/	/	/	Achsenabschnitt
b	-0.0110	-0.010	/	/	/	Steigung
y_0	/	/	0.0561	0.00494	0.219	Offset
A	/	/	0.939	0.996	0.766	Amplitude
τ	/	/	15.8	23.9	5.52	Zerfallskonstante
R^2	0.996	0.996	0.999	0.999	0.998	
-A/τ	/	/	-0.0594	-0.0417	-0.139	Steigung

Entsprechend der Herleitung aus Kapitel 2.7 lässt sich aus den Fitparametern und der Startkonzentration der Stoffmengenumsatz errechnen.

Tabelle 2-26: Photolysegeschwindigkeiten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)
$-\frac{dc}{dt}$ **= v/(mol/l·min)**	$2.28 \cdot 10^{-6}$	$2.76 \cdot 10^{-6}$	$1.73 \cdot 10^{-5}$	$1.50 \cdot 10^{-5}$	$7.22 \cdot 10^{-6}$
$-\frac{dn}{dt}$ **/(mol/·s)**	$1.52 \cdot 10^{-10}$	$1.84 \cdot 10^{-10}$	$1.15 \cdot 10^{-9}$	$1.00 \cdot 10^{-9}$	$4.81 \cdot 10^{-10}$

Für die einzelnen Verbindungen ergeben sich somit die folgenden Werte für I_{Abs} und Φ_{cC}.

Tabelle 2-27: Intensität des absorbierten Lichts der *caged* Benzoate und Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)
const. · I_{Abs}	3804	7832	40155	50448	37829
Φ_{cC}/(const · mol)	$4.00 \cdot 10^{-14}$	$2.35 \cdot 10^{-14}$	$2.87 \cdot 10^{-14}$	$1.98 \cdot 10^{-14}$	$1.27 \cdot 10^{-14}$

Setzt man die errechneten Terme für die Quantenausbeute ins Verhältnis zueinander und nimmt die Quantenausbeute von **MDNB**-Bz (**CC06**) mit $\Phi_{MDNB\text{-}Bz}$ = 0.1 als Referenzwert, erhält man die folgenden Werte.

Tabelle 2-28: Experimentell ermittelte Werte für die Quantenausbeuten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
Φ_{cC}	0.14	0.08	Referenzwert $\mathbf{\Phi_{NB}=0.1}$	0.07	0.04

Die Quantenausbeuten korrelieren mit den errechneten Werten aus Kapitel 2.9.2.1 und 2.9.2.2. Für **NB**-Bz (**CC05**) erhält man einen Wert von 0.14. Berücksichtigt man die Tatsache, dass diese Verbindung bei der Bestrahlungswellenlänge von 405 nm nur eine sehr geringe Absorbanz zeigt und daher ein relativ großer Fehler bei der Bestimmung der Absorption entsteht, so ist eine Abweichung um 0.02 vom Literaturwert $\Phi_{NB\text{-}Bz} = 0.12$ im Rahmen der Meßgenauigkeit zu erwarten.
Die Werte für die Quantenausbeuten der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** entsprechen mit $\Phi_{NB\text{-}4NBz} = 0.08$, $\Phi_{MDNB\text{-}4NBz} = 0.08$ und $\Phi_{MDdiNB\text{-}4NBz} = 0.04$ in etwa den Werten aus den Bestrahlungsversuchen bei 360 nm im Kapitel 2.9.2.2.

2.10 Diskussion der Quantenausbeuten

In den vorherigen Kapiteln wurden die Quantenausbeuten von ausgewählten *caged* Verbindungen aus Abbauexperimenten bestimmt. Betrachtet man die Versuche mit den *caged* Acetaten **NB**-Ac (**CC01**), **MDNB**-Ac (**CC02**) und **MDdiNB**-Ac (**CC03**) im Vergleich, so stellt man fest, dass nach Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 350 nm sowohl die NMR- als auch die HPLC-analytischen Versuchsreihe zu den gleichen Werten für die Quantenausbeuten der Verbindungen führen.

Tabelle 2-29: Experimentell ermittelte Quantenausbeuten ausgewählter Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
Φ_{cC}(NMR)	0.09	0.10	0.06	A > 2
Φ_{cC}(HPLC)	0.09	0.10	0.06	A < 0.1
		→ Referenzwert		

Die Quantenausbeute von **MDNB**-Ac (**CC02**) wurde mit dem Literaturwert von $\Phi_{MDNB\text{-}Ac}$(Lit) = 0.10 als Referenzwert eingesetzt. In der Literatur wird die Quantenausbeute von **NB**-Ac (**CC01**) mit $\Phi_{NB\text{-}Ac}$(Lit) = 0.10 angegeben. Die Abweichung zu dem hier ermittelten Wert von $\Phi_{NB\text{-}Ac}$(Ex) = 0.09 ist bei solchen photochemischen Untersuchungen im Rahmen der Messgenauigkeit.

Die Bestrahlungsversuche mit den *caged* Benzoaten **CC05** und **CC06** und 4-Nitrobenzoaten **CC08, CC10** und **CC09** bei 255, 360 und 405 nm lieferten unterschiedliche Ergebnisse.

Tabelle 2-30: Experimentell ermittelte Quantenausbeuten ausgewählter Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

	NB-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
Φ_{cC}(255 nm)	0.10	0.05	0.10	0.03	0.03
Φ_{cC}(360 nm)	0.13	0.07	0.10	0.07	0.05
Φ_{cC}(405 nm)	0.14	0.08	0.10	0.07	0.04
Mittelwert	**0.12**	**0.07**	**0.10**	**0.06**	**0.04**
			↓		
			Referenzwert		

Auch in diesen Versuchsreihen wurde die Quantenausbeute einer **MDNB**-*caged* Verbindung als Referenzwert verwendet. Die Quantenausbeute von **MDNB**-Bz (**CC06**) wurde auf $\Phi_{MDNB\text{-}Bz}$(Lit) = 0.10 festgelegt. Die errechneten Quantenausbeuten der beiden Benzoate **NB**-Bz (**CC05**) und **MDNB**-Bz (**CC06**) stehen im gleichen Verhältnis zueinander wie die Literaturwerte. Die Quantenausbeute von **NB**-Bz (**CC05**) wird in der Literatur mit $\Phi_{NB\text{-}Bz}$(Lit) = 0.12 angegeben.
Die Quantenausbeuten der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** sind mit $\Phi_{NB\text{-}4NBz}$ = 0.07, $\Phi_{MDNB\text{-}4NBz}$ = 0.06 und $\Phi_{MDdiNB\text{-}4NBz}$ = 0.04 relativ niedrig. Studien von *Schaper et al*. in 2008 zeigten, dass unterschiedliche Substrate, die mit der gleichen Schutzgruppe versehen wurden ähnliche Quantenausbeuten aufweisen.[12]

Tabelle 2-31: Quantenausbeuten ausgewählter Verbindungen. (Tol: Toluat, DMNB: Dimethoxynitrobenzylgruppe).[12]

		***Caging*gruppe**		
	Φ_{cC}	NB (**7**)	DMNB (**16**)	MDNB (**15**)
Substrat	Ac	0.10	0.08	0.10
	Bz	0.12	0.10	0.10
	Tol	0.12	0.10	0.08
	4-NBz	0.07	/	0.06

Daher würde man bei den *caged* 4-Nitrobenzoaten **CC08**, **CC10** und **CC09** zunächst ebenfalls Quantenausbeuten ähnlich zu den Quantenausbeuten der entsprechenden Acetaten **CC01, CC02** und **CC03** und Benzoaten **CC05** und **CC06** erwarten. Dennoch ist ein Einfluss der 4-Nitrobenzoesäure (**52**) als Substrat auf die Quantenausbeute dieser *caged Compounds* zu beobachten. Diese Beobachtung ist über den Photolysemechanismus der Schutzgruppen zu erklären.

Schmierer et al. haben die Kinetik der Photoreaktion der *o*-Nitrobenzylschutzgruppe (**7**) am Beispiel des Acetats **CC01** detailliert untersucht.[11] Sie konnten zeigen, dass die Geschwindigkeit der Photoreaktion von der Stabilität der aci-nitro-Form anhängt.

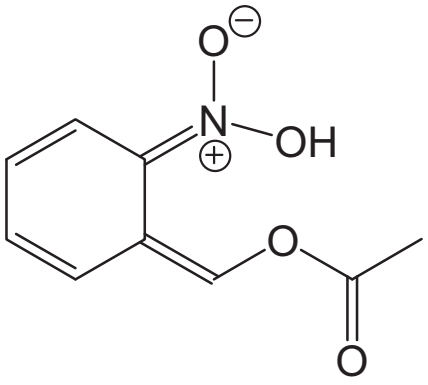


Abbildung 2.41: Aci-nitro-Form von *o*-Nitrobenzylacetat.

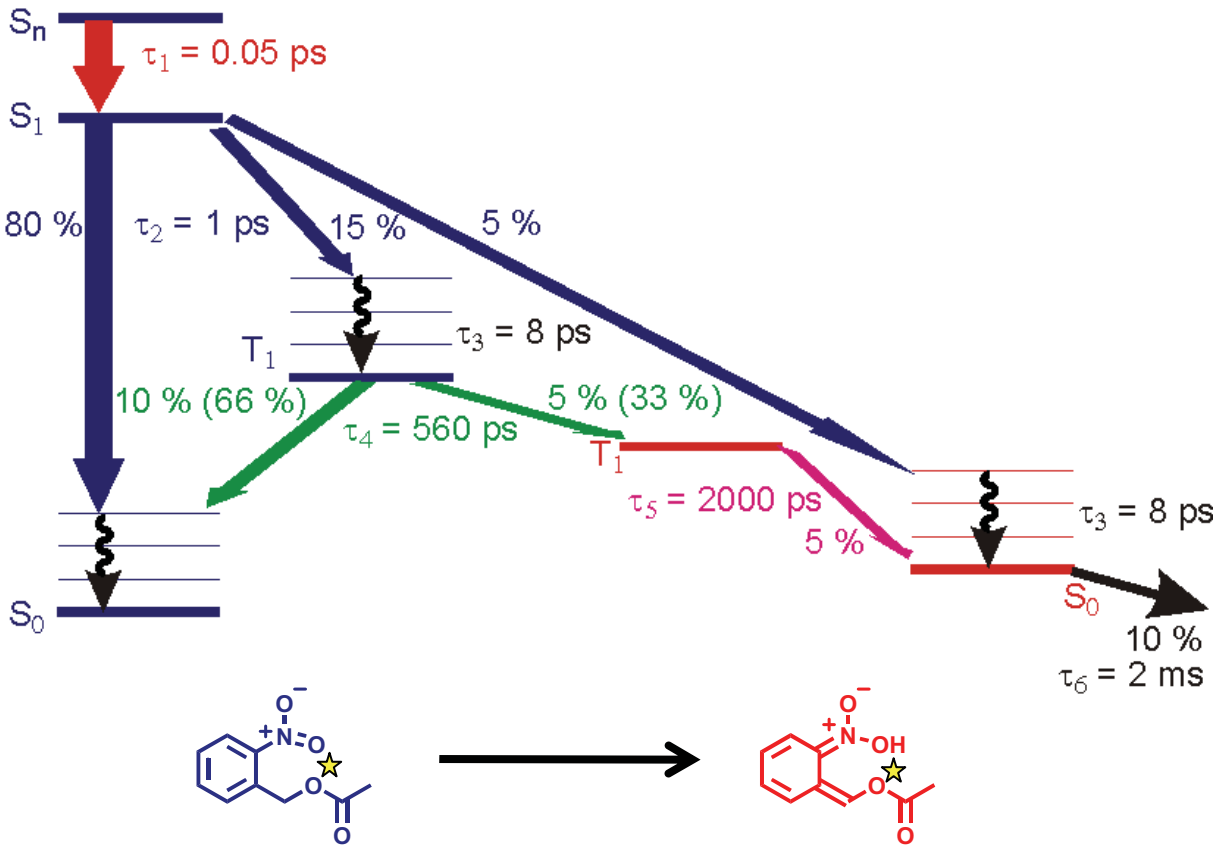


Abbildung 2.42: Schema der Kinetik der Photoreaktion von *o*-Nitrobenzylacetat (**CC01**).[11]

Die Stabilität der aci-nitro-Form wird wiederum maßgeblich von der Donorstärke des Sauerstoffs in der Esterbindung beeinflusst (siehe gelb gestirnte Position in Abbildung 2.42). Diese hängt wiederum von der Natur des geschützten Substrats ab. Berücksichtigt man diese Erkenntnis bei der Betrachtung der experimentell ermittelten Quantenausbeuten so sind die niedrigeren Quantenausbeuten der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** im Vergleich zu den Benzoaten **CC05** und **CC06** verständlich. Die zusätzliche Nitrogruppe als elektronenziehender Substituent senkt die Donorstärke des Sauerstoffs und damit die Stabilität des aci-nitro-Intermediats. Die Photoreaktion wird verlangsamt und die Quantenausbeute steigt.

Betrachtet man die einzelnen Werte für die Quantenausbeuten der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** in Relation zur Bestrahlungswellenlänge so erkennt man, dass die Abweichungen zu den Referenzwerten bei kürzeren Wellenlängen stärker ausgeprägt sind. Ein Vergleich der UV-Spektren der Essigsäure- (**CC01**, **CC02** und **CC03**), Benzoesäure- (**CC05** und **CC06**) und 4-Nitrobenzoesäure- (**CC08**, **CC10** und **CC09**) derivaten zeigt den Grund. Die UV-Vis-Spektren der Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** und Benzoate **CC05** und **CC06** unterscheiden sich über dem gesamten Wellenlängenbereich nur geringfügig. Bei den UV-Vis-Spektren der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** sieht dies anders aus. Gerade im kurzwelligen Bereich unterscheiden sich die Spektren stark.

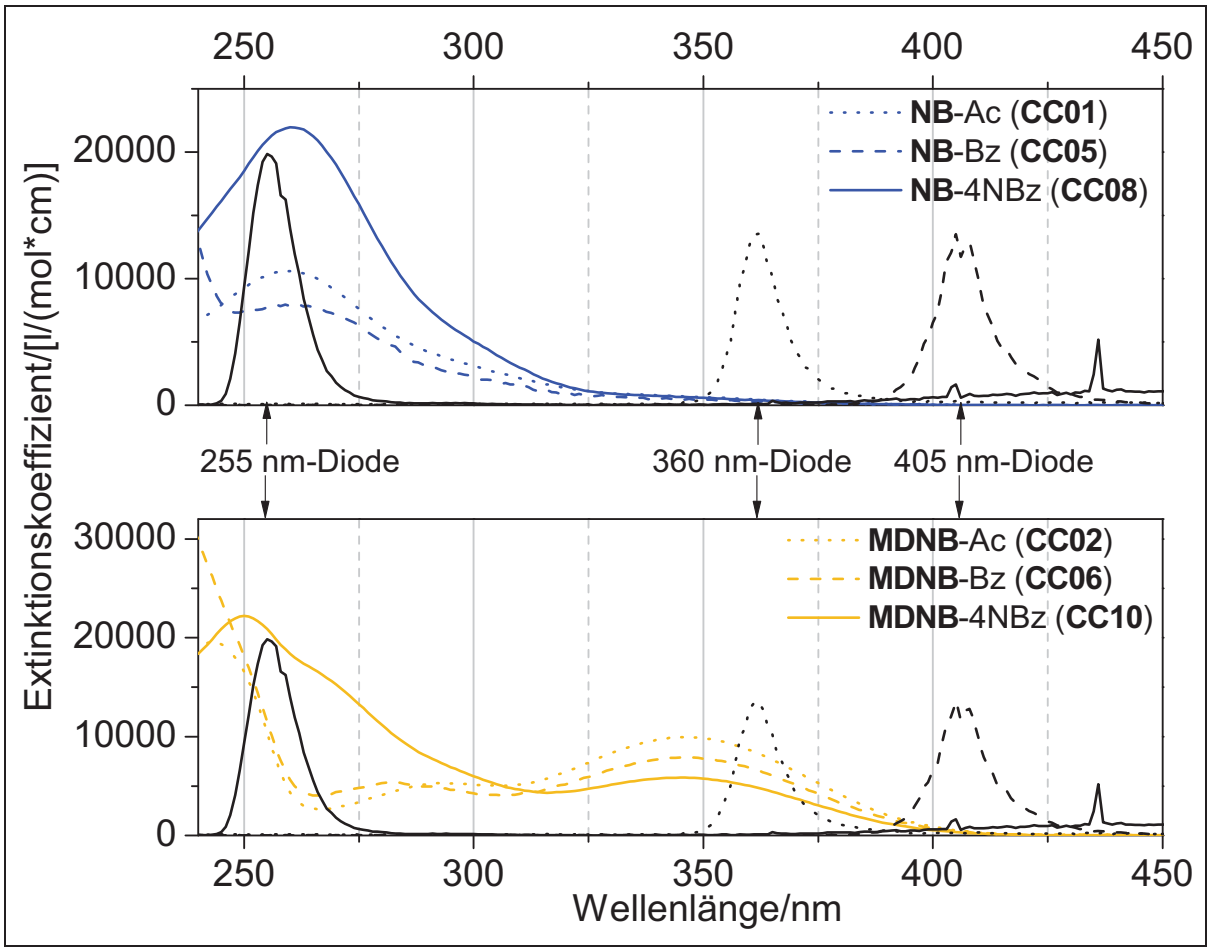


Abbildung 2.43: Vergleich von den UV-Spektren der Benzoate und 4-Nitrobenzoate in den Spektralbereichen der Emission der 255, 360 und 405 nm-Dioden.

Wo bei den Acetaten **CC01**, **CC02** und **CC03** und Benzoaten **CC05** und **CC06** im Bereich um 255 nm das geschützte Substrat keine merkliche Absorption aufwies, bewirkt die Nitrogruppe eine zusätzliche Absorption durch das Substrat im kurzwelligen Bereich. Spektren von Ethylacetat **Et**-Ac (**48**), Ethylbenzoat **Et**-Bz (**49**) und Ethyl-4-nitrobenzoat **Et**-4NBz (**50**) als Modellverbindungen der gekoppelten Substrate belegen diese Beobachtung.

Die Quantenausbeute eines *caged Compound* ist definiert als der Quotient aus Photolyseereignissen zur Menge des vom Gesamtmolekül absorbierten Lichtes und es wird allgemein angenommen, dass die Quantenausbeute unabhängig von der Wellenlänge des absorbierten Lichtes ist. Diese Annahme beruht auf den Voraussetzungen, dass Lichtemission immer aus dem S_1- und T_1-Zustand erfolgt (Kasha-Regel) und dass die strahlungslose Desaktivierung aus S_n- und T_n-Zuständen zum S_1- und T_1-Zustand schneller erfolgt als jeder andere Prozess.

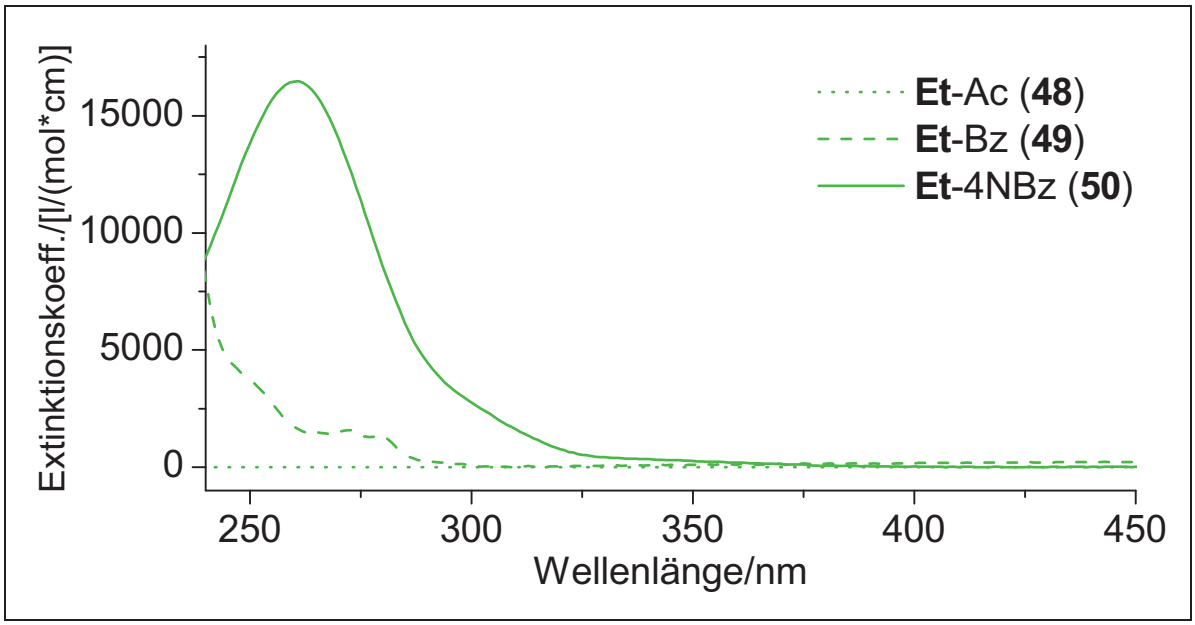


Abbildung 2.44: UV-Spektren von Ethylacetat (**Et**-Ac, **48**), Ethylbenzoat (**Et**-Bz, **49**) und Ethyl-4-nitrobenzoat (**Et**-4NBz, **50**) als Modellverbindungen der gekoppelten Substrate.

Daraus folgert man, dass jedes Photon die gleiche Wahrscheinlichkeit für eine Reaktion besitzt. Hier ist die Situation aber etwas anders. Die 4-Nitrobenzoatgruppe trägt in weiten Teilen des Spektrums erheblich zur beobachteten Absorption bei. Die oben gemachten Annahmen gelten aber nur für Photonen, die vom photoreaktiven Chromophor absorbiert werden. Photonen, die von der Abgangsgruppe absorbiert werden können nicht zur Photoreaktivität beitragen. Wie man den UV-Vis-Spektren entnehmen kann, ist dieser Effekt bei allen untersuchten Wellenlängen für die Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** und Benzoate **CC05** und **CC06** vernachlässigbar, spielt aber für die 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** im gesamten Wellenlängenbereich eine Rolle. Für die 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** ist dieser Effekt groß. Bei 255 nm werden 2/3 der Photonen von der Abgangsgruppe absorbiert. Daher ist die tatsächliche Quantenausbeute bezogen auf die durch den Chromophor absorbierten Photonen ca. dreimal höher und liegt dann mit 0.09 im gleichen Bereich wie die übrigen. Bei höheren Wellenlängen ist die Substratabsorption der 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** gering. Die bestimmten Quantenausbeuten nähern sich daher mit zunehmender Bestrahlungswellenlänge dem Quantenausbeutenbereich der Acetate **CC01**, **CC02** und **CC03** und Benzoate **CC05** und **CC06** an.

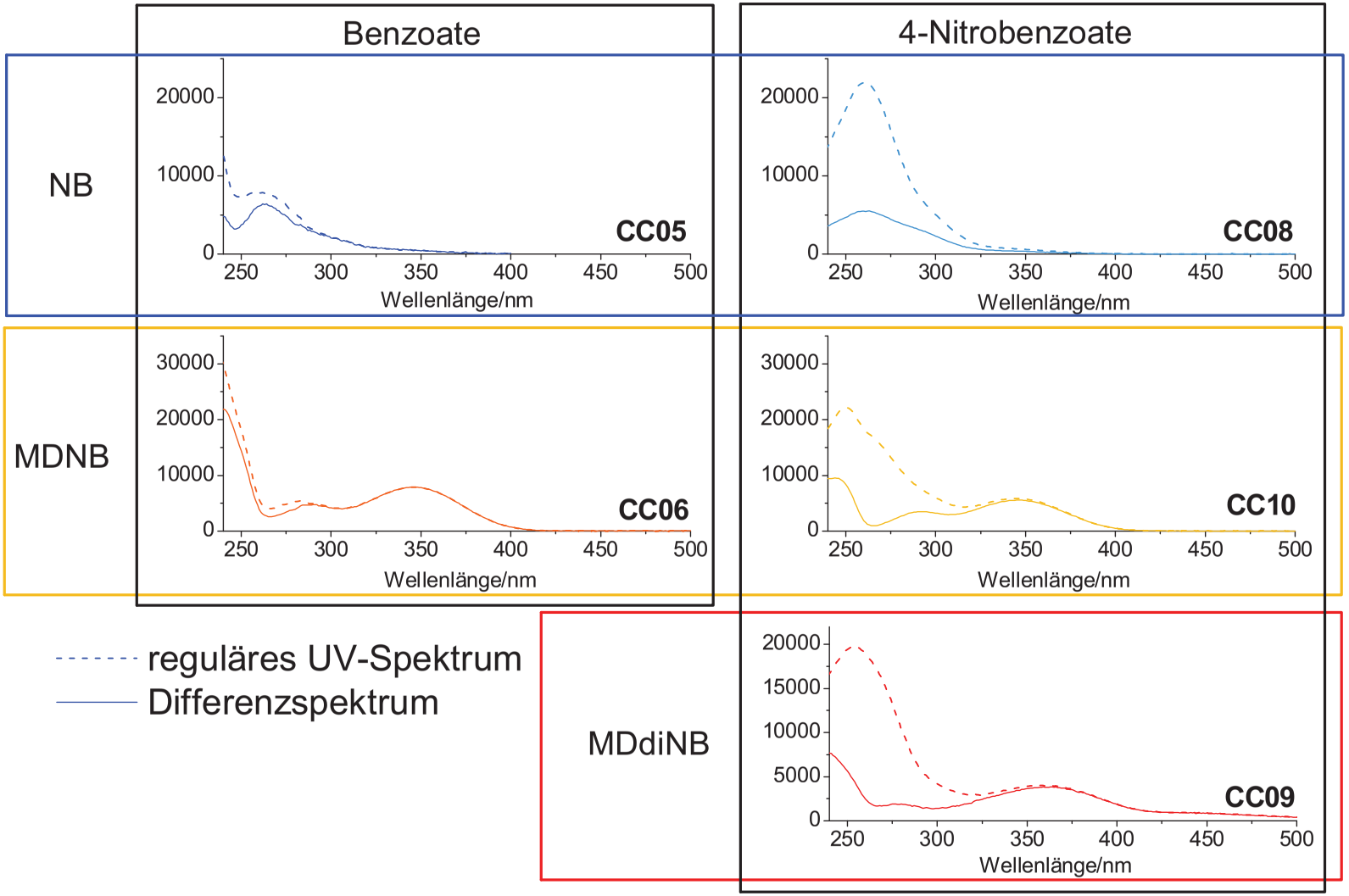


Abbildung 2.45: UV-Vis-Spektren und Differenzspektren der *caged* Benzoate **CC05** und **CC06** und 4-Nitrobenzoate **CC08, CC10** und **CC09**.

Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass bei ausschließlicher Berücksichtigung des Lichtes welches nur von der photolabilen Schutzgruppe absorbiert wird, man die wahren Quantenausbeuten der Schutzgruppen bestimmen kann. Um dies zu zeigen benötigt man die Absorptionsspektren der reinen photolabilen Schutzgruppe. Dazu wurden die UV-Spektren der Modellsubstrate **Et**-Ac (**48**), **Et**-Bz (**49**) bzw. **Et**-4NBz (**50**) von den Spektren der jeweiligen *caged Compounds* subtrahiert. Man erhält eine Reihe von Differenzspektren. Aufgrund der geringen Absorbanz des **Et**-Ac (**48**) ist hier keine Veränderung der Ergebnisse zu erwarten. Im Folgenden werden daher nur die *caged* Benzoate **CC05** und **CC06** und 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** behandelt.

Berechnet man nun analog zu den vorherigen Versuchen die Überlappungsintegrale mit den Emissionen der LUMOS 43-Dioden so erhält man neue Werte für die Menge an absorbiertem Lichts und schlussendlich auch Werte für die Quantenausbeuten Φ_{cG} der *Caging*gruppen **NB** (**7**), **MDNB** (**15**) und **MDdiNB** (**21**). Da die Quantenausbeute für sowohl **MDNB**–Ac (**CC02**) als auch **MDNB**–Bz (**CC06**) in der Literatur mit 0.1 angegeben werden, wird in diesen Berechnungen die Quantenausbeute für die **MDNB**-Gruppe (**15**) mit 0.1 als Referenzwert eingesetzt. Für Details siehe Kapitel 6.2. Die ermittelten Quantenausbeuten für die *Caging*gruppen sind in Tabelle 2-32 aufgeführt.
Vergleicht man die Quantenausbeuten der Gesamtverbindungen mit denen von nur der Schutzgruppe so erkennt man, dass eine Benzoatgruppe keinen Einfluss auf die Photolyse hat. Bei der Betrachtung der 4-Nitrobenzoaten **CC08**, **CC10** und **CC09** sieht dies allerdings anders aus. Bei allen drei Schutzgruppen **7**, **15** und **21** nähern sich die ermittelten Quantenausbeuten den Werten aus der Betrachtung der Benzoaten an. Der Einfluss der Nitrobenzoyleinheit auf die Quantenausbeute des Gesamtmoleküls ist, wie die UV-Vis-Spektren erwarten ließen, bei Bestrahlungen mit kurzwelligem Licht besonders groß. Als Mittelwert lässt sich für die *o*-Nitrobenzylgruppe eine Quantenausbeute von 0.13 (aus **NB**-Bz, **CC05**) bzw. 0.11 (aus **NB**-4NBz, **CC08**) errechnen. Dies stimmt im Rahmen der Messgenauigkeit mit den Literaturwerten von Φ_{NB} = 0.10-0.12 überein. Für die Quantenausbeute der 3,4-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe (**15**) ergibt sich aus den 4-Nitrobenzoatmessungen ein Mittelwert von 0.10. Dieser Wert liegt bei den Literaturwerten von Φ_{MDNB} = 0.08-0.10. Für die neue 4,5-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe (**21**)

lässt sich ein Mittelwert von 0.06 errechnen. Dies korrespondiert mit den Werten aus den Versuchen mit dem **MDdiNB**-Ac (**CC03**), wo in beiden Fällen eine Quantenausbeute für das Acetat von $\Phi_{MDdiNB} = 0.06$ bestimmt wurde.

Tabelle 2-32: Berechnung der Quantenausbeuten der *Caging*gruppen unter Berücksichtigung der Überlappungsintegrale.

Differenz	$-\frac{dn}{dt}$ /(mol/·s)	const. · I_{Abs}	Φ_{cG}/(const · mol)	Φ_{cG}	Φ_{cC}	
NB-Bz – **Et**-Bz	$1.07 \cdot 10^{-11}$	18718	$5.70 \cdot 10^{-16}$	0.10	0.10	255 nm
NB-4NBz – **Et**-4NBz	$5.25 \cdot 10^{-12}$	7305	$7.18 \cdot 10^{-16}$	0.12	0.05	
MDNB-Bz – **Et**-Bz	$9.20 \cdot 10^{-12}$	15357	$5.99 \cdot 10^{-16}$	0.10	0.10	
MDNB-4NBz – **Et**-4NBz	$2.56 \cdot 10^{-12}$	5137	$4.98 \cdot 10^{-16}$	0.12	0.03	
MDdiNB-4NBz – **Et**-4NBz	$2.61 \cdot 10^{-12}$	5578	$4.67 \cdot 10^{-16}$	0.08	0.03	
NB-Bz – **Et**-Bz	$8.80 \cdot 10^{-11}$	29569	$2.98 \cdot 10^{-15}$	0.13	0.13	360 nm
NB-4NBz – **Et**-4NBz	$7.40 \cdot 10^{-11}$	28036	$2.64 \cdot 10^{-15}$	0.11	0.07	
MDNB-Bz – **Et**-Bz	$8.27 \cdot 10^{-11}$	35091	$2.36 \cdot 10^{-15}$	0.10	0.10	
MDNB-4NBz – **Et**-4NBz	$5.27 \cdot 10^{-11}$	18926	$2.78 \cdot 10^{-15}$	0.12	0.07	
MDdiNB-4NBz – **Et**-4NBz	$4.30 \cdot 10^{-11}$	36200	$1.19 \cdot 10^{-15}$	0.05	0.05	
NB-Bz – **Et**-Bz	$1.52 \cdot 10^{-10}$	3510	$4.33 \cdot 10^{-14}$	0.15	0.14	405 nm
NB-4NBz – **Et**-4NBz	$1.84 \cdot 10^{-10}$	5469	$3.36 \cdot 10^{-14}$	0.12	0.08	
MDNB-Bz – **Et**-Bz	$1.15 \cdot 10^{-9}$	39822	$2.90 \cdot 10^{-14}$	0.10	0.10	
MDNB-4NBz – **Et**-4NBz	$1.00 \cdot 10^{-9}$	45177	$2.21 \cdot 10^{-14}$	0.08	0.07	
MDdiNB-4NBz – **Et**-4NBz	$4.81 \cdot 10^{-10}$	36493	$1.32 \cdot 10^{-14}$	0.05	0.05	
	Stoffmengenumsatz pro s	relative Menge absorbierten Lichts	relative Quantenausbeute	absolute Quantenausbeute	absolute Quantenausbeute	

2.11 Diskussion der Abbaueffizienz

Die Eignung der verschiedenen *Caging*gruppen für photophysikalische Untersuchungen hängt von der Abbaueffizienz der Verbindungen ab. Dies entspricht der Menge der freigesetzten biologisch aktiven Verbindung unter den angewandten Versuchsbedingungen der *Uncaging*experimente. Idealerweise bedeutet dies die Bestrahlung mit einem kurzen energiearmen Laserpuls. Wellenlängen über ca. 300 nm sind wünschenswert, um eine Wechselwirkung mit dem biologischen Material wie z. B. Zellwänden oder DNA zu verhindern. Ein Laser als Lichtquelle ermöglicht eine hohe zeitliche und räumliche Auflösung.
Die relativen Abspaltungsgeschwindigkeiten wurden im Rahmen der Bestrahlungsversuche bestimmt. Sie beschreiben die Reaktionsgeschwindigkeiten zum Zeitpunkt t = 0. Zunächst werden die *caged* Acetate diskutiert.

Tabelle 2-33: Relative photolytische Abbaugeschwindigkeiten der *caged* Acetate.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)	
350 nm	0.00200	0.00242	0.00147	A > 2
350 nm	0.014	0.0306	0.102	A < 0.1

Wie man erwarten würde, photolysieren die Verbindungen in verdünnten Lösungen relativ schneller als in den Lösungen mit hoher Konzentration. Die hochkonzentrierten Lösungen absorbieren das gesamte eingestrahlte Licht. Diese Menge reicht jedoch nicht aus einen ähnlich hohen Anteil der Moleküle in der Lösung anzuregen wie in den verdünnten Lösungen.
Setzt man diese Abbaugeschwindigkeit nun ins Verhältnis zu einander und normiert auf 1 so erhält man folgenden Graphen.

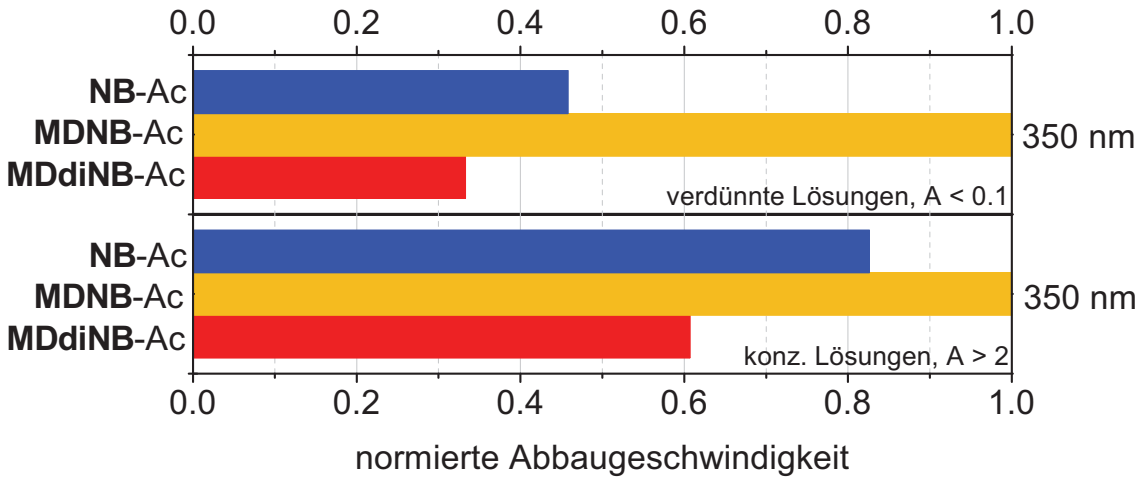


Abbildung 2.46: Normierte Abbaugeschwindigkeiten der *caged* Acetate.

Aus der Abbildung 2.46 erkennt man, dass bei der Verwendung von hochkonzentrierten Lösungen mit A > 2 unter den entsprechenden Versuchbedingungen die relative Abbaugeschwindigkeit sich ausschließlich nach der Quantenausbeute richtet. Dies ist auch zu erwarten, da alle Lösungen die gleiche Menge an Photonen absorbieren.

Tabelle 2-34: Vergleich der normierten photolytische Abbaugeschwindigkeiten und Quantenausbeuten der *caged* Acetate in hochkonzentrierten Lösungen mit A > 2.

	NB-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
norm. Abbaugeschwindkeit	0.80	1.0	0.60
Φ_{cC}	0.09	0.10	0.06

Bei verdünnten Lösungen sieht dies etwas anders aus. Die Auftragung oben in der Abbildung 2.46 zeigt, dass bei Versuchen in denen Licht der Wellenlänge 350 nm verwendet wird, die **MDNB**-Schutzgruppe (**15**) effektiver photolysiert als die **NB**-(**CC01**) und die **MDdiNB**-*caged* Acetate (**CC03**).

Diese Schlussfolgerung wird auch durch die normierten Abbaugeschwindigkeiten in Abbildung 2.47 der *caged* Benzoate **CC05** und **CC06** und 4-Nitrobenzoate **CC08**, **CC10** und **CC09** belegt. Im mittleren Segment sind die normierten Abbaugeschwindigkeiten nach Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 360 nm aufgetragen. Wie bei

den Acetaten **CC01**, **CC02** und **CC03** bei 350 nm bauen auch hier die Derivate mit der **MDNB**-Schutzgruppe (**15**) schneller ab als die entsprechenden **NB**- (**7**) und die **MDdiNB**- (**21**) Derivate. Bei den Versuchen mit Licht der Wellenlänge 255 nm bauen die **NB**-Verbindungen am schnellsten ab.

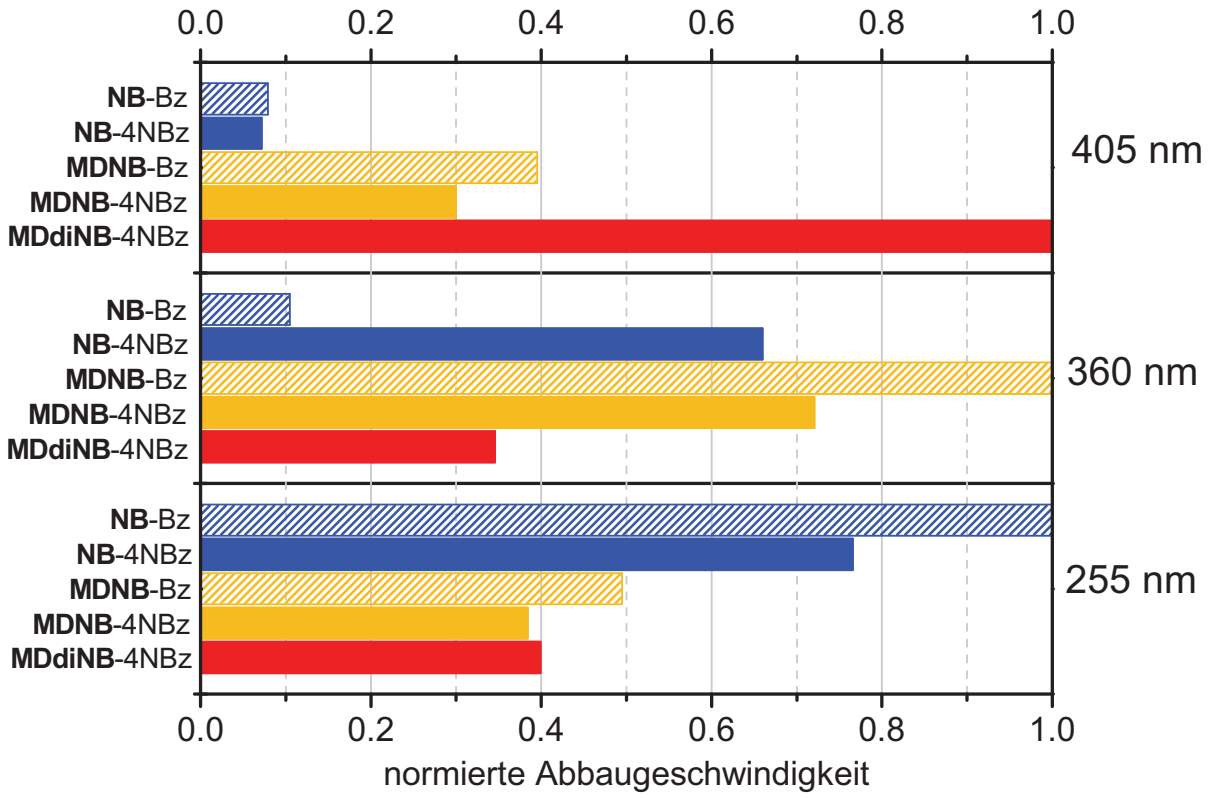


Abbildung 2.47: Normierte Abbaugeschwindigkeiten der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate.

Bei den bathochromsten Bestrahlungen mit dem Licht der Wellenlänge 405 nm erweist sich die neue **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) als am besten geeignet. Dies zeigt, dass unser Design eines neuen *o*-Nitrobenzylderivats **21**, das bei bathochromer Bestrahlung (405 nm) noch effiziente Photochemie zeigt, erfolgreich ist. Die bisher gebräuchlichen **NB**- (**7**) und die **MDNB**- (**15**) Schutzgruppen weisen in diesem Bereich keine bzw. nur geringe Absorbanz auf und können somit nicht bzw. nur schlecht mit Licht > 400 nm photolysiert werden.

2.12 Eignung der MDdiNB-Schutzgruppe als Werkzeug in *Uncaging*experimenten

Die Quantenausbeute einer Verbindung sagt aus, wie effektiv die Verbindungen absorbiertes Licht für eine Photoreaktion verwendet. Wie im Kapitel 2.10 beschrieben wurde bezieht sich dies jedoch nur auf monochromophorische Systeme. Als Quantenausbeuten für die hier untersuchten Verbindungen wurden folgende Werte ermittelt.

Tabelle 2-35: Quantenausbeuten ausgewählter Verbindungen.

		***Caging*gruppe**		
	Φ_{cC}	**NB** (**7**)	**MDNB** (**15**)	**MDdiNB** (**21**)
Substrat	Ac	0.09	0.10	0.06
	Bz	0.12	0.10	/
	4NBz	0.07	0.06	0.04
	ohne	0.12	0.10	0.06

Die Quantenausbeute beschreibt das Verhältnis des absorbierten Lichts zu den Photoereignissen. Ist eine Verbindung jedoch unter den Versuchsbedingungen (z. B. energiearme Anregung) nicht in der Lage Licht zu absorbieren so kann es trotz einer Quantenausbeute von 1 nicht zu einem Stoffumsatz kommen. Es ist daher bei der Planung von *Uncaging*experimenten wichtig die *Caging*gruppe nach den Versuchsbedingungen auszuwählen.

NB-Derivate weisen Quantenausbeuten von bis zu 0.12 auf. Sie absorbieren jedoch nur merklich bis 300 nm und sind daher für Versuche mit längerwelligem Licht eher ungeeignet.

MDNB-*caged* Verbindungen haben mit ~ 0.12 nur leicht kleinere Quantenausbeuten als die **NB**-Derivate. Sie können bei Bestrahlungswellenlängen bis 375 nm effektiv

eingesetzt werden. Im Vergleich zu den **NB**-Verbindungen setzten sie einen größeren synthetischen Aufwand voraus.

Die hier vorgestellte, neue **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) weist mit 0.06 eine Quantenausbeute auf, die nur knapp halb so groß ist wie die der **NB**- und **MDNB**-Verbindungen. Auch sind die Synthesen von **MDdiNB**-*caged* Verbindungen aufwendig. Allerdings kann sie bei Bestrahlungen mit Licht bis 400 nm effektiv eingesetzt werden. Diese Schutzgruppe zeigt sogar noch geringe Absorbanz bis 510 nm, so dass bei ausreichender Lichtintensität auch bis 500 nm Verbindungen dieses Typs noch photolysiert werden können. Unter solchen Versuchsbedingungen sind Wechselwirkungen mit biologischem Material bei *Uncaging*experimente auszuschließen.

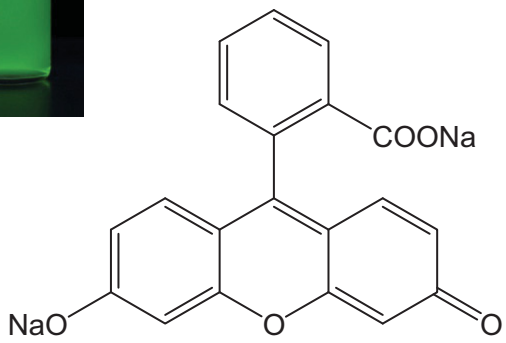
Die **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) bietet die Möglichkeit *Uncaging*experimente mit bathochromem Licht bis hin zu einer Anregungswellenlänge von 500 nm durchzuführen. Diese neue *Caging*gruppe stellt ein neues Werkzeug für die *Caging*technik dar und bereichert mit seinem bathochromen Absorptionsprofil die bisherige Auswahl an photolabilen Schutzgruppen.

3 Entwicklung von Chromophor-systemen als Fluoreszenzsonden

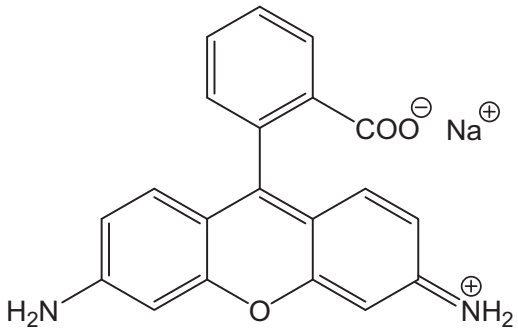
Fluorophore sind physikalische Systeme, die nach elektronischer Anregung Fluoreszenz aufweisen. Dies können Atome, Moleküle, Ionen oder Nanopartikel sein. Das bekannteste Beispiel eines Fluoreszenzfarbstoffs ist das Fluorescein. In Lösung weist es eine leuchtend gelb-grüne Fluoreszenz auf. Strukturell gehört Fluorescein (**2**) zu der Klasse der Xanthenfarbstoffen. Weitere Beispiele sind Rhodamine und Eosine.



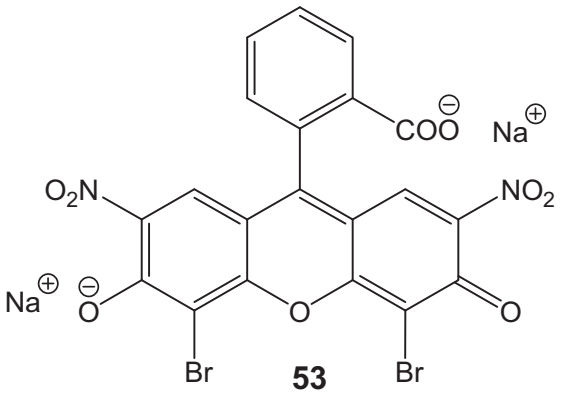
Abbildung 3.1: Struktur von Fluorescein (**2**) als Dinatriumsalz und eine Fluoresceinlösung unter UV-Licht.



2



1
Rhodamin 110



53
Eosin B

Abbildung 3.2: Strukturen von ausgewählten Xanthenfarbstoffen: Rhodamin 110 (**1**) und Eosin B (**53**).

Xanthenfarbstoffe werden aufgrund ihrer hohen Stabilität und Fluoreszenzquantenausbeute häufig als Fluoreszenzsonden in medizinischen Untersuchungen zum

Einfärben von Zellen verwendet. Aktivierte Formen der Farbstoffe, auch Reaktivfarbstoffe genannt, ermöglichen die kovalente Kopplung an Substrate wie z. B. Antikörper oder DNA. Die Kopplung von Fluoreszenzfarbstoffen an eine funktionelle Gruppe einer Zielsubstanz wird *Fluorescent Labeling* genannt. Das Verhalten dieser Substrate kann dann spektroskopisch über die Fluoreszenz der Farbstoffeinheit beobachtet werden. So kann man z. B. die Anreicherung eines Antikörpers am entsprechenden Antigen verfolgen. Methoden, die auf den Fluoreszenzeigenschaften von Fluorophoren beruhen, werden als Fluoreszenzspektroskopie bezeichnet.

3.1 Zielsetzung

Die Detektionempfindlichkeit in modernen Methoden der Fluoreszenzspektroskopie, wie die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie oder Einzelmolekülspektroskopie, hängt maßgeblich von den photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften der verwendeten Fluorophore ab. Als wichtige Charakteristika dieser Fluoreszenzfarbstoffe sind die Photostabilität und die Fluoreszenzzählrate zu nennen (siehe Kapitel 3.23).

Photostabilität: Durch die hohen Anrgeungsleistungsdichten in der Einzelmolekülspektroskopie kommt es häufig zu einer hohen Population von Dunkelzuständen. Diese Zustände können zur Photozerstörung der verwendeten Farbstoffe führen. Die Photostabilität beschreibt die Stabilität eines Farbstoffs unter diesen Versuchsbedingungen

Fluoreszenzzählrate: Langlebige dunkle angeregte Zustände wie z. B. ein Triplettzustand oder reduzierte oder oxidierte Zustände führen im Laufe der Messungen zu einer Signalsättigung (siehe Abbildung 3.9). Diese Sättigung verhindert, dass der Fluorophor erneut zur Fluoreszenz angeregt werden kann und limitiert so die Fluoreszenzzählrate.

Die Problematik bezüglich des Verhaltens von Fluorophoren bei hohen Leistungsdichten und die ausführliche Herleitung möglicher Lösungsansätze sind in den folgenden Kapiteln 3.3 und 3.5 beschrieben. Ein Ziel dieser Arbeit ist die Steigerung der Photostabilität und Fluoreszenzzählraten von Fluoreszenzfarbstoffen. Dies sollte durch die gezielte Löschung des ersten angeregten Triplettzustandes des Farbstoffs geschehen. Dieser Quenchvorgang soll mittels eines Dexterenergietransfers erfolgen ohne unerwünschte Löschung des ersten angeregten Singulettzustands, die zur Zerstörung des Fluorophors führen können.
Im Rahmen dieser Arbeit sollen aufgrund physikochemischer und photochemischer Überlegungen Verbindungsklassen als potentielle Quencher identifiziert werden.

Ausgewählte Vertreter dieser Klassen sollen für Substanzbibliotheken synthetisiert und auf ihre Eignung als Triplettquencher für Rhodaminfarbstoffe untersucht werden.

3.2 Fluoreszenzspektroskopische Methoden

Die Fluoreszenzspektroskopie ist eine sehr empfindliche physikalische Methode, um strukturelle und dynamische Eigenschaften von Biomolekülen zu untersuchen. Anders als bei den meisten anderen spektroskopischen Methoden wird nicht die Lichtabsorption durch ein Substrat verfolgt, sondern es wird das emittierte Licht nach entsprechender Anregung detektiert (Emissionsspektroskopie). Eine Reihe von photophysikalischen Prozessen wie z. B. Schwingungskühlung und interne Umwandlung (*Internal Conversion* IC) können zwischen der Anregung eines Moleküls und der Emission von Fluoreszenzlichts durchlaufen werden. In diesem Zeitintervall finden Wechselwirkungen mit der Umgebung statt wie z. B. Translation, Konformationsänderung oder Energietransfer. Der Einfluss solcher Wechselwirkungen auf die Fluoreszenz können Rückschlüsse auf die Eigenschaften des beobachteten Systems erlauben.

3.2.1 Fluoreszenzmikroskopie und –spektroskopie

Eine einfache Form der Fluoreszenzanalytik ist die Fluoreszenzmikroskopie. Der Aufbau eines herkömmlichen Fluoreszenzmikroskops ist in Abbildung 3.3 gezeigt. Als Lichtquelle werden in der Regel Quecksilberdampflampen oder Laser verwendet. Mit einem Filter wird die Wellenlänge des Anregungslichts ausgewählt. Das Licht wird über einen halbdurchlässigen Spiegel durch ein Objektiv auf die Probe gelenkt. Das Fluoreszenzlicht, das von der Probe emittiert wird, wird durch den dichroitischen Spiegel geleitet. Streulicht wird mit Hilfe eines Emissionsfilters abgetrennt. Die Detektion kann über ein Okular oder eine CCD-Kamera erfolgen.
Die emittierten Photonen können auch mit einem Photomultiplier registriert werden. Unter solchen Bedingungen werden sehr kleine Lichtintensitäten gemessen. Man spricht hierbei von Fluoreszenzspektroskopie.

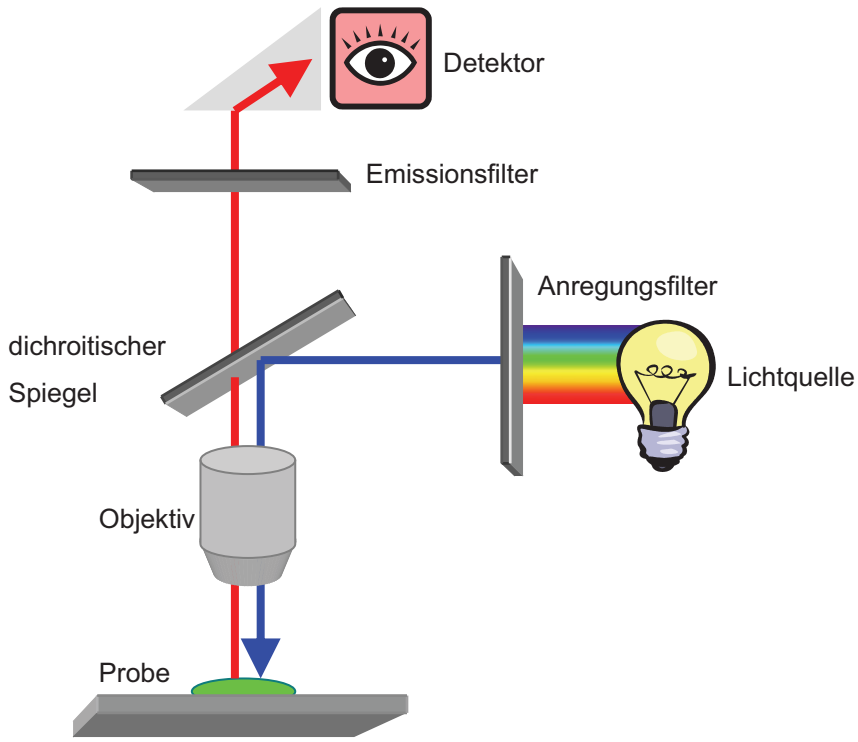


Abbildung 3.3: Allgemeines Aufbauschema eines Fluoreszenzmikroskops.

Mikroskopische Methoden sind bildgebende Verfahren. Aus spektroskopischen Methoden erhält man Spektren, also Strahlungsintensität-Wellenlänge-Zusammenhänge. Ein handelsübliches Fluoreszenzspektrometer unterscheidet sich nur gering von einem Fluoreszenzmikroskop.

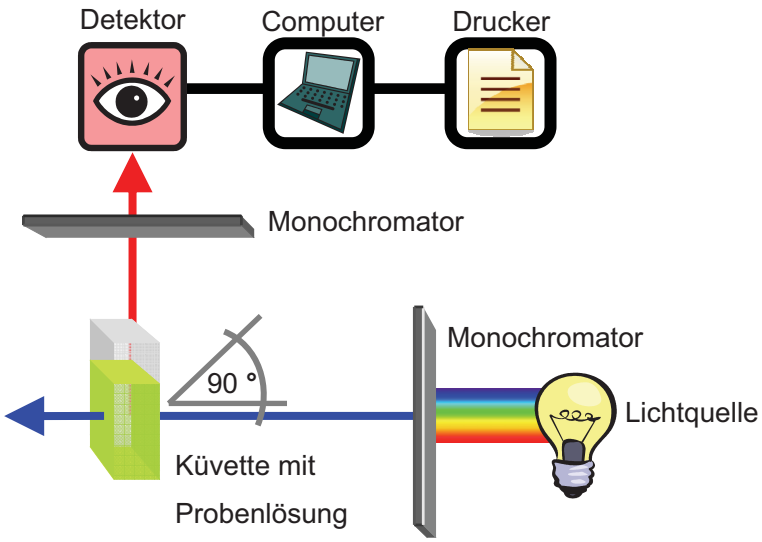


Abbildung 3.4: Allgemeiner Aufbau eines Fluoreszenzspektrometers.

Das monochromatische Anregungslicht wird beim Spektrometer direkt durch eine Küvette gestrahlt, die mit einer Probenlösung gefüllt wird. Zur Minimierung der Registrierung von Streulicht wird das emittierte Fluoreszenzlicht in einem Winkel von 90 ° zur Anregung durch einen Monochromator geführt und detektiert. Die Detektion erfolgt meist durch Avalanche Photodioden.

3.2.2 Einzelmolekül Fluoreszenzspektroskopie

Die Fluoreszenzspektroskopie lässt sich unterteilen in klassische Ensemblespektroskopie und Einzelmolekülspektroskopie. Bei einer Ensemblemessung wird, wie der Name schon sagt, die gemittelte Fluoreszenz vieler Moleküle ermittelt. Molekulare Prozesse, vor allem in biologischen Systemen, beruhen jedoch überwiegend auf den Eigenschaften eines einzelnen Moleküls. So kann z. B. schon eine geringe Strukturänderung bei einer Proteinfaltung einen großen Einfluss auf ein System haben. Empfindliche spektroskopische Methoden wie z. B. Massenspektroskopie oder Rasterkraftmikroskopie, in denen einzelne Moleküle untersucht werden können, fasst man unter dem Begriff Einzelmolekülspektroskopie zusammen.
Die Fluoreszenzeinzelmolekülspektroskopie ist aufgrund der Empfindlichkeit von Fluoreszenzmessungen eine verlässliche, weitverbreitete Analysemethode. In der Regel wird ein Konfokalmikroskop verwendet. Dies ermöglicht es das Detektionsvolumen, auf wenige Femtoliter zu reduzieren.
Typische Konzentrationen der Messlösungen liegen im nanomolaren Bereich. Diese sehr geringen Konzentrationen und der konfokale Aufbau bewirken, dass sich im Detektionsvolumen ein, oder nur wenige, Moleküle aufhalten. Als Lichtquelle kann man Argon-, Argon-Krypton- und Helium-Neon-Laser verwenden. Die Anregung kann im gepulsten oder *continous wave* Modus erfolgen.
Je nach Komplexität des spektroskopischen Aufbaus ist es sogar möglich, mit zwei verschiedenen Lasern simultan zu arbeiten. Die emittierte Fluoreszenz wird durch ein Objektiv, einen dichroitischen Spiegel und einem Emissionsfilter geleitet. Der Filter entfernt mögliches Streulicht. Anschließend passiert das Emissionslicht eine Linse, die es bündelt. In der Höhe der Bildebene befindet sich eine Lochblende. Sie entfernt Fluoreszenzstrahlung, die nicht aus der Fokusebene stammt.

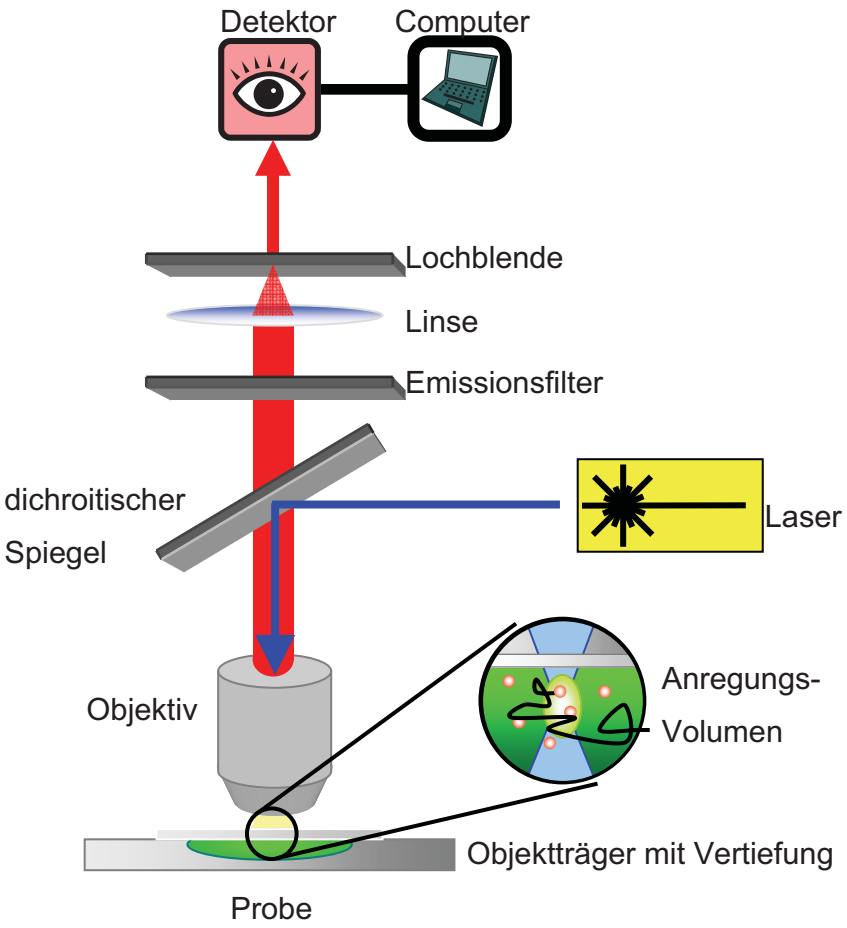


Abbildung 3.5: Allgemeines Schema eines konfokalen Fluoreszenzmikroskops.

Zur Detektion können CCD-Kameras oder Avalanche-Photodioden verwendet werden. Die emittierte Strahlung kann aber auch durch einen Strahlenteiler aufgespalten werden und durch Polarisations- oder Interferenzfilter geleitet werden. Dies ermöglicht es, Informationen über die Polarisationsebene und die Emissionswellenlänge zu erhalten. Bei solchen Aufbauten spricht man von Multiparameter-Fluoreszenzspektroskopie.

3.2.3 Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie

Die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (*Fluorescence Correlation Spectroscopy*, FCS) ist eine einzelmolekülspektroskopische Methode. Sie zeichnet sich durch die Auswertungsweise aus. Detektiert wird die Fluktuation der Fluoreszenzintensität. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer Autokorrelationsfunktion, woher sich der Name ableitet.

Die verwendeten Detektoren zeichnen die Anzahl der emittierten Fluoreszenzphotonen pro Zeiteinheit, die Fluoreszenzintensität $N_F(t)$, auf (siehe Abbildung 3.6).

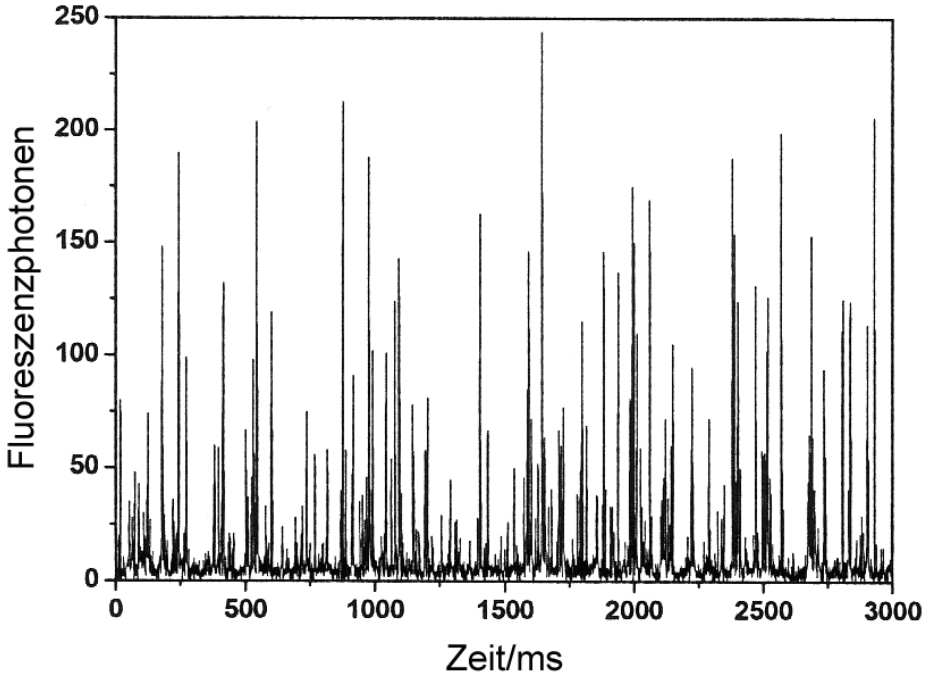


Abbildung 3.6: Beispiel einer FCS-Messkurve.

Diese Messdaten können mit Hilfe eines angeschlossenen Hardwarekorrelators direkt in die Autokorrelationsfunktion überführt werden. Eine spätere Korrelation der gespeicherten Werte ist auch möglich (Softwarekorrelation).

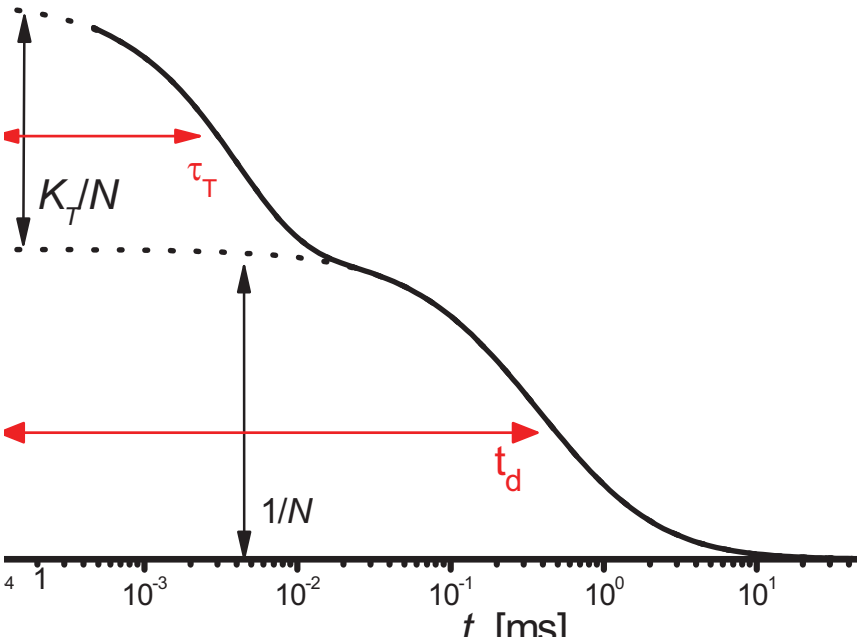


Abbildung 3.7: Beispiel einer Korrelationsfunktion einer FCS-Messung.

Die Berechnung der Autokorrelationsfunktion ist ein rein statistisches Verfahren auf das hier nicht näher eingegangen werden soll (siehe Abbildung 3.7). Jede Stufe der Korrelationsfunktion gibt einen Prozess wieder. Die erste Stufe gibt die Triplettamplitude bzw. Triplettlebensdauer wieder. Die Zweite Stufe stellt die Diffusion des Teilchens aus dem Fokus und die Photozerstörung dar.
Die berechnete Korrelationsfunktion $G(t_c)$ gibt auch ein Wahrscheinlichkeitsmaß für die Fluoreszenz zu der Zeit t_c an. Aus diesen Kurven lassen sich folgende Kenngrößen herleiten.

- Fluoreszenzzählrate pro Molekülanzahl, F_{cpm} (siehe Abbildung 3.8).

- Detektion, Charakterisierung und Populationsanalyse von Übergangszuständen, die schlecht oder gar nicht fluoreszieren (z.B. Diffusionszeit (t_D), Menge des gebildeten Triplettzustand (K_T/N) mit Triplettlebensdauer (τ_T)).

- Messung der effektiven Anregungszeit als Funktion der Anregungsleistung und damit der Geschwindigkeitskonstante der Photozerstörung.

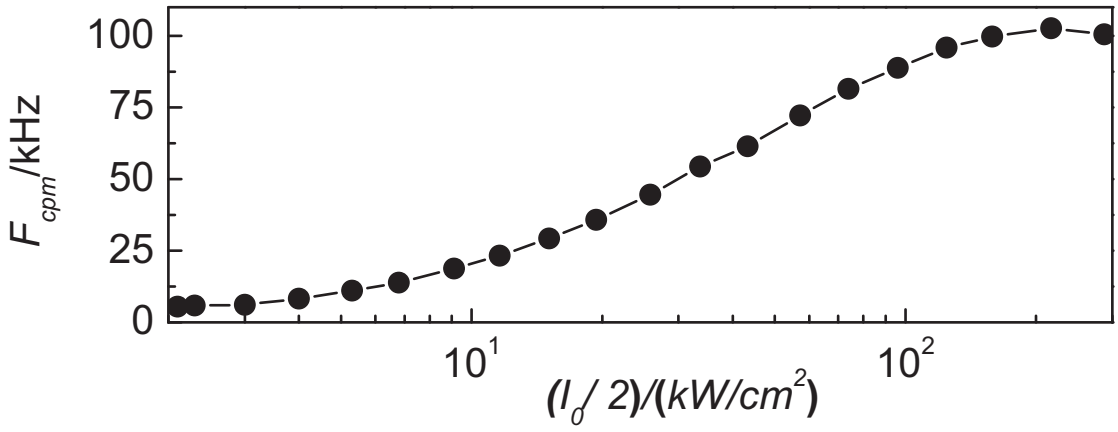


Abbildung 3.8: Beispiel einer Messkurve der Fluoreszenzzählrate pro Molekül gegen die Anregungsleistung.

3.3 Verhalten von Fluorophoren bei hohen Bestrahlungsdichten

Moderne Methoden der Fluoreszenzspektroskopie wie die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie oder Einzelmolekülspektroskopie benötigen hohe Leistungsdichten für die Anregung. Unter diesen Bedingungen wird bei Fluoreszenzfarbstoffen eine hohe Population von Dunkelzuständen beobachtet. Dabei kann es sich um langlebige dunkle angeregte Zustände wie z. B. ein Triplettzustand oder reduzierte oder oxidierte Zustände handeln. Diese Zustände führen im Laufe der Messungen zu einer Signalsättigung und letztendlich zur Photozerstörung der Farbstoffe.

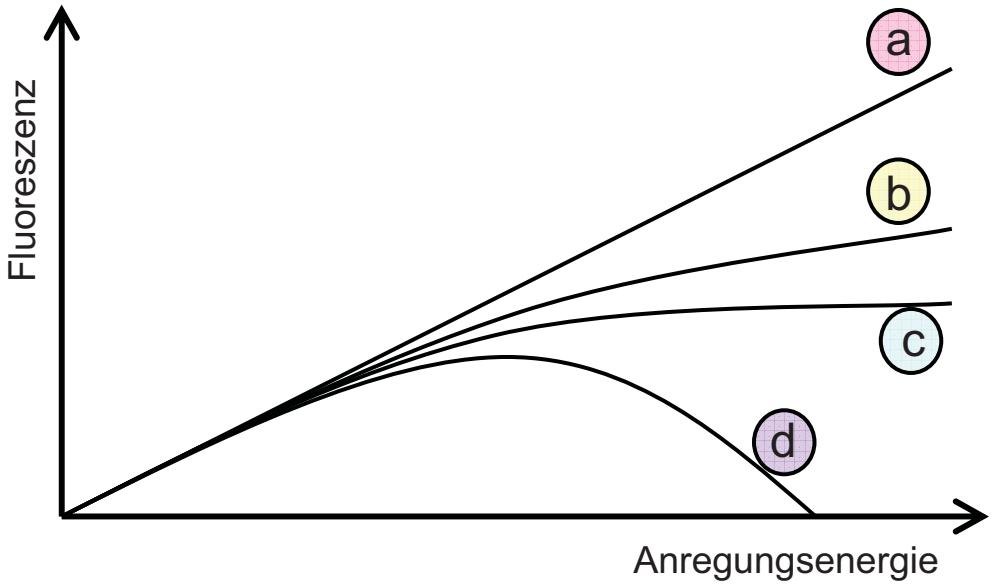


Abbildung 3.9: Vorhergesagtes Fluoreszenzverhalten von Fluorophoren bei steigender Anregungsleistungen je nach verwendetem Zustandmodell; a) One-State Model, b) Two-State Model, c) Three-State Model und d) Multistate Model.

Die Abbildung 3.9 zeigt das Fluoreszenzverhalten von Fluorophoren bei zunehmenden Anregungsenergien. Die verschiedenen Kurven sind unterschiedlichen Anregungszustandsmodellen zuzuordnen. Diese Modelle werden in den folgenden Kapiteln erläutert.

3.3.1 Fluorophor: One-State Model

Beim *One-State Model* beschreibt ein Zustandsdiagramm für ein Molekül mit ausschließlich einem Zustand.

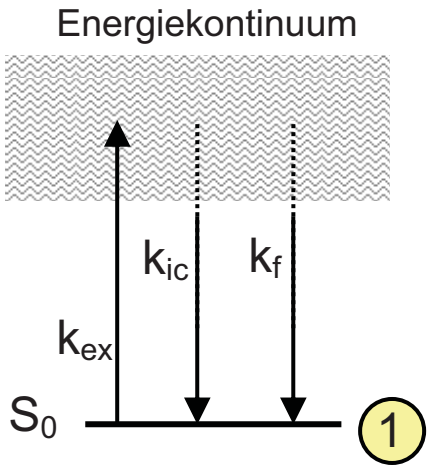


Abbildung 3.10: *One-State Model:* Anregungsschema für ein Molekül mit einem Zustand.

Die Energie des absorbierten Licht I_{abs} wird unmittelbar nach der Anregung wieder freigesetzt. Dies kann entweder durch strahlungslose Desaktivierung (Index *ic*) oder Fluoreszenz (Index *f*) geschehen. Das Verhältnis dieser konkurrierenden Prozesse ergibt sich aus den Geschwindigkeitskonstanten k_{ic} der inneren Umwandlung und k_f der Fluoreszenz und wird über die Quantenausbeute Φ beschrieben.

$$I_{abs} = I_{ic} + I_f$$

$$\rightarrow \qquad I_f = \frac{k_f}{(k_{ic} + k_{f)}} \cdot I_{abs} \qquad \text{bzw.} \quad I_{ic} = \frac{k_{ic}}{(k_{ic} + k_{f)}} \cdot I_{abs}$$

$$\rightarrow \qquad \Phi_f = \frac{I_f}{I_{abs}} = \frac{k_f}{(k_{ic} + k_{f)}} \qquad \text{bzw.} \quad \Phi ic = \frac{I_{ic}}{I_{abs}} = \frac{k_{ic}}{(k_{ic} + k_{f)}} \qquad (\mathbf{3.1})$$

Beim *One-State Model* ist die Intensität des absorbierten Lichts I_{abs} proportional der Intensität des eingestrahlten Lichts I_0. Da die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_f eine

Konstante ist, bedeutet dies für die Fluoreszenz einen linearen Zusammenhang zu der Energie des eingestrahlten Lichts.

$$I_f = \Phi_f \cdot I_0 \qquad (\mathbf{3.2})$$

Beispielhaft ist das Fluoreszenzverhalten eines Fluorophors nach Betrachtung mittels des *One-State Models* als Kurve **a** in Abbildung 3.9 gezeigt.

3.3.2 Fluorophor: Two-State Model

Geht man vom *Two-State Model*, einem Modell mit zwei möglichen Zuständen, aus, so erhält man keinen linearen Zusammenhang wie beim *One-State Model*.

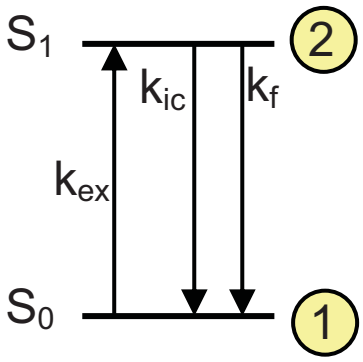


Abbildung 3.11: *Two-State Model:* Anregungsschema für ein Molekül mit zwei Zuständen.

Man betrachtet ein Grundniveau und ein angeregtes Niveau. Entsprechend der typischen energetischen Reihenfolge der Zustände von Molekülen sind dies der S_0- und S_1-Zustand. Aufgrund der Lebensdauer des angeregten Zustands τ_{S1} ist bei hohen Anregungsleistungen eine Sättigung des Fluoreszenzsignals zu beobachten. Bei hohen Anregungsdichten würden mehr Moleküle durch das eingestrahlte Licht angeregt, als in dieser Zeit fluoreszieren können. Bereits angeregte Moleküle können

während dieser Lebensdauer τ_{S1} weder desaktiviert noch neu angeregt werden. Dieses Verhalten ist in Abbildung 3.9 durch die Kurve **b** gezeigt.

3.3.3 Fluorophor: Three-State Model

Erweitert man das *Two-State Model* um einen Zustand erhält man das *Three-State Model*.

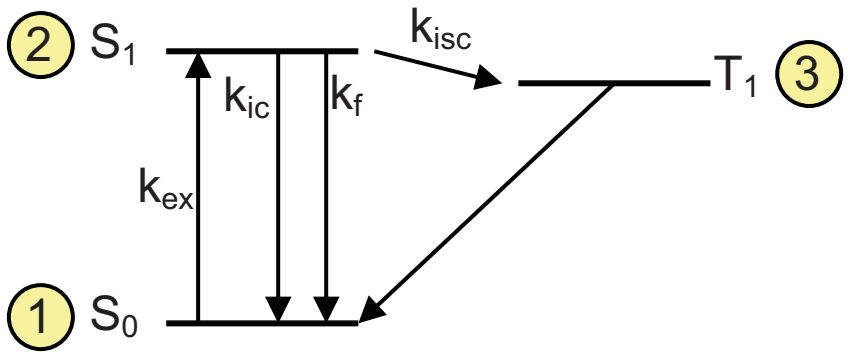


Abbildung 3.12: *Three-State Model:* Anregungsschema für ein Molekül mit drei Zuständen.

Es handelt sich entsprechend der bekannten, typischen energetischen Reihenfolge der Zustände von Molekülen um den ersten angeregten Triplettzustand: den T_1-Zustand. Aufgrund des *Intersystem Crossings* (Index isc) und der hohen Lebensdauer des Triplettzustands τ_{T1} ist der Sättigungslevel des Fluoreszenzsignals bei hohen Anregungsleistungen schon bei geringen Fluoreszenzintensitäten erreicht. (siehe Abbildung 3.9, Kurve **c**)

3.3.4 Fluorophor: Multistate Model

Ergänzt man die vorgestellten Zustandsmodelle um weitere angeregte Zustände, so sinkt der Sättigungslevel der Fluoreszenz erwartungsgemäß durch zusätzliche Übergänge und Zustandslebensdauern weiter herab.

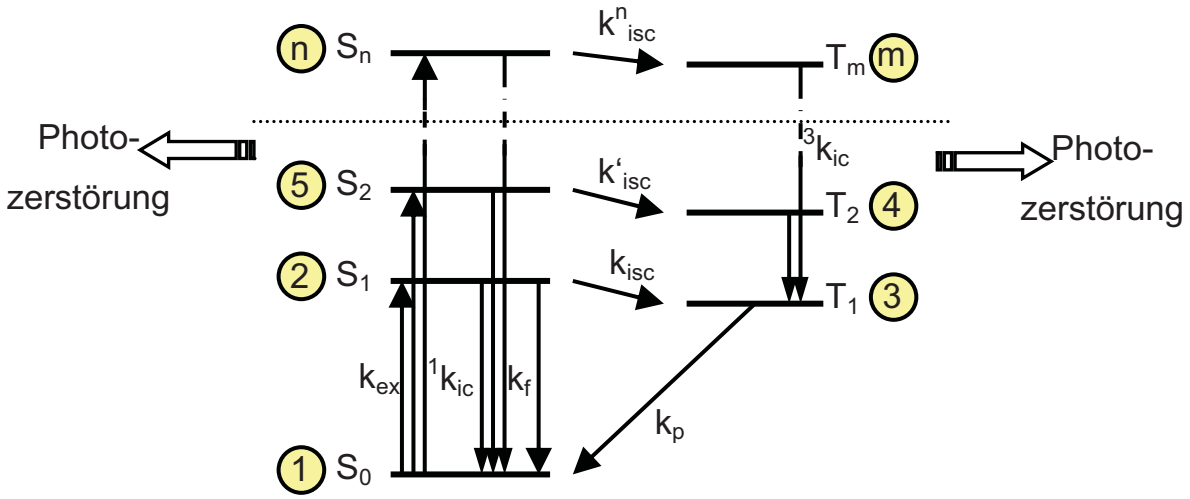


Abbildung 3.13: *Multistate Model:* Anregungsschema für ein Molekül mit zahlreichen Zuständen.

Liegen Zustände vor, von denen aus eine Photozerstörung möglich ist, so lässt sich eine Abnahme des Fluoreszenzsignals mit steigenden Anregungsleistungen beobachten. Diese abfallende Kurve ist als Kurve **d** beispielhaft in Abbildung 3.9 dargestellt.

3.4 Probleme bei Bestrahlungen mit hohen Leistungsdichten und ihre Ursachen

Die Zahl der möglichen Anregungszyklen des Fluorophors in einem Versuch diktiert die Güte der Messergebnisse. Je länger das Molekül im Fokusvolumen beobachtet werden kann, desto aussagekräftiger sind die experimentellen Ergebnisse. Zum Beispiel gibt es Studien in denen physiologische Prozesse, wie Proteinfaltung, untersucht werden. Ein Fluorophor für diese Versuche muss eine ausreichend hohe Lebensdauer unter den experimentellen Bedingungen aufweisen, um den beobachteten Prozess zu überleben.

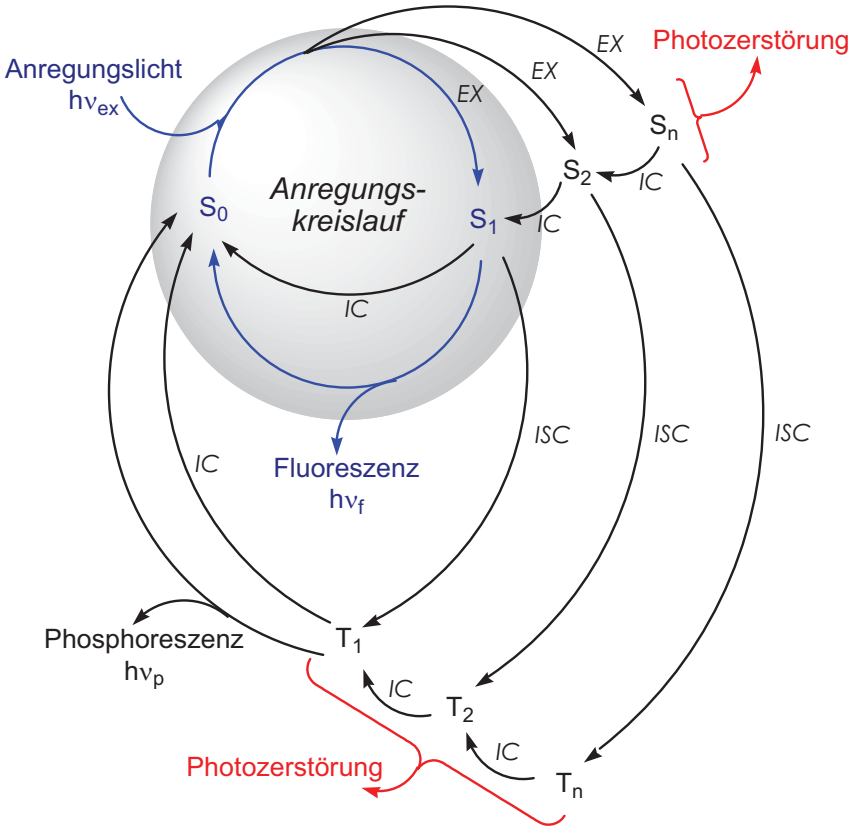


Abbildung 3.14: Schematische Darstellung der photophysikalischen Prozesse eines Fluorophors. Die Prozesse des erwünschten Anregungszyklus sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet.
EX: Anregung; *IC*: Internal Conversion; *F*: Fluoreszenz; *ISC*: Intersystem Crossing; *P*: Phosphoreszenz.

Der Fluoreszenz-Anregungsenergie Graph in Abbildung 3.9 zeigt, dass bei Experimenten mit hohen Anregungsenergien, wie z. B. einzelmolekülfluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen, eine Signalsättigung und letztlich eine Zerstörung des Fluoreszenzfarbstoffs zu erwarten ist. Diese Phänomene sind auf Prozesse außerhalb des erwünschten Anregungskreislaufs von $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ zurückzuführen.
In Abbildung 3.14 sind die photophysikalischen Prozesse eines Fluorophors schematisch dargestellt. Die Prozesse des für einzelmolekülspektroskopische Untersuchungen erwünschten Anregungskreislaufs sind blau gekennzeichnet. Wie man sieht, existieren eine Vielzahl von Anregungs- und Desaktivierungspfade, die alternative Kreisläufe ermöglichen. Weiterhin bestehen Wege aus den Kreisprozessen durch Photozerstörung.
In Kapitel 3.3 wurden Modelle vorgestellt, die das Verhalten von Fluorophoren bei hohen Bestrahlungsdichten beschreiben. Die Modelle bauen aufeinander auf und berücksichtigen sukzessiv mehr mögliche photophysikalische Prozesse. Das komplexere *Multistate Model* gibt daher von den vorgestellten Modellen, das reale Verhalten von Fluoreszenzfarbstoffen am besten wieder. Anhand der Veränderung der Fluoreszenz-Anregungsenergie Kurven von einem Modell zum nächsten (**a**→ **b** → **c** → **d**) kann man den Einfluss der beachteten Prozesse einschätzen.

One-State Model: Die Anzahl der emittierten Photonen entspricht nicht der Anzahl der absorbierten Photonen, da ein Teil der Energie durch IC und strahlungslose Desaktivierung in Wärme umgewandelt wird.

Two-State Model: Die Signalintensität wird weiterhin durch die Lebensdauer des angeregten S_1-Zustands τ_{S1} abgesenkt. Während ein Chromophor in einem angeregten Zustand weilt, kann er nicht wieder angeregt werden. Er macht „eine Pause“. Bei Anregungsraten größer als k_f+k_{ic} „reichern“ sich Moleküle im angeregten Zustand „an“. Es kommt zu einer Signalsättigung, die im Graphen 3.9 im Abflachen der Kurven **b**, **c** und **d** zu sehen ist.

Three-State Model: Durch die Berücksichtigung eines dritten Zustandes, dem Triplettzustand, wird das Zustandsdiagramm um drei weitere Prozesse, dem ISC in den T_1, dem ISC vom T_1 in den S_0 und der Phosphoreszenz, erweitert. Zudem sind Triplettzustände langlebiger ($\tau_{T1} > \tau_{S1}$) als angeregte Singulettzustände, so dass ein

Molekül, welches in einen Triplettzustand gelangt längere Zeit nicht als Teil des Fluoreszenzzyklus agieren kann. Die Fluoreszenz-Anregungsenergiekurve flacht weiter ab (Kurve **c** in Abbildung 3.9).

Multistate Model: Bezieht man weitere Zustände in die Betrachtungen ein, so verstärkt sich das Problem der Signalsättigung. Die Fluoreszenz-Anregungsenergiekurve flacht weiter ab (Kurve **d** in Abbildung 3.9). Angeregte Zustände sind reaktiver als Grundzustände. Bei hoch angeregten Zuständen kann es durch die Absorption weiterer Photonen zur Photoionisierung kommen. Diese Radikale sind sehr reaktiv. Ein Elektron in einem angeregten Zustand, kann leichter von einem oxidierenden Reagenz abgefangen werden als ein nicht angeregtes. Aber auch eine vermeintliche Elektronenlücke durch das Fehlen eines angeregten Elektrons kann von Reduktionsmitteln genutzt werden, ein weiteres Elektron auf den Fluorophor zu übertragen. Man spricht von Photoionisation, Photooxidation bzw. Photoreduktion. Ein oxidierter bzw. reduzierter Farbstoff weist nicht mehr das erwünschte Fluoreszenzverhalten auf, z. B. keine Fluoreszenz und andere Absorptions- und Emissionsspektren. Diese Farbstoffe sind darüber hinaus hoch reaktiv. Sie können wieder in den ursprünglichen Zustand zurück reduziert bzw. oxidiert werden, oder sie reagieren weiter. Eine Weiterreaktion führt zur Photozerstörung und somit zum Verlust des Fluorophors. Der Verlust von fluoreszenzfähigen Molekülen führt zu einer Abnahme der Fluoreszenzintensität. Da diese destruktiven Effekte nicht kontinuierlich sondern vermehrt erst ab einem Schwellenwert der Anregungsenergie zu beobachten sind, sieht man in Abbildung 3.9 ein Abknicken in der entsprechenden Kurve **d** im Bereich hoher Bestrahlungsdichten.

Zusammenfassung: In der Einzelmolekülspektroskopie ist es notwendig, hohe Laserleistungen zur Anregung der Fluorophore zu benutzen, um eine hohe Signalintensität der Fluoreszenz zu erhalten. Gleichzeitig ist eine hohe Photostabilität der Fluorophore erforderlich, um Informationen über einen größeren Zeitraum zu erhalten. Eine hohe Laserleistung führt aber wie erläutert zur Photozerstörung und im ungünstigsten Fall sogar zur Abnahme der Fluoreszenzintensität. Dies wirft die Frage auf, wie es möglich ist, die Photostabilität und die Signalintensität bei hohen Laserleistungen zu steigern.

3.5 Mögliche Lösungsansätze

Die Ursachen des Intensitätsverlusts der Fluoreszenz und der verkürzten Lebensdauer der Fluorophore bei Bestrahlungen mit hohen Leistungsdichten sind also die Anzahl der möglichen angeregten Zustände, ihre Übergangswahrscheinlichkeiten und die Lebensdauern dieser angeregten Zustände. Moleküle in einem anderen angeregten Zustand als dem S_1 fluoreszieren nicht (*Kasha Regel*) und sind in diesem Zeitraum nicht Teil des gewünschten Anregungskreislaufs.

Um die Frequenz der Anregungszyklen und die Lebensdauer eines Fluoreszenzfarbstoffs zu erhöhen sind mehrere Ansätze möglich.

1. Optimierung des Farbstoffchromophors: Chromophore von Farbstoffen, die für ihre sehr guten Fluoreszenzeigenschaften bekannt sind, können für die jeweiligen Anwendungen optimiert werden. Der Fluoreszenzfarbstoff kann strukturell verändert werden, um seine Stabilität gegenüber photozerstörerischen Prozessen zu erhöhen. Durch die Einführung oder Austausch von Substituenten können z. B. die elektrochemischen Eigenschaften verändert werden. Eine erhöhte Rigidität des Grundgerüsts kann vibronisches Abkühlen reduzieren.
Die Anzahl der chemischen Modifikationen scheint nahezu unendlich. Jedoch gibt es von den besten und gebräuchlichsten Fluoreszenzfarbstoffen bereits eine Vielzahl von sehr guten Derivaten. Weitere neue Abkömmlinge zu finden, die besser sind als die Vorgänger, erscheint schwierig. Betrachtet man die Klasse der auf diesem Feld etablierten Xanthenfarbstoffe, so bedeutet dies kostenintensivere und aufwendigere Synthesen in kleinen Maßstäben.

2. Unterbindung der Photozerstörung nach Photooxidation bzw. -reduktion: Zur Erhöhung der Fluorophorstabilität ist es möglich die Redoxreaktionen reversibel zu gestalten. In der Vergangenheit wurden Versuche unternommen durch den Zusatz von Reduktions- oder/und Oxidationsmitteln die bereits oxidiert bzw. reduzierten radikalischen Fluorophore in ihre ursprüngliche Form zurück zu reduzieren bzw. zu oxidieren.[37]

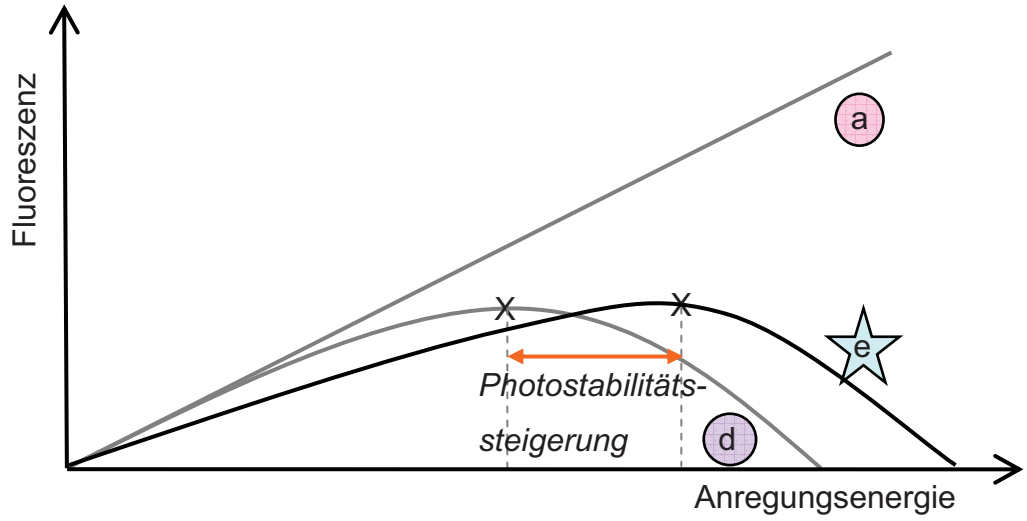


Abbildung 3.15: Vorhergesagtes Fluoreszenzverhalten von Fluorophoren bei steigender Anregungsleistungen.
a) One-State Model, d) Multistate Model und e) Multistate Model mit Zusatz von Reduktions- und/oder Oxidationsmitteln.

Solche Reagenzien können z. B. 2-Mercaptoethylamin oder Ascorbinsäure sein. Sie werden dem untersuchten System zugemischt. Die Kurve **e** in Abbildung 3.15 gibt den beobachtet Einfluss solcher Substanzen auf das Fluoreszenzverhalten von Fluorophoren wieder.[38]

Obwohl durch diese Herangehensweise Erfolge erzielt werden konnten, ist diese Strategie problematisch. Die Auswahl der Reagenzien so wie deren Zusammensetzung und Konzentration, müssen an die jeweiligen Versuche angepasst werden. Wechselwirkungen der Reagenzien mit den untersuchten Systemen und Einflüsse auf die untersuchten Phänomene sind nur sehr schwer bis nicht kalkulierbar.

Entwickelte, erfolgreich verwendete Fluorophor-Redoxreagenzien-Systeme sind sicherlich nicht generell für das breite Spektrum der einzelmolekülspektroskopischen Methoden anwendbar. Phänomenologisch können jedoch Studien dieser Art zur Klärung des Verhaltens von Fluorophoren unter den experimentellen Bedingungen beitragen.

3. Verkürzung der Lebensdauer von angeregten Zuständen: Eine Verkürzung der Lebensdauern der angeregten Zuständen des Fluorophors würde die Reaktivität

des angeregten Farbstoffes gegenüber Photozerstörungsreaktionen herabsetzen und die beobachtete Signalsättigung reduzieren und zu höheren Anregungsenergien herausschieben.

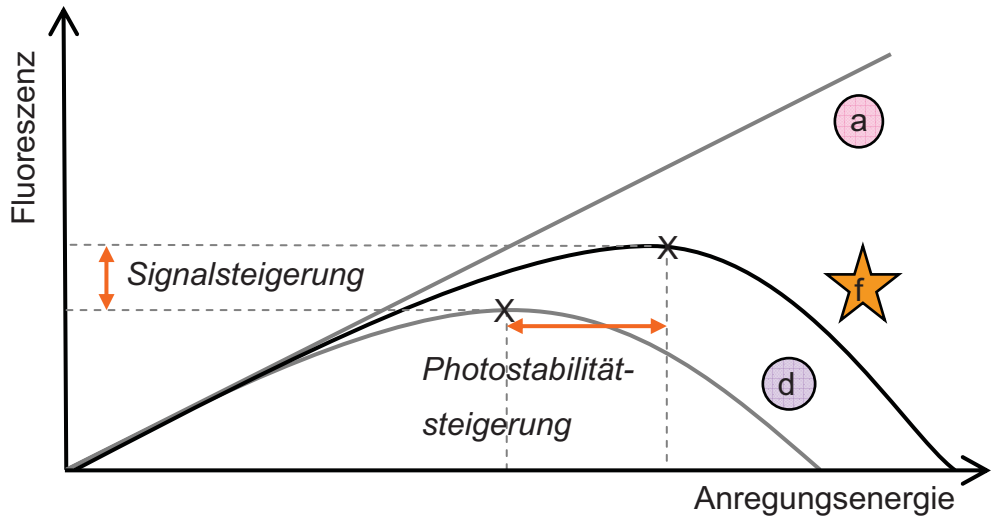


Abbildung 3.16: Vorhergesagtes Fluoreszenzverhalten von Fluorophoren bei steigender Anregungsleistungen.
a) One-State Model, d) Multistate Model und f) Multistate Model mit Zusatz von Quenchern.

Zu diesem Zweck ist es denkbar Löscher, sogenannte Quencher, einzuführen. Die Aufgabe dieser Löscher ist es, die Energie des angeregten Fluorophors durch einen Energietransfer aufzunehmen, so dass dieser wieder in den Grundzustand zurückkehrt und an dem erwünschten Anregungskreislauf wieder teilnehmen kann. Diese Löschprozesse erfolgen typischerweise aus dem S_1-Zustand ($t \approx 10^{-9}$ s) bzw. T_1-Zustand ($t \approx 10^{-6}$ s), dar höher angeregte Zustände, wie S_0 und T_0 zu geringe Lebensdauern ($t \approx 10^{-12}$ s) haben, um eine effektive Wechselwirkung zwischen Fluorophor und Löscher zu erlauben. Ein Löschen des S_1-Zustandes ist unerwünscht, da dies die Fluoreszenz reduziert. Ein Löschen des T_1-Zustandes hätte einen großen positiven Effekt auf die Fluoreszenz, da er langlebig ist und so die Fluoreszenz stark limitiert und stark an der Photozerstörung beteiligt ist. Gesucht wird also ein selektiver Quencher für den T_1-Zustand.

Fazit: In dieser Arbeit wird sich aufgrund der oben diskutierten Vor- und Nachteile der einzelnen Methodiken für den Einsatz von Quenchern für die Fluorophore entschieden.

3.6 Wechselwirkungen von Fluorophoren und Quenchern

In Kapitel 3.5 wurde die Verwendung von Quenchern zur Steigerung der Signalstärke und der Photostabilität von Fluorophoren vorgestellt. Im folgenden Kapitel werden mögliche Fluorophor-Quencher-Wechselwirkungen diskutiert.
Die Art der Wechselwirkung richtet sich nach einer Reihe von Parametern. Primär bestimmen hierbei die Energien der einzelnen Fluorophorzuständen in Relation zu denen des Löschers den Grad der Wechselwirkung. Je mehr sich die Energien zweier Zustände ähneln, desto intensiver ist die Wechselwirkung. Redoxpotentiale, räumliche Anordnung und Konzentrationen der agierenden Moleküle nehmen ebenfalls Einfluss.

3.6.1 Energietransfer

Bei einem Energietransfer zwischen zwei Molekülen wird die Energie eines angeregten Moleküls, dem Donor (**D**), auf ein Molekül im Grundzustand übertragen, dem sogenannten Akzeptor (**A**). Der Akzeptor befindet sich nach dem Energietransfer in einem angeregten Zustand; der Donor ist in den Grundzustand zurückgekehrt.

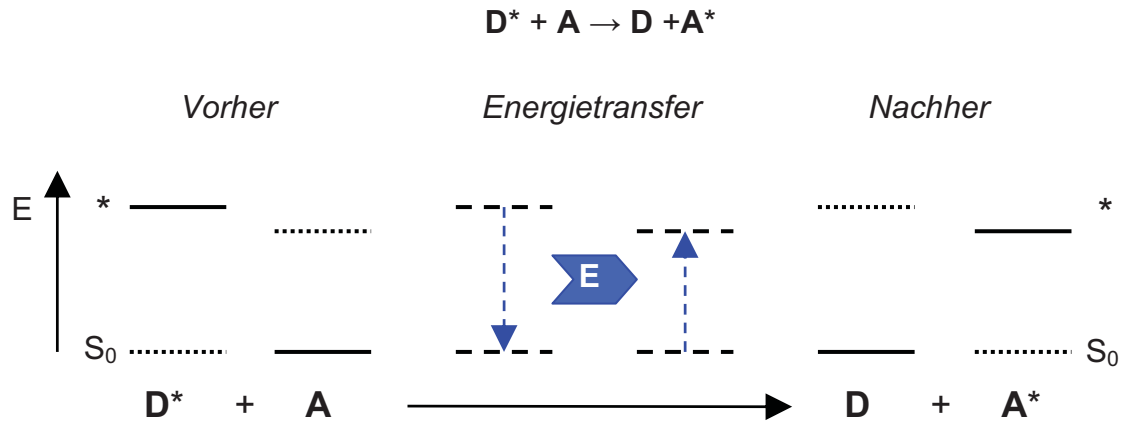


Abbildung 3.17: Schematische Darstellung eines Energietransfer zwischen Donor D und Akzeptor A. * : angeregte Zustände; —— : eingenommene Zustände; ---- : nicht eingenommene Zustände.

Im Ausgangszustand kann es sich bei dem angeregten Zustand des Donors sowohl um einen Singulett- als auch Triplettzustand handeln. Der Akzeptor kann nach dem Energietransfer ebenfalls in einen Singulett- oder Triplettzustand angeregt sein. Man spricht von Singulett-Singulett, Triplett-Singulett, Triplett-Singulett oder Triplett-Triplett-Energietransfer, wobei sich die erste Multiplizitätsangabe auf die Multiplizität des Donors vor dem Energietransfer bezieht, die zweite auf die Multiplizität des Akzeptors nach dem Transfer.[28] Ob und von welcher Art ein Energietransfer zwischen einem Donor-Akzeptor-Paar stattfindet, richtet sich nach den Energien der Zustände, dem Abstand der beteiligten Reaktanden und den Spinauswahlregeln. Beim Energietransfer muss der Gesamtspin des Systems erhalten bleiben. Singulett-Triplett- und Triplett-Singulett-Energietransfers sind daher nach den Spinauswahlregeln verboten und stellen daher Ausnahmefälle dar. Wie oben schon erwähnt, betrachtet man bei Energietransferprozessen die jeweils ersten angeregten Zustände S_1 und T_1, da nur ihre Lebensdauer und Besetzungswahrscheinlichkeit für einen Transfer ausreichend groß sind. Ein Energietransfer kann nach verschiedenen Mechanismen stattfinden: dem Förster- Dexter- oder Chargetransfer-Mechanismus.

3.6.1.1 Förster Resonanz Energietransfer

Der **F**örster **R**esonanz **E**nergie**t**ransfer auch **F**luoreszenz **R**esonanz Energie**t**ransfer (**FRET**) wurde 1946 von Theodor Förster beobachtet und 1948 erstmalig publiziert.[39] **FRET** basiert auf der Coulombwechselwirkung zwischen den Übergangsdipolmomenten von Donor und Akzeptor. Damit ein erfolgreicher Energietransfer nach dem Förster-Mechanismus zustande kommt, muss eine Reihe von Bedingungen erfüllt sein.

- Beim **FRET** geschieht die Wechselwirkung zwischen **D*** und **A** über das elektromagnetische Feld und setzt keinen Kontakt der Transferpartner voraus. Typische Donor-Akzeptor Abstände liegen zwischen 1-10 nm.

- Bei der Interaktion der Übergangsdipolmomente von Donor und Akzeptor spielt ihre gegenseitige Orientierung eine maßgebliche Rolle. Man kann sich die Wechselwirkung als induzierte Dipoloszillation vorstellen.[28] Im Idealfall sind dafür die beteiligten Dipolmomente parallel zueinander angeordnet.

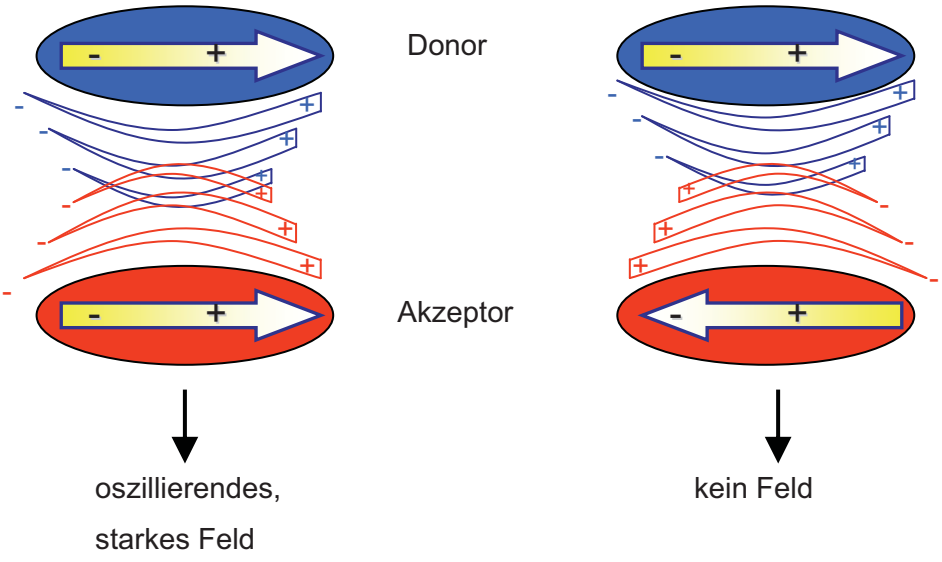


Abbildung 3.18: Schematische Darstellung der Wechselwirkungen der Übergangsdipolmomenten von Donor und Akzeptor bei paralleler und antiparalleler Anordnung.

- Real handelt es sich beim Förster-Energietransfer um einen strahlungslosen Prozess. Dieser Mechanismus kann in einem einfachen Modell als zweistufiger Emissions-AbsorptionsProzess betrachtet werden.

$$\mathbf{D^*} \rightarrow \mathbf{D} + h\nu$$
$$\mathbf{A} + h\nu \rightarrow \mathbf{A^*}$$

Das vom Donor emittierte Photon wird vom Akzeptor absorbiert. Die Übergange $\mathbf{D^*} \rightarrow \mathbf{D}$ bzw. $\mathbf{A} \rightarrow \mathbf{A^*}$ müssen daher jeweils spinerlaubt sein. Nach dem Förster-Mechanismus ist somit ein Singulett-Singulett- spinerlaubt.

$$^1\mathbf{D^*} + \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D} + ^1\mathbf{A^*}$$

Da real kein Photon emittiert bzw. absorbiert wird und nach den Spinauswahlregeln des Energietransfers der Gesamtspin des Systems erhalten werden muss, ist auch ein Triplett-Triplett-Energieaustausch erlaubt.

$$^3\mathbf{D^*} + \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D} + ^3\mathbf{A^*}$$

- In erster Nährung findet ein Energietransfer statt, wenn der angeregte Zustand des Donors isoenergetisch oder etwas energiereicher als der angeregte Zustand des Akzeptors ist. Ist die Differenz für einen endothermen Energietransfer größer als wenige kcal/mol so wird der Energietransfer ineffizient.

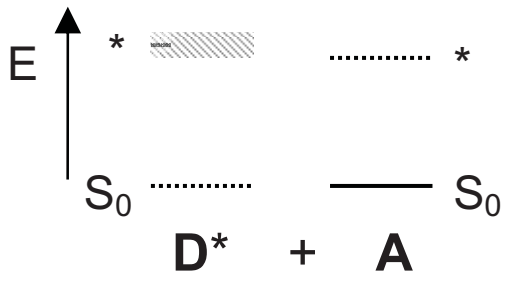


Abbildung 3.19: Schematische Darstellung der Energiezustände für einen Energietransfer.

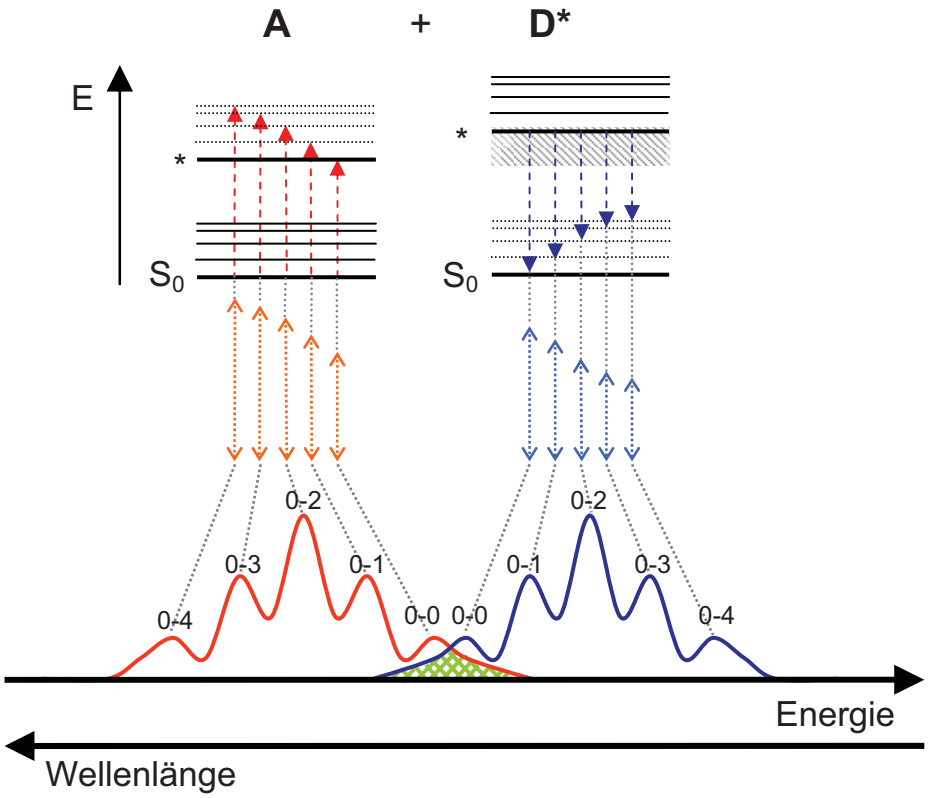


Abbildung 3.20: Energetische Vorraussetzungen der Emissionsübergänge vom Donor (blau) und Absorptionsübergänge des Akzeptors (rot). Die grün-schraffierte Fläche stellt das Überlappungsintegral J dar.

Des Weiteren hängt die Wirksamkeit eines Energietransfers, maßgeblich von der Größe des Überlappungsintegrals der Emissionskurve des Donors und der Absorptionskurve des Akzeptors **J** ab. Das Überlappungsintegral ist groß, wenn Energien der angeregten Zustände von Akzeptor und Donor nahezu isoenergetisch sind (siehe Abbildungen 3.19 und 3.20).

$$J \equiv \int_0^\infty \bar{I}_D \cdot \varepsilon_A \cdot d\nu \qquad \textbf{(3.3)}$$

$\bar{I}_D$: Intensität der Donoremission mit $\int_0^\infty \bar{I}_D \cdot d\nu = 1$

ε_A: Extinktionskoeffizient des Akzeptors

ν: Wellenzahl/cm^{-1}

Ein großes Überlappungsintegral setzt entsprechend große Werte für ε_A voraus. Da eine direkte Anregung eines S_0 zum T_1 spinverboten ist, besitzt dieser Übergang keine Oszillatorstärke. Daraus resultiert: $\varepsilon = 0$. Eine Anregung mittels **FRET** in den Triplettzustand des Donors wäre daher nicht möglich. Nur Anregungen in den Singulettzustand weisen eine ausreichende Extinktion auf.
Daher handelt es sich bei **FRET** vornehmlich um einen Singulett-Singulett-Energietransfer.

$$^1\mathbf{D}^* + \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D} + ^1\mathbf{A}^*$$

Sind die notwendigen Bedingungen erfüllt ergibt sich die folgende Energietransferrate k_{ET} für den **FRET.**

$$k_{ET}(FRET) = k \cdot \frac{\kappa^2 \cdot k_D^0}{R_{DA}^6} \cdot J(\varepsilon_A) \qquad (\mathbf{3.4})$$

k: Durch den Brechungsindex des verwendeten Lösungsmittels und Konzentration experimentell bedingte Konstante.
κ^2: Wert bedingt durch die Orientierung der Dipole von Donor und Akzeptor zueinander. Für statistisch im Raum verteilte Systeme ist $\kappa^2 = 2/3$.
k_D^0 : Fluoreszenzrate des Donors
$J(\varepsilon_A)$: Überlappungsintegral
R_{DA} : Försterradius

Der Försterradius, auch Försterabstand genannt, ist der Abstand zwischen Donor und Akzeptor bei dem die Effizienz des **FRET**s zwischen den angeregten Donormolekülen und den Akzeptoren 50 % beträgt. Er wird wie folgt definiert.

$$R_{DA}^6 = \frac{9000 \cdot \kappa^2 \cdot \ln 10 \cdot \Phi_D^0}{128 \cdot \pi^5 \cdot n^4 \cdot N_A} \cdot J \qquad (\mathbf{3.5})$$

Φ_D^0 : Fluoreszenzquantenausbeute des Donors in Abwesenheit des Akzeptors.
n: Brechungsindex des Lösungsmittels.
N_A: Avogadrokonstante.

3.6.1.2 Dexter Energietransfer

Der **D**exter **E**nergie**t**ransfer **DET**, auch Dexter Anregungstransfer oder Elektronenaustausch-Anregungstransfer, wurde 1953 von David L. Dexter eingeführt.[40] **DET** beruht auf der quantenchemischen Elektronenaustauschwechselwirkung von Donor und Akzeptor. Man kann sich den **DET** als eine Art virtuellen Elektronenaustausch vorstellen.

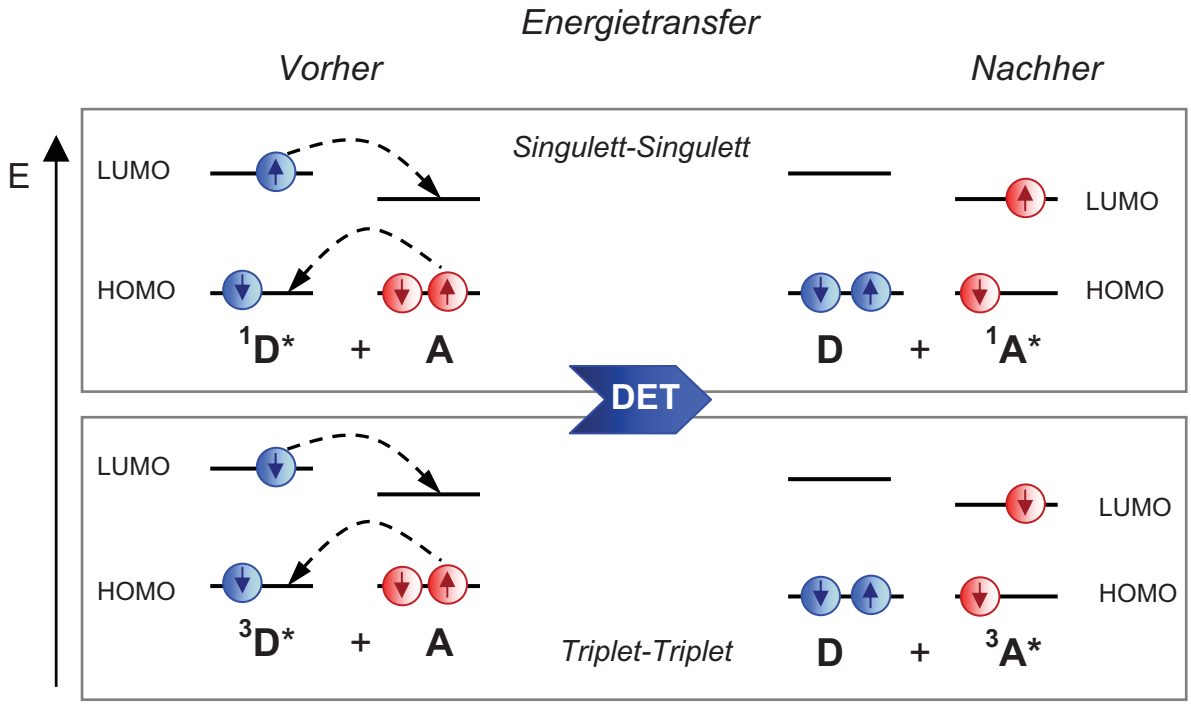


Abbildung 3.21: Schematische Darstellung eines Singulett-Singulett bzw. Triplett-Triplett Energietransfers nach dem Dexter Mechanismus.

Für einen Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus, muss eine Reihe von Bedingungen erfüllt sein.

- Die Elektronenwolken von Donor und Akzeptor müssen für eine effektive Elektronenaustauschwechselwirkung überlappen. Die Fluorophore dürfen dazu typischerweise nur wenige Ångström voneinander entfernt sein.

- Der räumliche Kontakt des Donor-Akzeptor Paars und die damit bedingte Überlappung der Wellenfunktionen ermöglicht es das Paar als ein Spinsystem zu betrachten. Daher sind Singulett-Singulett- und Triplett-Triplett-Energietransfers erlaubt.

$$^1\mathbf{D}^* + \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D} + ^1\mathbf{A}^* \qquad ^3\mathbf{D}^* + \mathbf{A} \rightarrow \mathbf{D} + ^3\mathbf{A}^*$$

- Die energetischen Verhältnisse des angeregten Zustands des Donors zum Zielzustand des Akzeptors müssen wie in Kapitel 3.5.1.1 beschrieben beim **FRET** sein, da auch hier das Überlappungsintegral von der Emission des Donors und der Absorption des Akzeptors eingeht. Hier handelt es sich aber im Gegensatz zum FRET um ein normalisiertes Überlappungsintegral, so dass zwar der Überlapp der Spektren eingeht, nicht aber die Intensität der Akzeptorabsorption.

Die Transferrate für einen Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus wird wie folgt beschrieben.

$$k_{ET}(DET) = K \cdot \overline{J} \cdot e^{-\frac{2R_{DA}}{L}} \qquad (\mathbf{3.6})$$

K: Faktor für die Orbitalwechselwirkungen.

J: normalisiertes Überlappungsintegral $\overline{J} \equiv \int_0^\infty \overline{I} \cdot \overline{\varepsilon_A} \cdot d\overline{\nu}$ mit $\int_0^\infty \overline{I} \cdot d\overline{\nu} = 1$

R_{DA}: Donor-Akzeptor Abstand

L: van der Waals Radien.

3.6.2 Quenchen durch Charge-Transfer

Der Charge-Transfer-Mechanismus ist ein Elektronenaustausch-Mechanismus. Er basiert auf dem tatsächlichen Austausch zweier Elektronen zwischen Donor und Akzeptor in einem Kollisionskomplex. Dieser Austausch kann sowohl in einem konzertierten Schritt als auch zweistufig erfolgen.

Charge-Transfer-Mechanismus

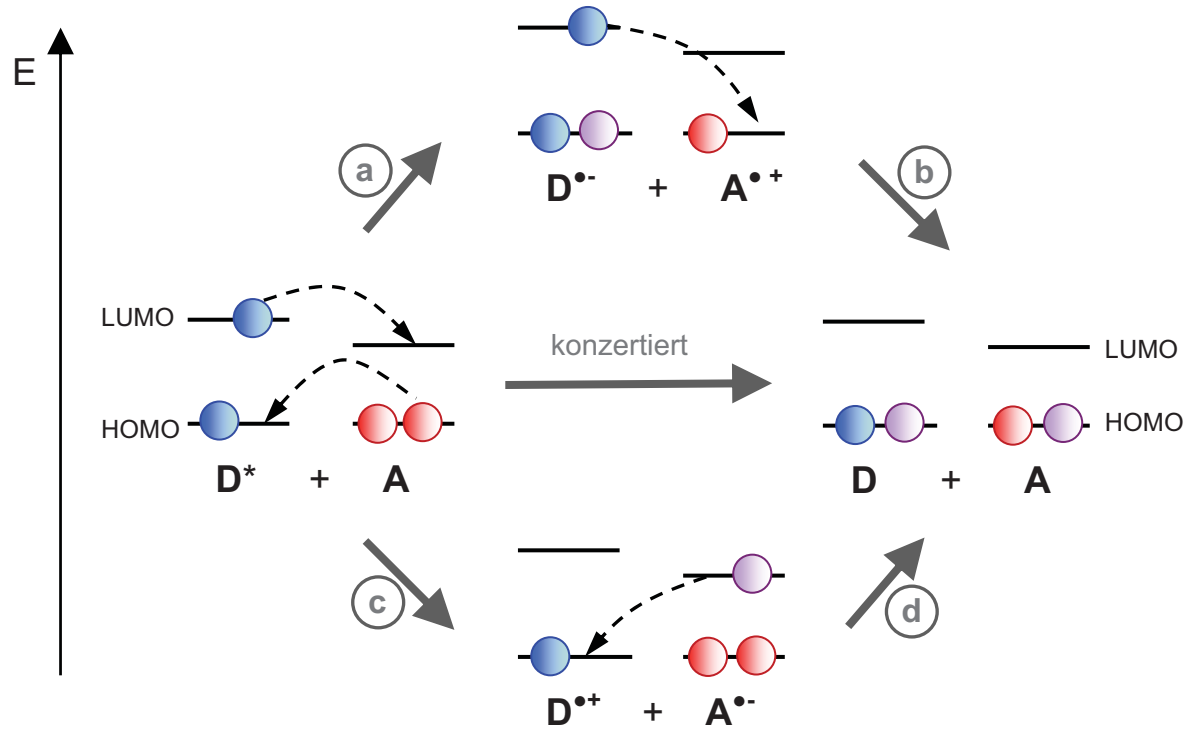


Abbildung 3.22: Schematische Darstellung der Schritte eines Energietransfers nach dem Charge-Transfer-Mechanismus.

Der erste Löschprozess in Abbildung 3.22 besteht aus den Schritten **a** und **b**. Bei dem Schritt **a** handelt es sich um die Reduktion des angeregten Donors. Die Zwischenstufe entspricht dem reduzierten Donor im Grundzustand. Schritt **b** ist die Oxidation des Radikalanions des Donors durch das Radikalkation des Akzeptors.

Nach der Elektronenübertragung befinden sich Donor und Akzeptor im Grundzustand.

Der untere Löschprozess in Abbildung 3.22 besteht aus den Schritten **c** und **d**. Hier wird der angeregte Zustand des Donors zunächst durch den Akzeptor oxidiert. Das resultierende Radikalkation des Donors wird im zweiten Schritt durch das Radikalanion des Akzeptors zurückreduziert. Wie auch im ersten Löschpfad befinden sich Donor und Akzeptor nach der Elektronenübertragung im Grundzustand.

Der mittlere Löschprozess stellt den konzertierten Charge-Transfer-Mechanismus dar.

Ein Löschprozess nach dem Charge-Transfer-Mechanismus setzt einen angeregten Zustand des Donors und Akzeptors mit Radikalcharakter voraus.

3.6.3 Reduktion und Oxidation

Die Diskussion des Löschprozesses nach dem Charge-Transfer-Mechanismus im vorherigen Kapitel hat gezeigt, dass sowohl die Oxidation als auch Reduktion des angeregten Fluorophors in einem ersten Schritt zur Löschung des angeregten Zustands führen kann, wenn diese Redoxprozesse von einer Rückreduktion bzw. Oxidation in den ursprünglichen Ausgangszustand im Grundzustand gefolgt werden. Daher werden hier die Vorraussetzungen für die Reduktion und Oxidation des angeregten Fluorophors durch zugesetzte Quencher diskutiert.

Bei der Anregung von Fluorophoren werden Elektronen des obersten besetzten Orbitals (HOMO), angehoben. Bestrahlt man einen Fluorophor mit Licht dessen Energiebetrag größer ist als das Ionisierungspotential, ist es sogar möglich Elektronen abzulösen. Dieser Prozess wird Photoionisation genannt und ist das Grundprinzip der Photoelektronenspektroskopie.

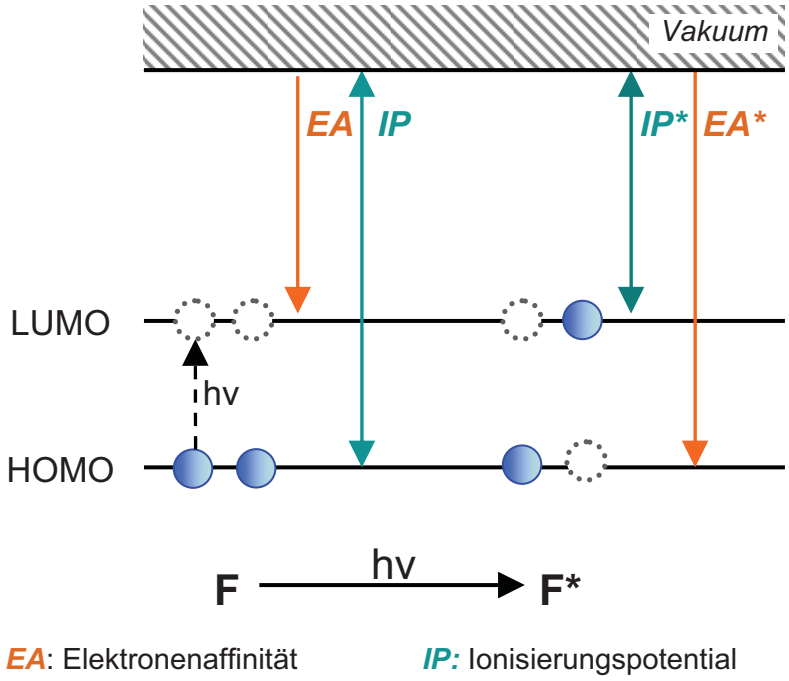


Abbildung 3.23: Schematische Darstellung des Bezugs von der Besetzung von HOMO und LUMO zur Elektronenaffinität **EA** und dem Ionisierungspotential **IP**.

Bei den gängigen spektroskopischen Methoden wird ein Elektron jedoch nur bis in ein energetisch höher liegendes, unbesetztes Orbital (LUMO) angeregt. Es entsteht eine Elektronenlücke im HOMO. Damit ist die Elektronenaffinität des angeregten Fluorophors **F*** größer als im Grundzustand **F** (**EA** < **EA***). Durch die gesteigerte Elektronenaffinität kann der angeregte Fluorophor **F*** leichter reduziert werden als **F**.
Im Gegensatz zur Elektronenaffinität nimmt das Ionisierungspotential **IP** des Fluorophors durch die Anregung ab (**IP** > **IP***). Dadurch kann der angeregte Fluorophor **F*** leichter oxidiert werden als im Grundzustand.
Für die Reduktion bzw. Oxidation des angeregten Fluorophors benötigt es ein Oxidations- bzw. Reduktionsmittel. Ob ein Quencher einen angeregten Fluorophor reduzieren oder oxidieren kann, lässt sich anhand der Redoxpotentiale $E^0_{\mathrm{Re}d}$ bzw. E^0_{Ox} feststellen.

Die Redoxpotentiale von Quenchern können, so fern sie nicht literaturbekannt sind, mittels Cyclovoltammetrie bestimmt werden. Von angeregten Verbindungen sind die Redoxpotentiale weder bekannt, noch können sie aufgrund der kurzen Lebensdauer der angeregten Zustände cyclovoltametrisch bestimmt werden. Zur Abschätzung der Redoxpotentiale der angeregten Zustände dient die Rehm-Weller-Gleichung. Sie beschreibt die Gibbs'sche Energie des photoinduzierten Elektronentransfers in einem Begegnungskomplex.

Betrachten wir zunächst die Reduktion des angeregten Fluorophors **F*** durch den Quencher **Q**.

$$F^* + Q \rightarrow F^{\bullet -} + Q^{\bullet +}$$

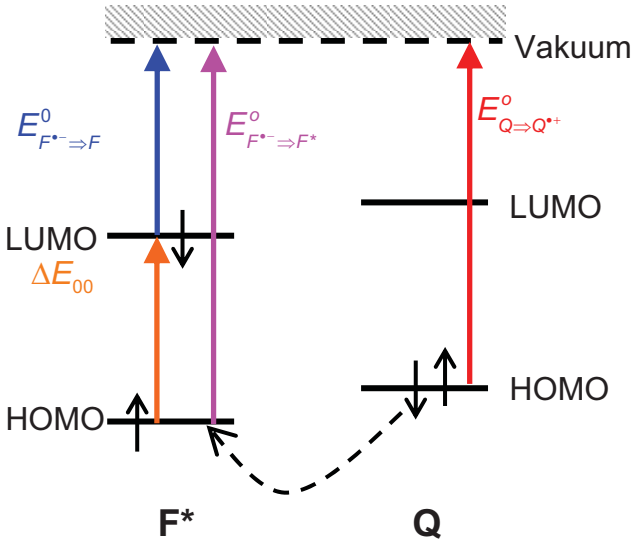


Abbildung 3.24: Schematische Darstellung der für die Rehm-Weller Gleichung relevanten Übergänge für die Reduktion eines angeregten Fluorophors durch einen Quencher.

Ob es sich bei der Reduktion um einen exothermen und damit erlaubten Prozess handelt, gibt die Gibb'sche freie Energie **ΔG^0** wieder.

$$\Delta G^0 = E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}} - E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}} \qquad (3.7)$$

$E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}}$ ist das Oxidationspotential des Quenchers und bekannt. $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}$ ist das Reduktionspotenial des angeregten Fluorophors und kann in erster Nährung durch die Summe der Anregungsenergie ΔE_{00} und dem Reduktionspotential des Fluorophors im Grundzustand $E^0_{F^{\bullet-}\Rightarrow F}$ ersetzt werden.

$$\Delta G^0 = E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}} - E^0_{F^{\bullet-}\Rightarrow F} - \Delta E_{00} \qquad (3.8)$$

Die so erhaltene Gleichung besteht nur noch aus experimentell bestimmbaren Größen und ermöglicht eine Prognose über den Ablauf einer Reduktion des angeregten Fluorophors **F*** durch den Quencher **Q**.

Eine analoge Betrachtung ist für die Oxidation von **F*** durch **Q** möglich.

$$\mathbf{F^* + Q \rightarrow F^{\bullet+} + Q^{\bullet+-}}$$

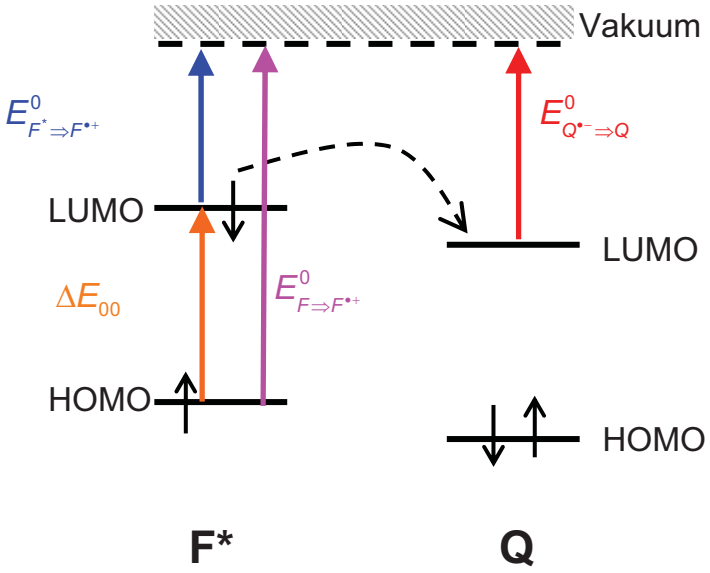


Abbildung 3.25: Schematische Darstellung der für die Rehm-Weller Gleichung relevanten Übergänge für die Oxidation eines angeregten Fluorophors durch einen Quencher.

Für die Gibb'sche freie Energie ΔG^0 ergibt sich in diesem Fall:

$$\Delta G^0 = E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}} - E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet-}} \qquad (3.9)$$

$E^0_{Q^{\bullet-}\Rightarrow Q}$ ist Reduktionspotential des Quenchers. $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}$ ist das Oxidationspotenial des angeregten Fluorophors und kann in erster Nährung durch die Differenz des Oxidationspotential des Fluorophors im Grundzustand $E^0_{F\Rightarrow F^{\bullet+}}$ und der Anregungsenergie ΔE_{00} ersetzt werden.

$$\Delta G^0 = E^0_{F \Rightarrow F^{\bullet +}} - \Delta E_{00} - E^0_{Q \Rightarrow Q^{\bullet -}} \qquad (\mathbf{3.10})$$

Diese Gleichung ermöglicht eine Vorhersage, ob ein bestimmter Quencher den verwendeten Fluorophor nach seiner Anregung oxidieren würde.

3.6.4 Diskussion der möglichen Lösch-Mechanismen

Wie oben, (Kapitel 3.5) erläutert, erscheint es sinnvoll, einen Quencher zu den Fluorophormeßsystemen hinzuzufügen, um durch einen Triplett-Triplett-Energietransfer die Lebensdauer des Triplettzustands des Fluorophors zu verkürzen und dadurch die Signalintensität der Fluoreszenz und die Stabilität des Fluorophors zu erhöhen.

Singulett-Singulett-Energietransfer: Singulett-Singulett-Energietransfers sollen vermieden werden, da diese zu einer Abnahme der Fluoreszenz führen würden.
Bei geeigneter Lage der Energieniveaus von Fluorophor und Quencher kann eine Löschung des S_1 des angeregten Fluorophors nach dem Dexter- als auch Förster-Mechanismus verhindert werden.

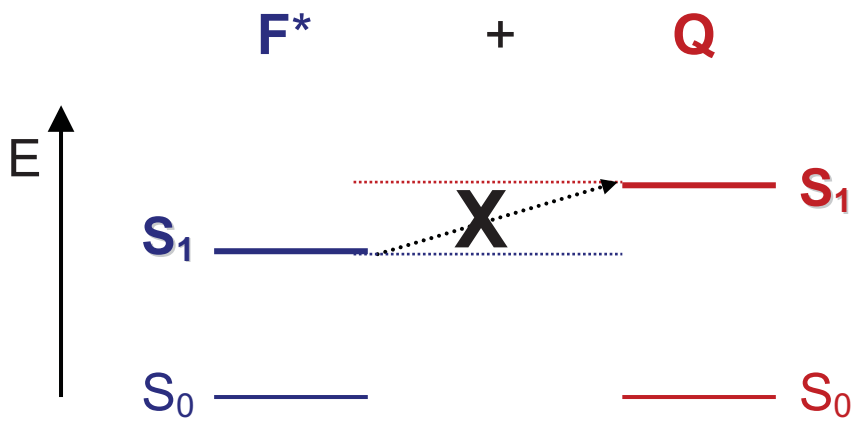


Abbildung 3.26: Skizze der Energiezustände von Fluorophor und Quencher für die Vermeidung eines Singulett-Singulett-Energietransfer .

Dazu muss die Energie des S_1-Zustands des Quenchers größer sein als die Energie des S_1 des Fluorophors. Ein Singulett-Singulett-Energietransfer wäre unter diesen Umständen endergonisch und fände nicht statt.
Zur Vermeidung einer Löschung des S_1 des Fluorophors durch einen Quencher nach dem Charge-Transfer-Mechanismus muss ein Quencher mit ausreichend hohen

Oxidations- bzw. ausreichend geringen Reduktionspotentialen verwendet werden. Das Oxidationspotential des Quencher muss über dem Reduktionspotential des angeregten Fluorophors liegen; entsprechend muss das Reduktionspotential des Quenchers kleiner als das Oxidationspotential sein.

Triplett-Trtiplett-Energietransfer: Durch einen Triplett-Triplett-Energietransfer vom angeregten Fluorophor zum Quencher wird die Lebensdauer des Triplettzustands des Fluorophors verkürzt. Die Signalintensität der Fluoreszenz und die Stabilität des Fluorophors kann auf diese Weise erhöht werden.
Ein Triplett-Triplett-Energietransfer ist nach dem Förster-Mechanismus nicht möglich. Bei geeigneter Lage der Energieniveaus von Fluorophor und Quencher kann ein Triplett-Triplett-Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus erfolgen und den T_1-Zustand des angeregten Fluorophors löschen.

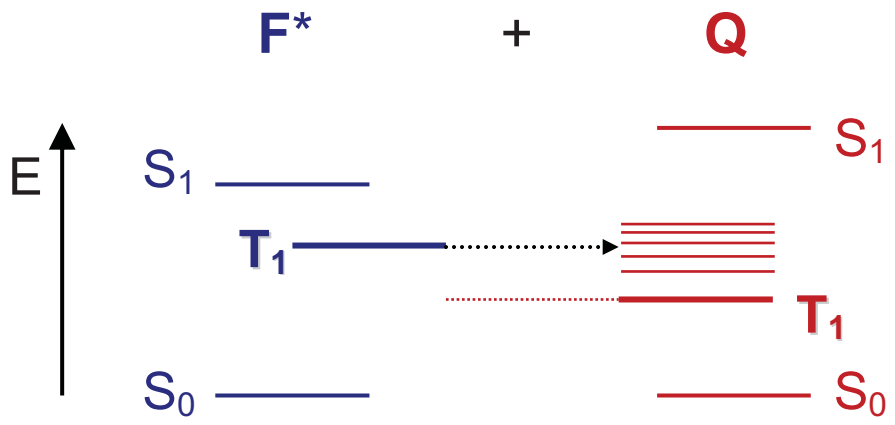


Abbildung 3.27: Skizze der Energiezustände von Fluorophor und Quencher für einen Triplett-Triplett-Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus .

Aus der Abbildung 3.27 kann man erkennen, dass dazu der erste angeregte Triplettzustand des Quenchers energetisch ähnlich oder leicht unterhalb des ersten angeregten Triplettzustands des Fluorophors liegen muss.
Ein Triplett-Triplett-Energietransfer nach dem CT-Mechanismus wäre wünschenswert. Jedoch liegt das Oxidationspotential eines T_1-Zustands über dem Potential des S_1-Zustands. Dies bedeutet, dass ein Quencher mit ausreichend großem Reduktionspotential für die Oxidation des T_1-Zustands des Fluorophors auch immer in der

Lage sein wird den S_1-Zustand zu oxidieren. Ähnlich verhält es sich mit der Reduktion des T_1-angeregten Fluorophors. Ein Quencher, der in der Lage ist den T_1 des Fluorophors zu reduzieren, wird auch seinen S_1 reduzieren können. Eine exklusive Löschung des Triplettzustands des Fluorophors durch einen Quencher nach dem CT-Mechanismus, ohne Beeinträchtigung der Fluoreszenz durch Quenchen des S_1-Zustands, ist nicht möglich.

3.6.5 Konzentrationsabhängigkeit von den Wechselwirkungen zwischen Fluorophor und Quencher bei Löschprozessen

Zur Betrachtung der Konzentrationsabhängigkeit der Wechselwirkungen zwischen Fluorophor und Quencher bei Löschprozessen werden zunächst Systeme diskutiert, in denen sich Fluorophor- und Quenchermoleküle frei in einer Lösung bewegen.

In den Kapiteln 3.6.1 und 3.6.2 wurden drei mögliche Mechanismen für Löschprozesse zwischen Fluorophor und Quencher vorgestellt: der Förster-, Dexter- und Chargetransfer-Mechanismus. Alle drei Transfermechanismen sind abstandsabhängig. Bei einem Förster Energietransfer **FRET** liegen typische maximale Fluorophorabstände zwischen 10 und 100 Å, beim Dexter-Energietransfer **DET** bei wenigen Ångström und beim Löschmechanismus nach dem Charge-Transfer-Mechanismus **CT** werden quasi abstandslose Kollisionskomplexe vorausgesetzt. Der Quenchprozess des Triplettzustands des Fluoreszenzfarbstoffs ist unter den obigen Bedingungen diffusionskontrolliert. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist im Rahmen der Versuchsbedingungen nicht beeinflussbar. Vernachlässigt man intermolekulare Anziehungs- und Repulsionskräfte, so wird der mittlere Abstand von Fluorophor und Quencher in einer Lösung im thermodynamischen Gleichgewicht allein von den Konzentrationen der Komponenten bestimmt. Je größer die Konzentrationen des Löschers, desto geringer ist der Abstand zwischen angeregtem Fluorophor und Löscher, und desto wahrscheinlicher ist ein möglicher Energietransfer.

Bei Einzelmolekülspektroskopischen Methoden wird wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben mit sehr geringen Konzentrationen von Fluorophoren gearbeitet. Typische Konzentrationen liegen im nanomolaren Bereich. Quencher müsste man hingegen für das Zustandekommen einer Löschung des Triplettzustands in verhältnismäßig hoher Konzentration zugeben.

3.7 Eigenschaftsprofil von potentiellen selektiven Triplett-Quenchern

Potentielle Quencher für den ersten angeregten Triplettzustand von Fluoreszenzfarbstoffen $^{F}T_1$ müssen ein definiertes Eigenschaftsprofil erfüllen. Dieses Eigenschaftsprofil lässt sich aus denen in Kapitel 3.6 besprochenen möglichen Wechselwirkungen zwischen Fluorophoren und Quenchern ableiten.

3.7.1 Zustandsenergien von potentiellen Quenchern

In den Kapiteln 3.6.1 und 3.6.2 wurden die verschiedenen Mechanismen von Energietransfers beschrieben. Es wurde hergeleitet, dass eine effiziente Löschung des ersten angeregten Triplettzustands eines Fluoreszenzfarbstoffs **F** nur durch einen Dexterenergietransfer **DET** möglich ist. Die Zustandsenergien eines potentiellen Quenchers **Q** für einen **DET** wurden in 3.6 einleitend beschrieben.

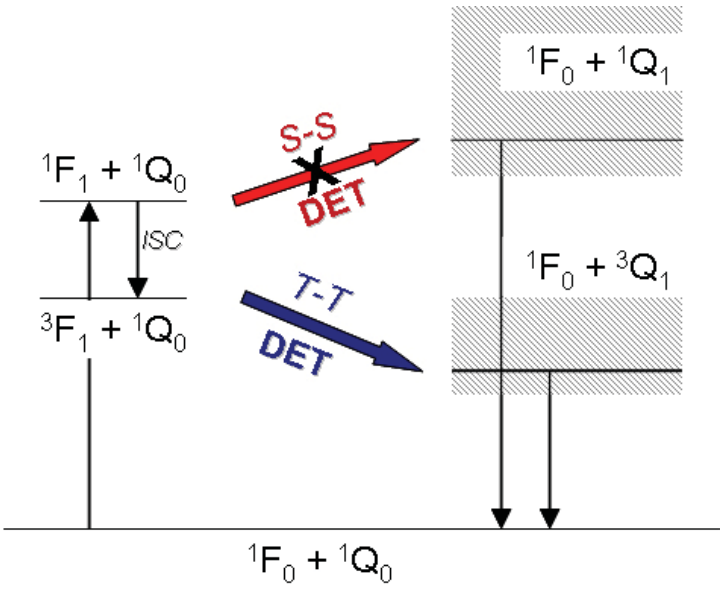


Abbildung 3.28: Übersicht der im Löschprozess involvierten Zustandsenergien des Fluorophors **F** und Quenchers **Q.**

Betrachtet man Fluorophor und Quencher als eine Einheit so kann man dies als $^{a}\mathbf{F_b}$ **+** $^{a}\mathbf{Q_b}$ beschreiben. Der Superfix **a** gibt die Multiplizität des Zustands wieder (^{1} - Singulett; ^{3} – Triplett). Die Zustandsenergien der Einheiten setzten sich aus der Summe der Zustandsenergien der einzelnen Komponenten zusammen.

Für die Löschung des $^3\mathbf{F_1}$ muss der Triplett-Triplett-Löschprozess ***T-T*-DET** exotherm verlaufen. Dazu muss die $^1\mathbf{F_0}$ **+** $^3\mathbf{Q_1}$-Einheit energetisch leicht unterhalb des $^3\mathbf{F_1}$ **+** $^1\mathbf{Q_0}$ liegen. Für einen effizienten Energietransfer sollte die Differenz jedoch nicht mehr als wenige kJ betragen, um eine effektive Überlappung der Spektren zu garantieren. Weiterhin muss die Energie des $^1\mathbf{F_0}$ **+** $^1\mathbf{Q_1}$ größer als die Energie des $^1\mathbf{F_1}$ **+** $^1\mathbf{Q_0}$ sein, damit kein Singulett-Singulett-Energietransfer ***S-S*-DET** oder ***S-S*-FRET** stattfinden kann.

Will man Vorhersagen über die obigen Prozesse treffen, so müssen die Energien der einzelnen angeregten Zustände bekannt sein. Herkömmlich wird die Differenz des Schwingungsgrundzustandes des angeregten Zustands z. B. $S_{1(v=0)}$ oder $T_{1(v=0)}$ zum Grundzustand $S_{0(v=0)}$ als Wert für die Zustandsenergie herangezogen. Diese Energie wird als adiabatische Zustandsenergie bezeichnet.

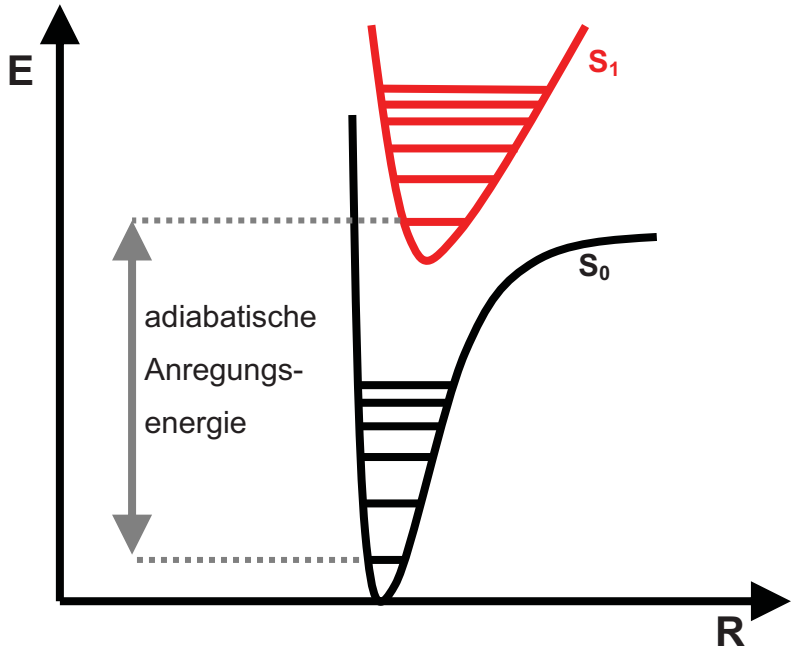


Abbildung 3.29: Schematische Darstellung der adiabatischen Anregungsenergie am Beispiel der Anregung $S_0 \rightarrow S_1$.

Unter der Annahme, dass die Nullpunktsenergien der betrachteten Zustände ähnlich groß sind, gibt die adiabatische Zustandsenergie in erster Nährung die Energiedifferenz der Minima der Potentialkurven wieder. Die Zustandsenergie für den S_1 z. B. entspricht der Anregung $S_{0(v=0)} \rightarrow S_{1(v=0)}$ sowie der Emission $S_{0(v=0)} \leftarrow S_{1(v=0)}$. Die Richtung der Pfeile gibt die Richtung des Übergangs wieder, die aus quantenchemischen Rechnungen zugänglich sind. Sie lässt sich aus den 0-0 Übergängen der Absorption und der Fluoreszenzemission herleiten.

Eine Anregungs- bzw. ein Emissionsprozess ist jedoch nicht notwendigerweise der direkte Übergang vom Grundzustand des Moleküls in den Schwingungsgrundzustand des angeregten Zustands. Nach dem Franck-Condon Prinzip weisen senkrechte Übergänge zwischen zwei Potentialkurven die höchste Wahrscheinlichkeit auf, da die Absorption schneller erfolgt, als Geometrieänderungen im Molekül. Dieses Phänomen ist auf die Geometrie der Zustände zurückzuführen. Erfolgt ein Übergang senkrecht, so entspricht die Geometrie des angeregten Zustands der Geometrie des Grundzustands. Eine Veränderung der Molekülgeometrie erfolgt erst durch langsamere Molekülschwingungen.

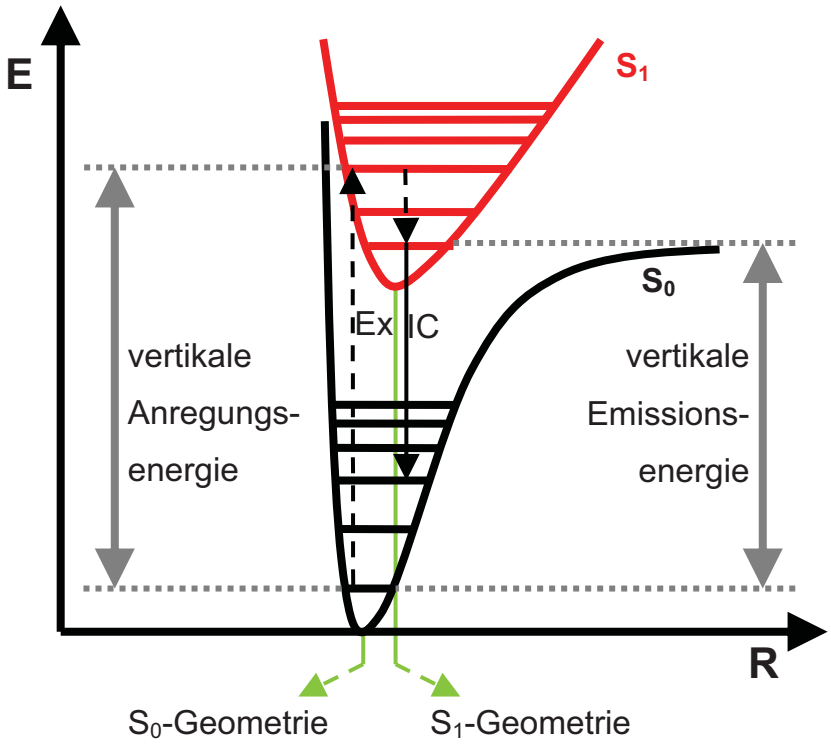


Abbildung 3.30: Schematische Darstellung der vertikalen Anregungs- und Emissionsenergien am Beispiel der Übergänge $S_0 \rightarrow S_1$ und $S_0 \leftarrow S_1$.

In Abbildung 3.30 kann man erkennen, dass bei vertikalen Übergangsenergien, im Gegensatz zu den adiabatischen, die Anregungsenergien nicht gleich der Emissionsenergien sind. Die Energien der wahrscheinlichsten Anregungs- und Emissionsübergänge entsprechen den Maxima der Absorptions- und Fluoreszenzspektren.
Möchte man die notwendigen Zustandsenergien für einen Quencher bestimmen, so dass dieser den angeregten Triplettzustand des Fluorophors löschen kann, muss man die vertikale Emissionsenergie des Fluorophors $E(^1F_0 \leftarrow {}^3F_1)$ mit der vertikalen und adiabatischen Anregungsenergien des Quenchers $E(^1Q_0 \rightarrow {}^3Q_1)$ vergleichen.

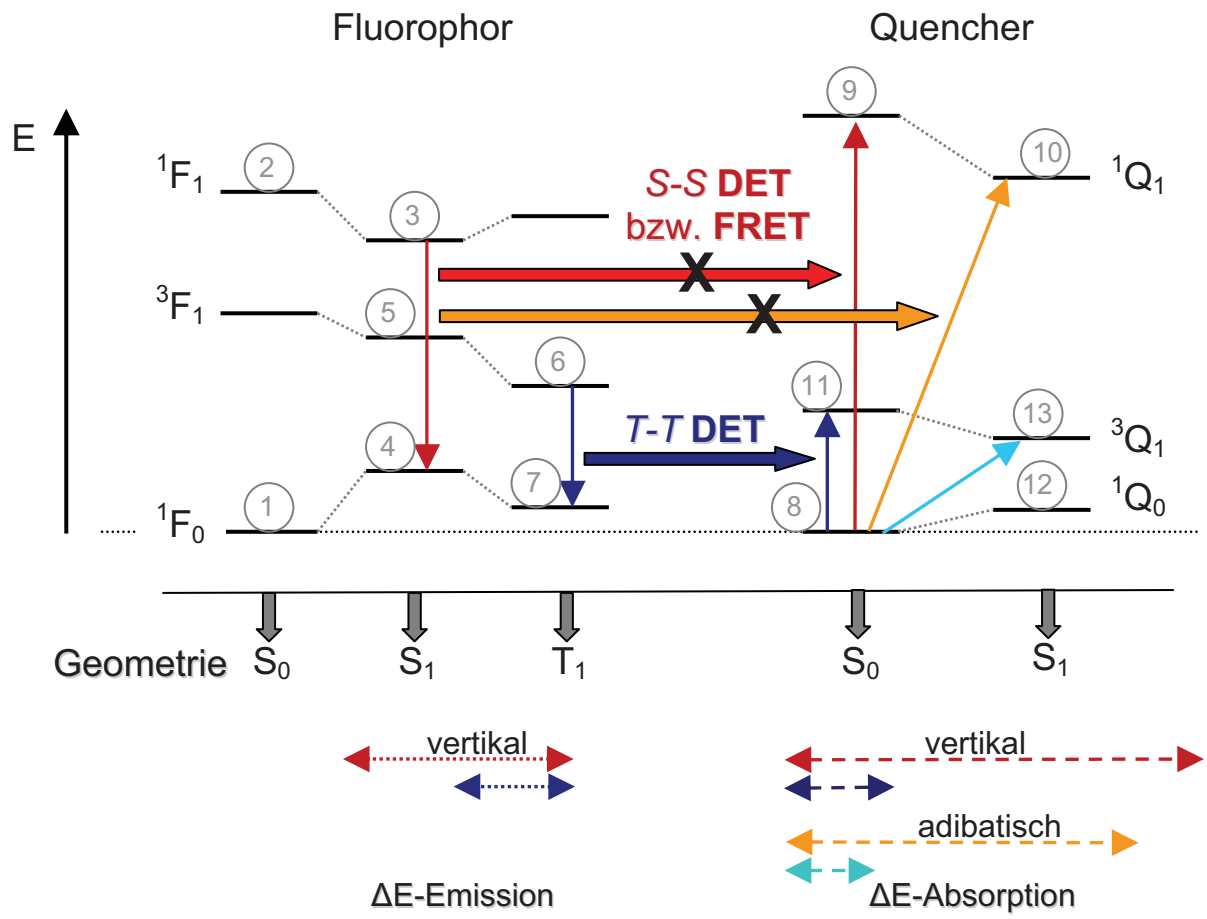


Abbildung 3.31: Übersicht der im Löschprozess involvierten Anregungs- und Emissionsenergien des Fluorophors **F** und Quenchers **Q**.

Beschreibt man Zustände des Fluorophors bzw. Quenchers auf die folgende Weise:

$$^aF_b@S_c, \text{ bzw. } ^aQ_b@T_c$$

^{a} : Multiplizität des Zustands

F/Q: Fluorophor/Quencher

$_b$: Ziffer des angeregten Zustands

S/T: Geometrie des Singulett-/Triplettzustand

$_c$: Ziffer des Geometriezustands

so gibt der erste Teil des Ausdrucks die elektronische Beschaffenheit und der zweite Teil die Geometrie des Zustands an.
Ein herkömmlicher Fluoreszenzzyklus eines Fluorophors sähe dann wie folgt aus:

$^1F_0@S_0 \rightarrow {}^1F_1@S_0$	Anregung	$1 \rightarrow 2$
▼		
$^1F_1@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_0$	Relaxation	$2 \rightarrow 3$
▼		
$^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1$	Fluoreszenz	$3 \rightarrow 4$
▼		
$^1F_0@S_0 \leftarrow {}^1F_1@S_1$	Relaxation	$4 \rightarrow 1$

Die Zahlen in der letzten Spalte beziehen sich auf die in Abbildung 3.31 eingezeichneten Energiezustände.
Bei einem Energietransfer vom angeregten Fluorophor würden je nach Anregungszustand die vertikalen Emissionsenergien $E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1)$ bzw. $E(^1F_0@T_1 \leftarrow {}^3F_1@T_1)$ auf den Quencher übertragen werden. Um das Fluoreszenzverhalten des Fluorophors zu steigern, soll ein zugesetzter Quencher in der Lage sein, die Triplettemissionsenergie aufzunehmen. Er sollte jedoch nicht in der Lage sein, die Singulettemissionsenergie zu absorbieren und somit, die Fluoreszenz zu löschen. Die Anregungsenergien eines potentiellen Quenchers $E(^1Q_0@S_0 \rightarrow {}^1Q_1@S_1)$ für die adiabatische Anregung in den S_1 und $E(^1Q_0@S_0 \rightarrow {}^3Q_1@S_0)$ für den Triplettzustand für einen ***T-T*-DET** müssen daher die folgenden Bedingungen erfüllen.

1. $E(^1Q_0@S_0 \rightarrow {}^1Q_1@S_1) > E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1)$*:* Die emittierte Energie des angeregten Singulettzustands S_1 des Fluorophors reicht nicht aus, um den Quencher in einen Singulettzustand anzuregen. Ein ***S-S*-DET** oder ***S-S*-FRET** wäre somit endotherm und findet nicht statt.

2. $E(^1Q_0@S_0 \rightarrow {}^3Q_1@S_0) \leq E(^1F_0@T_1 \leftarrow {}^3F_1@T_1)$*:* Die emittierte Energie des angeregten Triplettzustands T_1 des Fluorophors muss gleich bzw. bis wenige kJ größer sein, als die Energie, die nötig ist, den Quencher in den Triplett-

zustand anzuregen. So wird der Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus exotherm und läuft ab.

Zur Vorhersage der Effizienz des Energietransfers benötigt man daher die vertikalen Emissionsenergien der Fluorophore.
In Kapitel 3 wurden Xanthenfarbstoffe als Fluorophore für einzelmolekülspektroskopische Fluoreszenzstudien vorgestellt. Die Klasse der Rhodamine zeichnet sich durch hohe Anregungsraten und geringe *ISC*-Raten aus. Sie weisen hohe Fluoreszenzquantenausbeuten auf (z. B. Φ_f = 0.94 für Rhodamin 110 (**1**); Φ_f = 0.90 für Rhodamin 123 (**54**)) (siehe Abbildung 3.32) und haben sich daher als Fluoreszenzfarbstoffe in der Einzelmolekülspektroskopie bewährt.

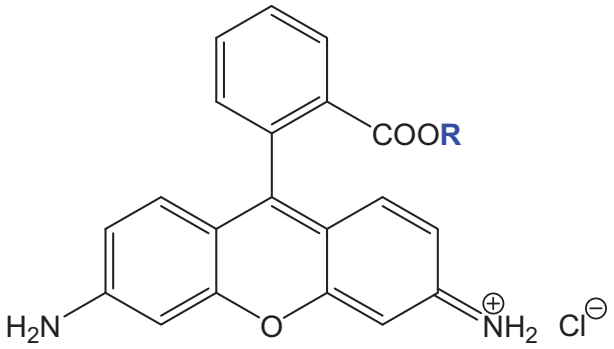


Abbildung 3.32: Allgemeine Rhodaminstruktur. **R** = H → Rhodamin 110 **RH110** (**1**)
R = CH_3 → Rhodamin 123 **RH123** (**54**)

Als Beispiele für die Größenordnung der vertikalen Emissionsenergien werden das carboxylsubstituierte Rhodamin 110 (**RH110**, **1**)und der analoge Methylester, Rhodamin 123 (**RH123**, **54**) gewählt.

Rhodamin 110 (**1**)**:** In ethanolischer Lösung weist **RH110** (**1**) ein Fluoreszenzmaximum bei 524 nm auf.[41] Dies entspricht einer Emissionsenergie des angeregten S_1 von 2.37 eV.
Aus der Phosphoreszenz von **RH110** (**1**) bei 510 nm lässt sich eine Emissionsenergie des T_1 von 2.43 eV ableiten.[42, 43]

Rhodamin 123 (**54**)**:** Das Fluoreszenzspektrum von RH123 **54** in Ethanol hat das Maximum bei 534 nm.[41] Die vertikale Emissionsenergie des S_1 beträgt somit 2.32 eV.

Es sind keine experimentellen Daten über die Phosphoreszenz von RH123 **54** zur Bestimmung der Emissionsenergie des T_1 bekannt. Sie wurde daher von *Marian et. al* mittels quantenmechanischen Rechnungen abgeschätzt.[1] Zur Methodenkontrolle wurde zunächst die Emissionsenergie des S_1 von RH123 **54** im i.) Vakuum und in ii.) Ethanol errechnet. Man erhielt i.) 2.60 eV (477 nm) bzw. ii.) 2.32 eV (534 nm). Die quantenmechanischen Rechnungen geben die experimentellen Werte im Rahmen der Messgenauigkeiten wieder, so dass man davon ausgehen kann, dass die verwendete Rechenmethode für vertikale Emissionsenergien geeignet ist.

Für die vertikale Emissionsenergie des T_1 von RH123 **54** konnte daraufhin ein Wert von i.) 2.02 eV (614 nm) bzw. ii.) 1.90 eV (653 nm) errechnet werden.

Tabelle 3-1: Übersicht der experimentell und quantenmechanisch errechneten Emissionsenergien der S_1- und T_1-Zustände von RH110 (**1**) und RH123 (**54**).

	Singulett	*Triplett*	
	$E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1)$:	$E(^1F_0@T_1 \leftarrow {}^3F_1@T_1)$:	*Bestimmung*
RH110	*2.37 eV (524 nm)*	*2.43 eV (510 nm)*	*exp (Ethanol)*
	2.32 eV (534 nm)	*/*	*exp (Ethanol)*
RH123	*2.60 eV (477 nm)*	*2.02 eV (614 nm)*	*calc (Vakuum)*
	2.32 eV (534 nm)	*1.90 eV (653 nm)*	*calc (Ethanol)*
	2.42 eV (512 nm)	*1.92 eV (646 nm)*	*Lit (Wasser)*[44]

Aus Tabelle 3-1 lässt sich erkennen, dass typische Emissionsenergien des S_1 von Rhodaminen um 2.35 eV liegen. Ein potentieller Quencher sollte daher eine vertikale Anregungsenergie von mindestens 2.40 eV aufweisen. Dies entspricht einem Absorptionsspektrum < 517 nm.

Emissionsenergien des T_1 werden zwischen 1.90 und 2.43 eV angegeben. Je nach dem verwendeten Rhodaminfarbstoff sollte die vertikale Triplettanregungsenergie des Quencher ≤ 1.90 eV (≥ 653 nm) bzw. ≤ 2.43 eV (≥ 510 nm) sein.

3.7.2 Redoxpotentiale von potentiellen Quenchern

Die Reduktion bzw. Oxidation von Fluoreszenzfarbstoffen im angeregten Zustand führt zu einer Abnahme der Fluoreszenz (siehe Kapitel 3.6.3). Je nach den vorliegenden Redoxpotentialen von Fluorophor und Quencher kann eine Redoxreaktion exergonisch sein und ablaufen. Zum Erhalt von konkreten Grenzwerten für die Redoxpotentiale wird, wie im vorherigen Kapitel, als Beispielfluorophor das Rhodamin 123 (RH123, **54**) gewählt. Als mögliche Ausgangszustände für Redoxreaktionen werden zwei reaktive Spezies von RH123 **54** identifiziert:[1]

1. *RH123@S_1*: S_1-angeregtes RH123 **54**
2. *RH123@T_1*: T_1-angeregtes RH123 **54**

Die Redoxpotentiale von RH123@S_1 und RH123@T_1 werden mit Hilfe der Rehm-Weller-Gleichungen bestimmt (siehe Kapitel 3.6.3).

3.7.2.1 Oxidationspotentiale von RH123@S1 und RH123@T1

Für das Oxidationspotential von RH123@S_1 und RH123@T_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}$ ergibt sich nach *Rehm-Weller* folgender Zusammenhang:

$$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}} = E^0_{F\Rightarrow F^{\bullet+}} - \Delta E_{00} \qquad (\mathbf{3.11})$$

$E^0_{F\Rightarrow F^{\bullet+}}$: Oxidationspotential des RH123 **54** aus dem Grundzustand

ΔE_{00} : Anregungsenergie des RH123 **54** in den S_1- bzw. T_1-Zustand

Das Oxidationspotential des RH123 **54** aus dem Grundzustand wurde in Kooperation mit *D. Pfiffi* cyclovoltametrisch bestimmt und beträgt 1.15 V vs. NHE[44]. Die vertikale Anregungsenergie des RH123 **54** in den S_1 ΔE^S_{00} wurde in Ethanol zu 2.32 eV errechnet.[1] Aufgrund der experimentellen Unzulänglichkeit wird für die vertikale Anregungsenergie des RH123 **54** in den T_1 ΔE^T_{00} ein quantenmechanistisch errechneter Wert von 1.90 eV herangezogen.[1] Die Oxidationspotentiale von RH123@S_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(S_1)$ und RH123@T_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(T_1)$ ergeben sich somit zu:

$$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(S_1) = -1.17\ V$$

$$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(T_1) = -0.75\ V$$

3.7.2.2 Reduktionspotentiale von RH123@S_1 und RH123@T_1

Für die Reduktionspotentiale von RH123@S_1 und RH123@T_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}$ ergibt sich nach *Rehm-Weller* folgender Zusammenhang:

$$E^0_{F^*\Rightarrow F\bullet-} = E^0_{F^{\bullet-}\Rightarrow F} + \Delta E_{00} \qquad (\mathbf{3.12})$$

$E^0_{F^{\bullet-}\Rightarrow F}$: Reduktionspotential des RH123 **54** aus dem Grundzustand

ΔE_{00} : Anregungsenergie des RH123 **54** in den S_1- bzw. T_1-Zustand

Das Reduktionspotential des RH123 **54** aus dem Grundzustand wurde von *D. Pfiffi* cyclovoltametrisch bestimmt und beträgt -0.61 V vs. NHE[44]. Die vertikale Anregungsenergien ΔE^S_{00} bzw. ΔE^T_{00} des RH123 **54**) in den S_1 bzw. T_1 wurden bereits im vorherigen Kapitel 3.6.1diskutiert (ΔE^S_{00} = 2.32 eV, ΔE^T_{00} = 1.90 eV).

Die Reduktionspotentiale von RH123@S_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(S_1)$ und RH123@T_1 $E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(T_1)$ ergeben sich somit zu:

$$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(S_1) = 1.71\ V$$

$$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(T_1) = 1.29\ V$$

3.7.2.3 Eigenschaften der Redoxpotentiale potentieller Quencher

Eine Oxidation bzw. Reduktion des angeregten Fluorophors RH123@S_1 und RH123@T_1 mit einem zugesetzten Quencher findet statt, wenn sie exergonisch sind, d.h. die Gibb'sche freie Energie der Reaktion $\Delta G^0 < 0$. Für ΔG^0 der Oxidation **ox** und Reduktion **red** gilt:

$$\Delta G^0_{ox} = E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}} - E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet-}} \qquad (\mathbf{3.9})$$

bzw.

$$\Delta G^0_{red} = E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}} - E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}} \qquad (\mathbf{3.7})$$

$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}$: Reduktionspotential des angeregten Fluorophors

$E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet-}}$: Reduktionspotential des Quenchers

$E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}}$: Oxidationspotential des Quenchers

$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}$: Oxidationspotential des angeregten Fluorophors

Für die angeregten Zustände S_1 und T_1 des Beispielfluorophors Rhodamin 123 (RH123, **54**) werden die folgenden Werte für die Reduktions- und Oxidationspotentiale verwendet (siehe Kapitel 3.7.2.1 und 3.7.2.2):

Tabelle 3-2: Reduktionspotentiale und Oxidationspotentiale von Rhodamin 123 (RH123, **54**) im S_1- bzw. T_1-Zustand.

Reduktionspotentiale	$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(S_1)$	*1.71 V*
	$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet-}}(T_1)$	*1.29 V*
Oxidationspotentiale	$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(S_1)$	*-1.17 V*
	$E^0_{F^*\Rightarrow F^{\bullet+}}(T_1)$	*-0.75 V*

Die Oxidation oder Reduktion eines Farbstoffs führt zum Verlust der Fluoreszenz. Ein zugesetzter Quencher sollte entsprechend ein geringes Reduktionspotential bzw. hohes Oxidationspotential aufweisen, so dass Redoxreaktionen zwischen Fluorophor und Quencher nicht eintreten. Nimmt man die Redoxpotentiale des Rhodamin 123 (**54**) als Richtwerte, so muss ein potentieller Quencher ein Oxidationspotential $E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet+}}$ > 1.71 V und ein Reduktionspotential $E^0_{Q\Rightarrow Q^{\bullet-}}$ < -1.17 V aufweisen.

3.7.3 Lebensdauer der angeregten Zustände von potentiellen Quenchern

Erfüllt ein Quencher die Bedingungen für einen Dexterenergietransfer mit einem Fluorophor, der im Triplettzustand ist, so wird er durch den Löschprozess selbst in den T_1-Zustand angeregt. Während der Lebensdauer dieses angeregten Zustands kann der Quencher nicht einen neu auftretenden Triplettzustand eines Fluorophors löschen. Ebenso kann ein Quencher, der in einen Singulettzustand angeregt wurde, keinen Triplettzustand durch einen Energietransfer desaktivieren. Ein effizienter Quencher sollte daher eine möglichst kurze Lebensdauer des T_1-Zustands aufweisen.

3.7.4 Quenchereigenschaften in der Übersicht

Ein potentieller Quencher für einen Rhodaminfarbstoff muss folgende Bedingungen erfüllen:

- **Zustandsenergien:** Die Anregungsenergie eines potentiellen Quenchers in den ersten erlaubten Singulettzustand muss mindestens 2.40 eV sein, um den fluoreszierenden S_1 des Fluoreszenzfarbstoffs nicht zu löschen. Dies entspricht einem Absorptionsspektrum < 517 nm.
  Die Triplettanregungsenergie des Quencher muss gleich oder geringfügig niedriger als die vertikale Emissionsenergie des Triplettzustands T_1 des Fluorophors sein. Da Triplettemissionsenergien experimentell meist aus Phosphoreszenzspektren gewonnen werden und man sich ansonsten auf quantenchemische Rechnungen stützen muss, schwanken die für Rhodamine angegebenen Werte. Je nach Farbstoff muss die vertikale Triplettanregungsenergie des Quencher ≤ 1.90 eV (≥ 653 nm) für RH123 (**54**) bzw. ≤ 2.43 eV (≥ 510 nm) für RH110 (**1**) sein. (siehe Kapitel 3.7.1)

- **Redoxpotentiale:** Ein Quencher darf nicht in der Lage sein, den angeregten Fluoreszenzfarbstoff zu oxidieren oder zu reduzieren, da dies zum Verlust des Chromophors führen kann. Um einen Rhodaminfarbstoff nicht zu reduzieren sollte er ein Oxidationspotential $E^0_{Q \Rightarrow Q^{\bullet+}}$ > 1.71 V aufweisen. Ein Reduktionspotential $E^0_{Q \Rightarrow Q^{\bullet-}}$ < -1.17 V verhindert eine Oxidation des Fluorophors. (siehe Kapitel 3.7.2.2)

- **Lebensdauer der angeregten Zustände:** Durch einen Energietransfer nach dem Dextermechanismus kann ein Quencher im Grundzustand den Triplettzustand eines Fluorophors effizient löschen. Es ist daher von Interesse, dass die verwendeten Quencher nach ihrer Anregung durch den Fluorophor in den T_1-Zustand schnell wieder in den Grundzustand relaxieren.

3.8 Potentielle Quencher

Zur Identifizierung von potentiellen Quenchern führten *S. Felekyan* und *P. Taureg* 2005 Voruntersuchungen durch.[45, 46] Anhand von Literaturangaben zu adiabatischen Singulett- und Triplettenergien von diversen Substanzklassen wurde eine Vorauswahl von potentiellen Quenchern getroffen.[47] FCS-Kurven wässriger Lösungen von Rhodamin 123 (RH123, **54**) ohne und mit Vertreter dieser Verbindungsklassen wurden aufgezeichnet und ausgewertet. Als maßgebliche Parameter wurden die Triplettamplitude (T_{eq}), Triplettrelaxationszeit (t_T/ms) und Fluoreszenzzählrate (F_{cpm}/kHz) von RH123 **54** bestimmt.

- Die **Triplettamplitude** ist die Wahrscheinlichkeit, dass sich ein Molekül im Triplettzustand befindet. Sie sollte für unsere Versuchszwecke so niedrig wie möglich sein.
- Die **Triplettrelaxationszeit** ist ein Maß für die Lebensdauer des T_1-Zustands. Auch sie sollte so niedrig wie möglich sein.
- Die **Fluoreszenzzählrate** gibt die Anzahl der Fluoreszenzphotonen pro Molekül und Sekunde wieder. Sie sollte möglichst hoch sein.

Notiert wurde ob, die Substanzzugabe zu einer merklichen negativen Veränderung (--), geringen negativen Veränderung (-), keiner Veränderung (0), geringen positiven Veränderung (+) oder großen positiven Veränderung (++) der Parameter führte.

S. Felekyan und *P. Taureg* haben in diesen Vorversuchen positive Ergebnisse für Azobenzol- und Cyclooctatetraenderivate erhalten.[45, 46] An diese Vorversuche soll hier angeknüpft werden.

Tabelle 3-3: Triplettamplitude T_{eq}, Triplettrelaxationszeit t_T**/ms** und Fluoreszenzrate F_{cpm}**/kHz** von RH123 **54** mit und ohne Zugabe von potentiellen Quenchern.

T_{eq}	t_T/ms	F_{cpm}/kHz	
0.280	*0.003*	*71.7*	RH123 **54**
+	+	0	Azulen (**55**)
0	+	0	1,8,9-Trihydroxy-anthracen (**56**)
+	++	++	9-Anthracenaldehyd (**57**)
++	++	++	2,4,6-Cyclo-heptatrien-1-carbonsäurenitril (**58**)
++	++	++	Azobenzol-4-carbonsäure (**AB01**)
0	0	0	β,β-Carotin (**59**)
+	--	++	Ferrocen (**60**)
--	++	++	Ferrocencarbonsäure (**61**)
0	0	0	Perylen (**62**)
++	+	+	Cyclooctatetraen (**63**)

β,β-Carotin (**59**) hat in diesen Voruntersuchungen eine positiven Eigenschaften gezeigt. Es lässt sich aber vermuten (siehe auch Kapitel 3.82), dass kettenverkürzte Homologe des *β,β*-Carotins (**59**) geeignete Quencher sind. Im Folgenden sollen daher die drei genannten Substanzklassen auf ihre Eignung als potentielle Quencher diskutiert werden:

- Cyclooctatetraene
- Carotinoide
- Azobenzole

3.8.1 Cyclooctatetraene als potentielle Quencher

Cyclooctatetraen (**63**) ist ein cyclischer Kohlenwasserstoff mit 4 formal konjugierten Doppelbindungen. Wäre es planar gebaut, so würde es sich nach der Hückel-Regel mit seinen 8 π-Elektronen um einen Antiaromaten handeln und nach der Hund'schen Regel als Diradikal vorliegen (siehe Abbildung 3.33).[48]

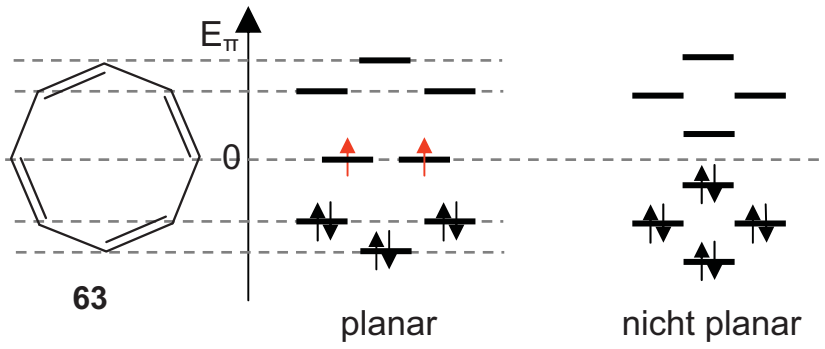


Abbildung 3.33: π-Energieniveauschema von COT (**63**).

Cyclooctatetraen (**63**) ist jedoch nicht eben gebaut und es findet keine Überlappung der p-Orbitale statt. Es ist daher weder aromatisch noch antiaromatisch und verhält sich wie ein typisches Olefin. Es weist eine geringe Delokalisationsenergie von 16 kJ/mol auf und kann in einer Wannen- oder Kronenkonformation vorliegen.

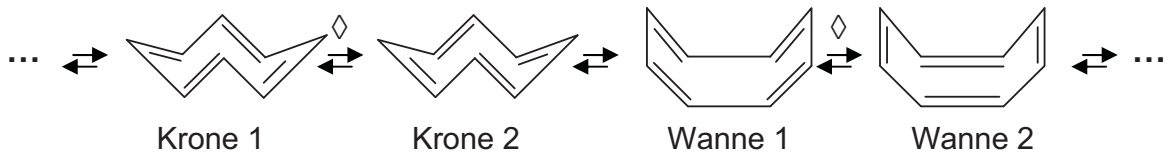
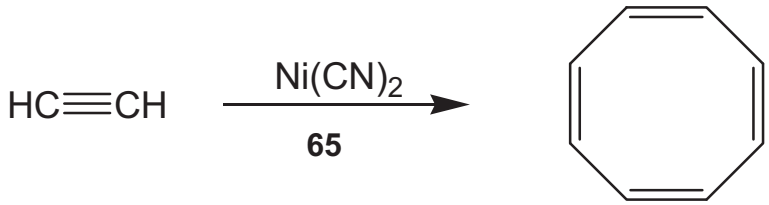


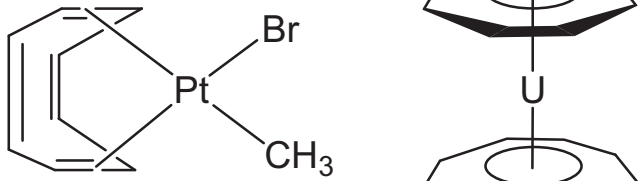
Abbildung 3.34: Konformationsänderungen von Cyclooctatetraen (**63**). ◊: *bond shift*.

Es kann z. B. nach einer Synthese von *Reppe et al.* unter Druck aus Acetylen mit einem Nickelcyanidkatalysator gewonnen werden.[49]

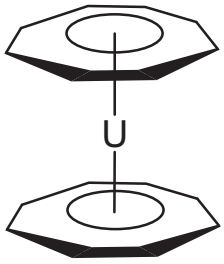


64 **63**

Abbildung 3.35: Syntheseschema von Cyclooctatetraen (**63**).



67



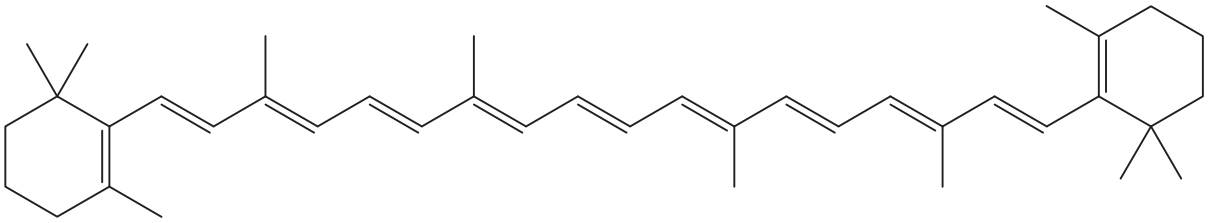
66

Abbildung 3.36: Strukturen von Bromido [(1,2,5,6-η)-1,3,5,7-cyclooctatetraen]methylplatin (II) (**67**) und Uranocen (**66**).

Cyclooctatetraen (**63**) findet Anwendung als Chelatligand in der Komplexchemie.[50] Das Anion des Cyclooctatetraens (**63**) kann mit Metallen Sandwichkomplexe bilden wie z. B. das Uranocen (**66**).[51] Cyclooctatetraen (**63**) wird bereits als Triplettquencher in Lasersystemen mit Rhodamin 6G (**68**) verwendet.[52-54] Es ist zu erwarten, dass strukturell ähnliche Verbindungen mit dem gleichen Chromophor ebenfalls geeignet sind. Im Rahmen dieser Arbeit werden daher verschiedene Derivate von Cyclooctatetraen (**63**) synthetisiert, um ihre Eignung als Quencher für Rhodaminfarbstoffe zu untersuchen.

3.8.2 Carotinoide als potentielle Quencher

Carotinoide sind bekannte Naturstoffe. Ihr prominentester Vertreter ist das *ß,ß*-Carotin (**59**).



59

Abbildung 3.37: Struktur von β,β –Carotin (**59**).

Carotinoide sind Tetraterpene deren Endgruppen über neun konjugierte Doppelbindungen verknüpft sind. Das Polyensystem wird durch vier Methylgruppen und die Endgruppen stabilisiert. Bei den klassischen Carotinoiden befindet sich noch je eine weitere Doppelbindung in der Endgruppe. Daraus ergeben sich elf konjugierte Doppelbindungen.
Man unterscheidet zwischen Carotinen, die reine Kohlenwasserstoffe darstellen, und Xanthophyllen, die neben Kohlenstoff und Wasserstoff noch Sauerstoff aufweisen.
Carotinoide sind als Farbstoffe in der Flora und Fauna weit verbreitet. Das Farbspektrum der freien Carotinoide reicht meist von gelb z. B. Zeaxanthin (**69**) aus Mais, bis rot z. B. Lycopin (**70**) aus Tomaten. Je nach Komplexierung in einem Organismus kann es bis zur Blaufärbung kommen (Astaxanthin (**71**) in Crustaceen).
In Pflanzen, Algen und Cyanobakterien sind Carotinoide, wie Lutein (**72**) oder *ß,ß*-Carotin (**69**), Teil der Photosynthesezentren.[55] Einen Photosynthesetrakt kann man in die Lichtsammelantenne (*light-harvesting antenna*) und das Reaktionszentrum unterteilen. Je nach Bereich erfüllen sie dort zwei Aufgaben:

- **Lichtsammeln (*light harvesting*):** Carotinoide ergänzen das Absorptionsspektrum der Organismen von etwa 400 bis 500 nm und ermöglicht so das Sammeln von Licht über einen breiteren Spektralbereich. Der absorbierende Chromophor richtet sich nach der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts. Je

nach Wellenlänge wird es von den Carotinoiden oder dem Chlorophyll (**73**) absorbiert. Daher werden Carotinoide auch als akzessorische Lichtsammelpigmente (accessory light-harvesting pigments) zum Chlorophyll (**73**) beschrieben.[56] Carotinoide absorbieren dabei das energiereichere Licht. Ein angeregtes Carotinoid kann die Energie über einen Singulett-Singulett Energietransfer an ein Chlorophyll (**73**) weiterleiten. Dieses gibt es durch einen weiteren Energietransfer ans Reaktionszentrum.

- **Quenchen:** Angeregtes Chlorophyll (**73**) in einer Photosyntheseeinheit kann durch *ISC* in einen Triplettzustand übergehen. Triplettchlorophyll (**73**) ist ein effizienter Sensibilisator für Singulettsauerstoff (**74**). Singulettsauerstoff (**74**) und seine Abbauprodukte bezeichnet man als *ROS* (reactive oxygen species). Werden *ROS* nicht schnell genug in einem Organismus abgefangen, entsteht oxidativer Stress wie z. B. Lipidperoxidation, der zur Zellzerstörung führen kann.
  Carotinoide gelten als wirksamer Schutz gegen reaktive Sauerstoffspezies. Ihre antioxidative Wirkung beruht auf Fähigkeit Radikale abzufangen (*free radical scavengers*). Dabei kommt es zur irreversiblen Autooxidation des Carotinoids.
  Carotinoide sind in der Lage Singulettsauerstoff (**74**) mittels Energietransfer zu quenchen.[57]

$$^1O_2^* + Car \rightarrow {}^3O_2 + {}^1Car^*$$

  Carotinoide können auch die Bildung von Singulettsauerstoff (**74**) in den Organismen unterbinden in dem sie die angeregten Chlorophylle im Triplettzustand mittels eines Triplett-Triplett-Energietransfer quenchen.

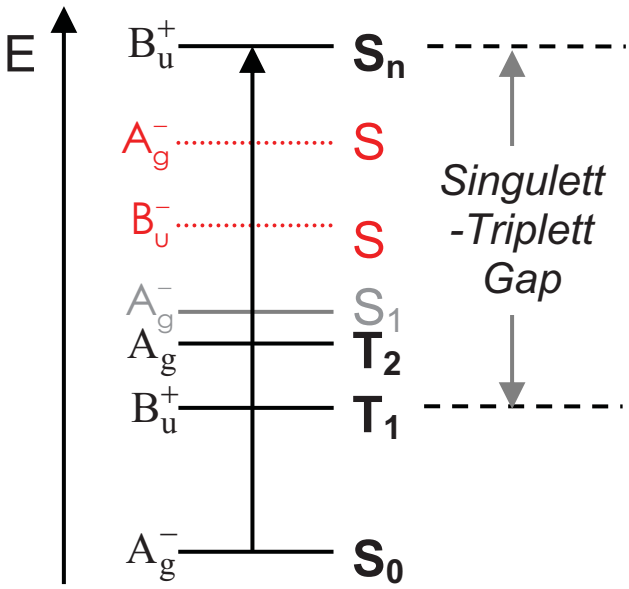


Abbildung 3.38: Verteilung der elektronischen Zustände in einem klassischen Carotinoid.

Die positiven Löscheigenschaften der Carotinoide sind auf die Größe des Polyensystems und auf die elektronische Beschaffenheit der Endgruppen zurückzuführen. Eine direkte Anregung von Carotinoiden in den S_1-Zustand ist nicht erlaubt, da dieser Übergang spinverboten ist (siehe Abbildung 3.38). Weitere niedrig liegende, ebenfalls verbotene Singulettzustände werden vermutet. Ein erster hoch liegender Singulettzustand bewirkt daher einen großen Singulett-Triplett-Abstand (*singlet-triplet gap*) in diesen Molekülen. Solch eine Zustandsverteilung ist vorteilhaft für potentielle Quencher von Rhodaminfarbstoffen.

Als eine Verbindungsklasse, die für ihre Fähigkeit zum Quenchen via Energietransfer bekannt ist und Sauerstoffspezies, die zur Oxidation eines Fluorophors führen könnten, in Lösungen abfangen kann, scheint sie als Quencher für Fluoreszenzfarbstoffe augenscheinlich geeignet. Dennoch sind klassische Carotinoide aus mehreren Gründen keine potentiellen Quencher für Rhodaminfarbstoffe:

- **Löslichkeit und Struktur**: Die klassischen Carotinoide sind schwerlösliche, große Moleküle. Eine Wechselwirkung von hochkonzentrierten Carotinoiden als Quencher mit einem Fluorophor und nicht mit biologischem Material ist nicht möglich.

- **Energie des ersten erlaubten Singulettübergangs**: Carotinoide absorbieren zwischen 400 und 550 nm. Dies entspricht einer Singulettanregungsenergie von 2.25 – 3.10 eV. Die Singulettemissionsenergie der Rhodamine liegt bei ca. 2.35 eV. Je nach Kombination von Carotinoid- und Rhodaminderivat ist ein Singulett-Singulett-Energietransfer möglich.

- **Oxidationspotential:** Auch weisen die langkettigen Polyene geringe Oxidationspotentiale auf. Sie sind damit in der Lage angeregte Rhodamine zu reduzieren.

Verkürzt man jedoch das Polyensystem der klassischen Carotinoide, so verändern sich auch die strukturellen und elektronischen Eigenschaften.

➲ Kleinere Moleküle weisen in der Regel eine höhere Löslichkeit als ihre größeren Analoga auf.

➲ Von *Martin et al.* konnte gezeigt werden, das Carotinoide durch die Verkürzung des Polyensystems an Redoxstabilität gewinnen.[57]

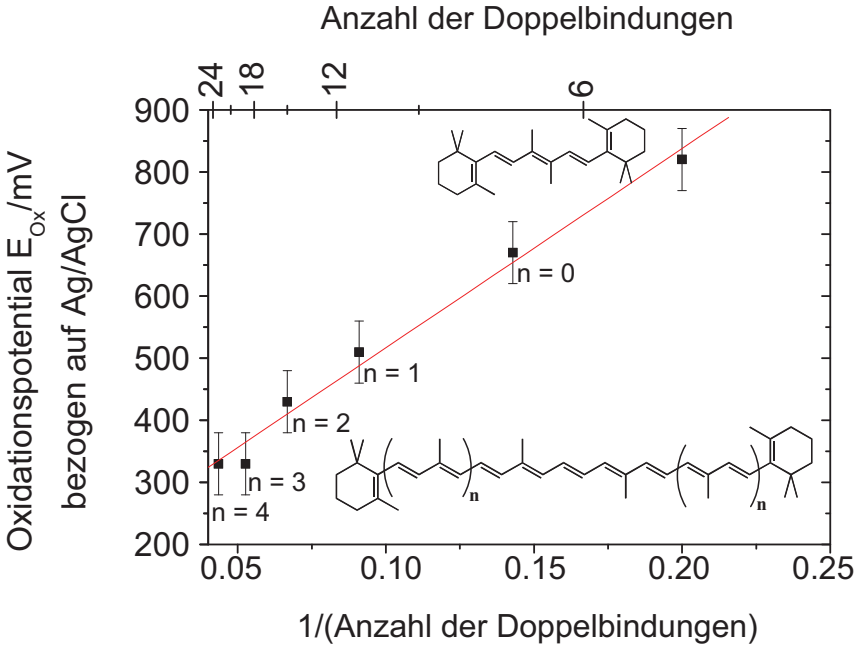
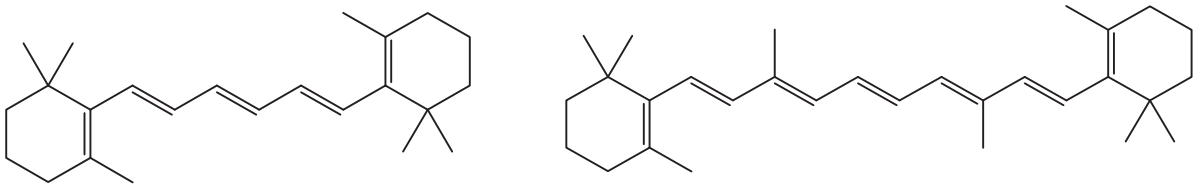


Abbildung 3.39: Abhängigkeit des Oxidationspotential von Carotinoiden von der Anzahl der Doppelbindungen im Polyensystem.

➲ Zudem bewirkt die Verkürzung des Polyensystems eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsspektrums. Der erste erlaubte Singulettzustand des Carotinoids liegt oberhalb der Emissionsgrenze des singulettangeregtem Rhodamins. Ein Singulett-Singulett-Energietransfer wäre somit nicht möglich.

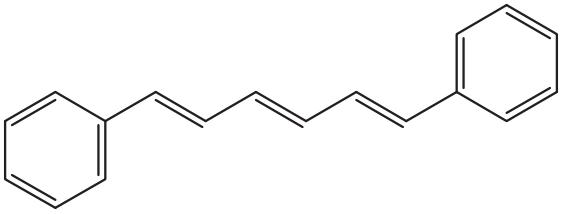
Verkürzt man z. B. die Polyenkette des *ß,ß*-Carotins (**63**), so kann man Systeme mit fünf bzw. sieben konjugierten Doppelbindungen erhalten. Diese Derivate des *ß,ß*-Carotins, z. B. **75** und **76,** sehen haben folgende Struktur:



75 **76**

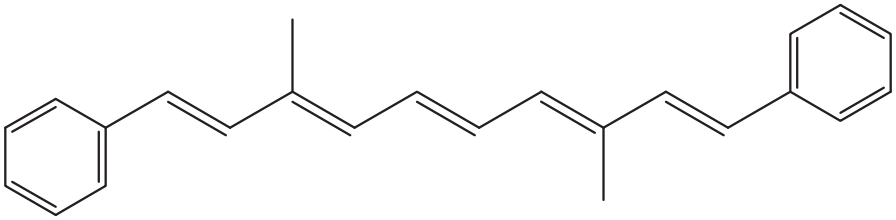
Abbildung 3.40: Strukturen von *ß,ß*-Carotinderivaten **75** und **76** mit verkürztem Polyensystem.

Um die Redoxstabilität weiter zu erhöhen, werden im Rahmen dieser Arbeit Derivate mit aromatischen Endgruppen synthetisiert. Die Bausteine sind leicht zugänglich und viele Modifikationen sind möglich. Ihre Synthese verläuft über weniger Stufen und gelingt so mit hohen Ausbeuten.



1,6-**Dip**henyl**h**exa-1,3,5-trien

(**DPH01**)



1,10-**Dip**henyl-3,8-dimethyl**d**eca-1,3,5,7,9-**p**entaen

(**DPD01**)

Abbildung 3.41: Strukturbeispiele von Diphenylhexatrienen (**DPH**) und Diphenyldecapentaenen (**DPD**).

Man erhält Diphenylhexatriene (**DPH**) und Diphenyldecapentaene (**DPD**). Ihre Eignung als Quencher für Rhodaminfarbstoffe wird untersucht.

3.8.3 Azobenzole als potentielle Quencher

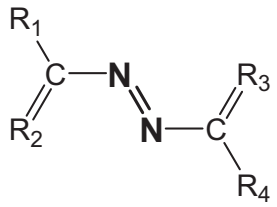
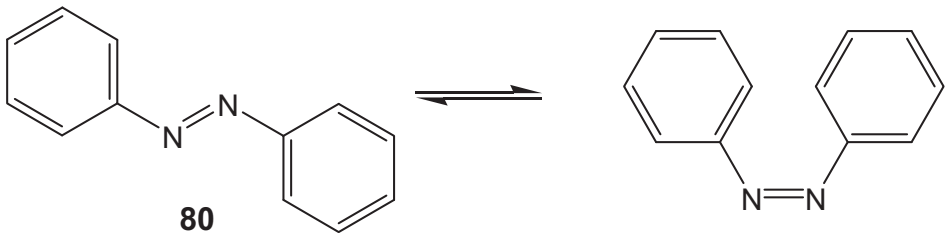


Abbildung 3.42: Allgemeine Struktur einer Azobindung.

Azofarbstoffe sind Farbstoffe mit einer Azogruppe die zwei sp^2-hybridisierte Kohlenstoffe verbindet. Je nach der Anzahl der Gruppen **R** spricht man von mono-, bis-, tris- oder tetrakis-Azofarbstoffen. Azofarbstoffe kommen in der Natur nicht vor. Sie wurden Mitte des 19. Jahrhunderts im Zuge der Industrialisierung bei der Suche nach Textilfarbstoffen entdeckt. Das aus Steinkohleteer gewonnene Anilin (**77**) ermöglichte die Synthese sogenannter Teerfarbstoffe bzw. Anilinfarben. Dazu gehörten neben Triarylmethan-, Xanthen-, Indigo- und Acridinfarbstoffen auch Azofarbstoffe wie Anilingelb (**AB02**), Methylorange (**78**) und Kongorot (**79**).



80

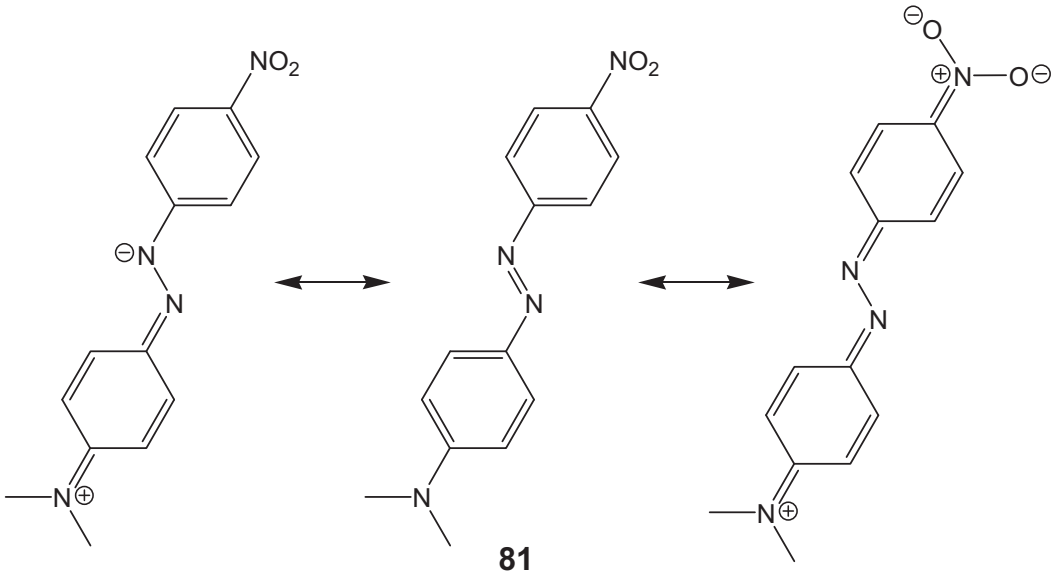
trans- oder *E*-Azobenzol

cis- oder *Z*-Azobenzol

Abbildung 3.43: Stereoisomere des Azobenzols (**80**) als Modell für Azofarbstoffe.

Aromatische Azoverbindungen erlangen ihre Farbigkeit durch das delokalisierte π-System. Azobenzol (**80**) selbst ist orangefarbig aber besitzt nur einen geringen Extinktionskoeffizienten (ε ~ 1500 $l \cdot cm \cdot mol^{-1}$). Durch die Substituenten können die elektronischen Eigenschaften verändert und die Absorptionswellenlänge der Verbindungen verschoben werden. Die Derivatisierung erfolgt meist durch Substitutionen an den aromatischen Gruppen in der 4-Position. Eine Gruppe mit einem freien Elektronenpaar, welches als Elektronendonor zum π-System fungieren kann (z. B. eine Dimethylaminogruppe) oder/und ein Elektronenakzeptor (z. B. eine Nitrogruppe)

bewirken eine größere Delokalisierung des π-Systems und somit eine Zunahme der Extinktion.[22]



81

Abbildung 3.44: Mesomere Grenzstrukturen von 4-Dimethylamino-4'-nitroazobenzol (**81**).

Elektronendonoren bewirken eine hypsochrome Verschiebung der Absorption; Elektronenakzeptoren eine bathochrome Verschiebung.
Kommerziell finden Azobenzole heute Anwendung als Zusatz in Tinten und Lacken und als Lebensmittelfarbe.

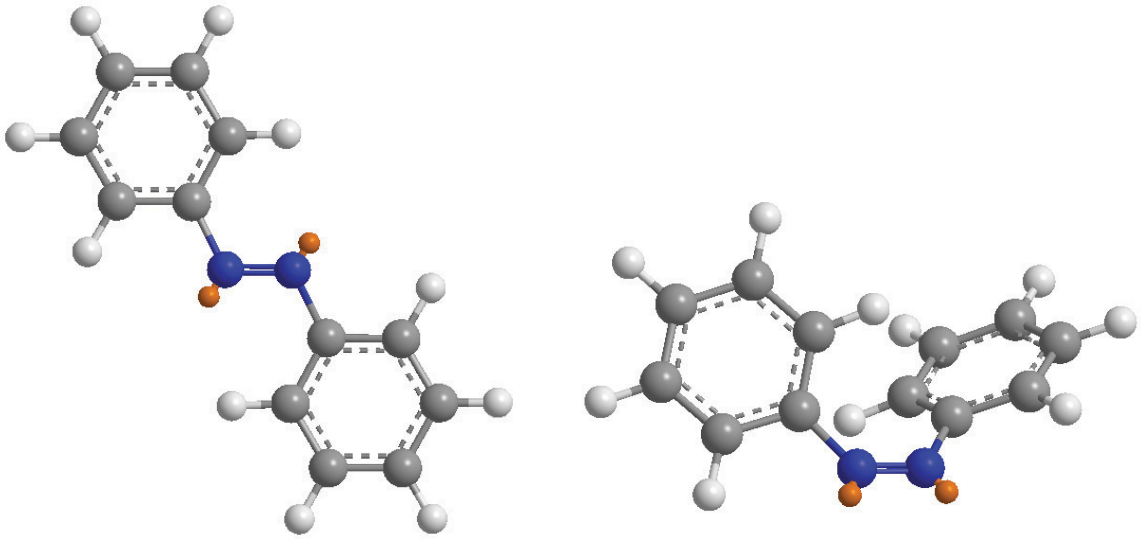


Abbildung 3.45: Geometrie der Stereoisomere des Azobenzols (**80**) in der "*Ball-and-Stick*" Ansicht. Links: *trans*-Isomer; Rechts: *cis*-Isomer.

Azobenzole können als *trans* bzw. *cis* (*E* bzw. *Z*) Stereoisomere vorliegen: (siehe Abbildung 3.45). Zwischen ihnen liegt eine Energiebarriere von etwa 20 kcal/mol. 1937 gelang es *Hartley,* die *cis*-Form des Azobenzols zu beobachten, etwa 100 Jahre nach der Entdeckung der Farbstoffklasse[58]. Die *trans*-Form stellt das stabilere Isomer dar. Es ist etwa 15 kcal/mol stabiler als das *cis*-Isomer[59]. Das fehlende Dipolmoment (μ_{trans} = 0 D) der *trans*-Anordnung ist durch die planare Anordnung und die damit verbundene C_{2h}-Symmetrie des Moleküls zu erklären.
Das *cis*-Isomer ist nicht planar und besitzt ein Dipolmoment von μ_{cis} = 3 D (siehe Abbildung 3.45). Im thermodynamischen Gleichgewicht liegt bei Raumtemperatur je nach Lösungsmittel Azobenzol (**80**) zu 15 - 40 % in der *cis*-Form vor.

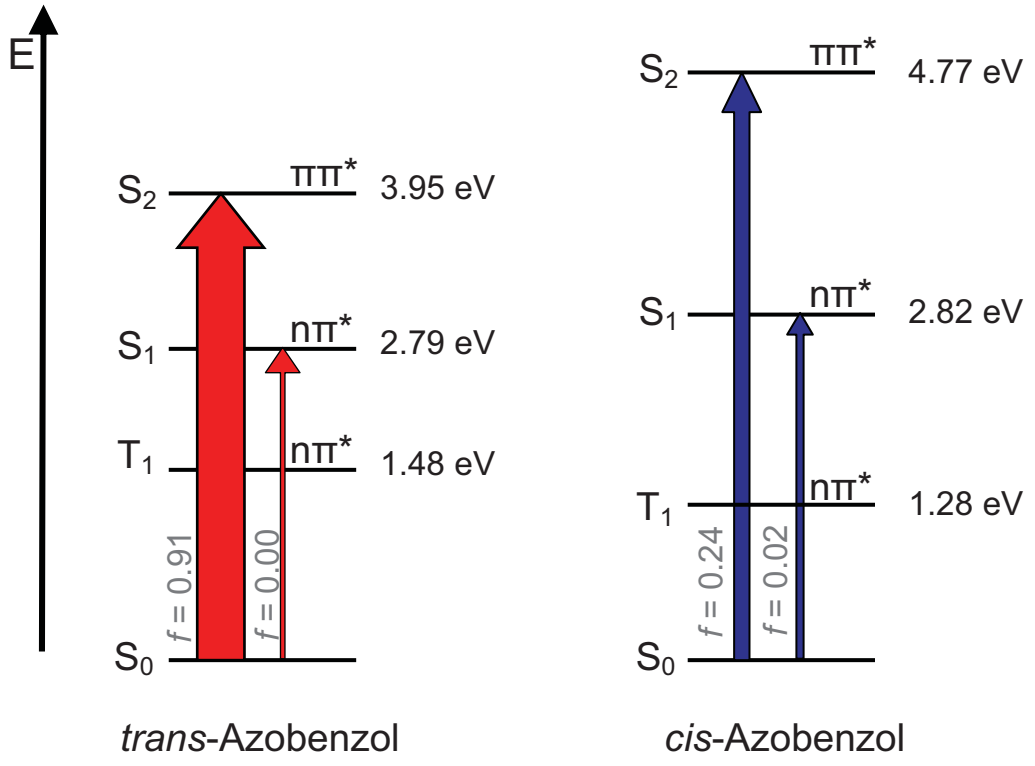


Abbildung 3.46: Energiezustandsdiagramme von *trans*- und *cis*-Azobenzol (**80**). Die Triplettenergien stammen aus DFT Rechnungen. I[22, 60-62]

Die Anregungszustände der beiden Stereoisomere des Azobenzols **80** ähneln sich. Der S_1-Zustand hat überwiegend nπ*-Charakter. Die Übergänge $S_1 \leftarrow S_0$ für das *trans*- bzw. *cis*-Isomer liegen je nach Lösungsmittel bei etwa 450 nm ($\varepsilon \sim 450$) bzw. 430 nm ($\varepsilon \sim 1500$)[22]. Der Übergang $S_2 \leftarrow S_0$ ist eine ππ*-Anregung. Sie liegt bei ca.

320 nm (ε ~ 17000) bzw. 260 nm (ε ~ 5100)[63]. Man erkennt, dass die Anregungsenergien für das *cis*-Isomer kurzwelliger sind.

In den Absorptionsspektren sind primär die $S_2 \leftarrow S_0$ Anregungen zu sehen (Oszillatorstärke: $f_{trans} = 0.92$). Im Falle des *trans*-Azobenzols (**80**) ist der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang symmetrieverboten ($f = 0$) und daher schwach. Die nicht planare Geometrie des *cis*-Azobenzols (**80**) ermöglicht das Mischen der n-Orbitale der Stickstoffe mit dem π-System. Der $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang gewinnt so an Oszillatorstärke ($f = 0.02$) und die ππ*-Anregung $S_2 \leftarrow S_0$ verliert an Intensität ($f = 0.24$).

Durch den S_1-Zustand, der aufgrund des nπ*-Charkters symmetrieverboten ist, gibt es in Azobenzolen einen großen energetischen Abstand zwischen dem ersten angeregten Triplett- und dem optisch hellen Singulettzustand (*Triplet-Singlet Gap*, siehe Kapitel 3.72). Dies weist auf das Potential als Triplettquencher hin, welches auch bereits in der Literatur für aromatische Kohlenwasserstoffe beschrieben wurde.[62] Die Energie des T_1-Zustands von Azobenzol (**80**) wurde je nach Stereoisomer zu 1.48 bzw. 1.28 eV berechnet. Der ππ*-artige T_2-Zustand soll nach quantenmechanischen Rechnungen von *Gagliardi et al*. bei ca. 2 eV liegen. [61] In Hinsicht auf das Löschpotential von Azobenzolen für angeregte Rhodaminfarbstoffe im Triplettzustand ist daher anzunehmen, dass mindestens ein Triplettzustand des Azobenzols unterhalb der Triplettenergie des Rhodaminfarbstoffs liegt (RH123: 1.90 eV bzw. RH110: 2.43 eV; siehe Kapitel 3.7.1). Ein Energietransfer wäre somit exergonisch und damit möglich.

Besonders interessant ist die *trans/cis*- bzw. *E/Z*-Isomerisierung der Azobenzole (siehe Abbildung 3.47). Sie kann katalysiert, photochemisch und thermisch erfolgen. Für die Isomerisierung werden zwei Mechanismen diskutiert: Inversion und Rotation. Am Beispiel von Azobenzol (**80**) sollen die Energieverläufe der Isomerisierungsmechanismen besprochen werden.

Aufgrund des ππ*-Charakters erfolgt sowohl beim *trans*- als auch *cis*-Azobenzol (**80**) eine direkte Anregung bevorzugt in den S_2-Zustand. Durch IC relaxiert das Azobenzol (**80**) in den S_1-Zustand. Durch Drehung der Phenylringe um die N=N Bindung erlangt das Molekül ein energetisches Minimum mit einer konischen Durchdringung (CI) zum S_0-Zustand. Dieser Rotationsmechanismus wird bei Isomerisierungsbetrachtungen bevorzugt, da er in der Regel bei Azobenzolderivaten barrierefrei verläuft.

Je nach Energiebarriere entlang der Inversionsachse des S_1-Zustands ist bei einigen Derivaten, wie dem unsubstituierten Azobenzol **80**, auch ein konzertierter Inversionsmechanismus denkbar. Mit Licht geeigneter Wellenlänge kann man die zwei Stereoisomere von Azobenzolen schalten. Azobenzole werden daher auch als Photoschalter zur Datenspeicherung auf CD-Rs verwendet.[64-67]

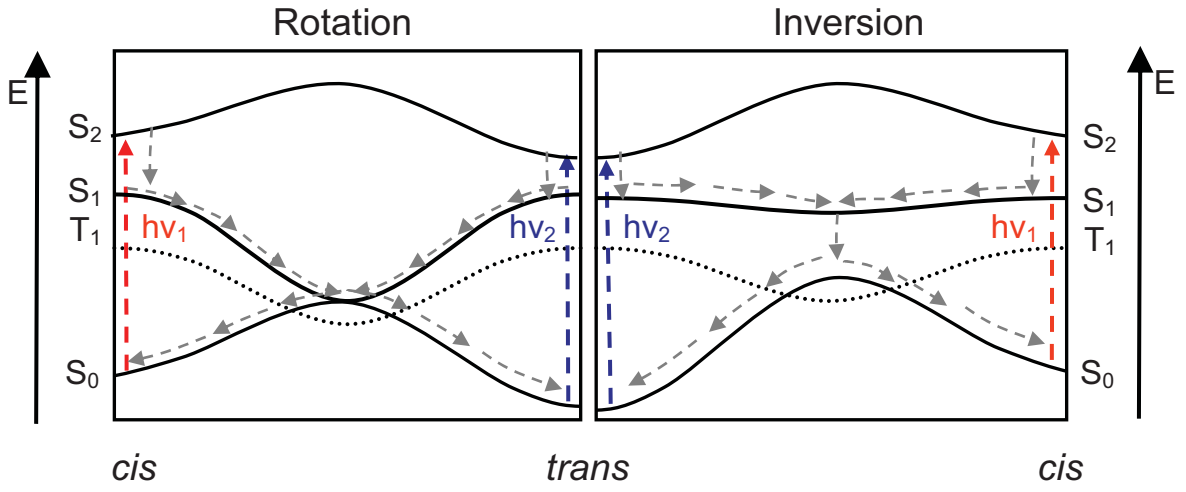


Abbildung 3.47: Schematische Hyperflächen der *cis/trans*-Isomerisierung von Azobenzol (**80**). [59, 61, 68]

Die Durchdringung der Potentialflächen der T_1- und S_1-Zustände ermöglicht eine schnelle Relaxation des angeregten Triplettzustands nach einem Energietransfer.

Die elektronischen Eigenschaften der Azobenzolderivate lassen sich durch die Derivatisierung mit elektronenziehenden und/oder –schiebenden Substituenten modifizieren. So lassen sich auch die Redoxpotentiale verschieben. Das Reduktionspotential von Azobenzol (**80**) wurde cyclovoltametrisch zu E_{red} = -0.75 V bestimmt.[44] Das Oxidationspotential beträgt E_{ox} = 2.12 V. Damit eine Photooxidation bzw. Photoreduktion vom Rhodaminfarbstoff RH123 **54** nicht stattfindet, muss das Reduktionspotential $E^0_{Q \Rightarrow Q^{\bullet -}}$ < -1.17 V und das Oxidationspotential $E^0_{Q \Rightarrow Q^{\bullet +}}$ > 1.71 V sein (siehe Kapitel 3.6.2.2). Demnach ist Azobenzol (**80**) in der Lage RH123 **54** zu photooxidieren aber nicht zu reduzieren.

Daraus ergibt die Zielsetzung im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Azobenzolderivate Derivate mit unterschiedlichen Substituenten zu synthetisieren.

3.9 Synthese und Charakterisierung potentieller Quencher

Ein Ziel dieser Arbeit ist es eine Bibliothek von potentiellen Quencher zu synthetisieren. Die Verbindungen sollen folgende Substanzklassen vertreten:

- **C**yclo**o**cta**t**etraene **COT**
- **Dip**henyl**d**ecapentaenen **DPD**
- **Dip**henyl**h**exatriene **DPH**
- **A**zo**b**enzole **AB**

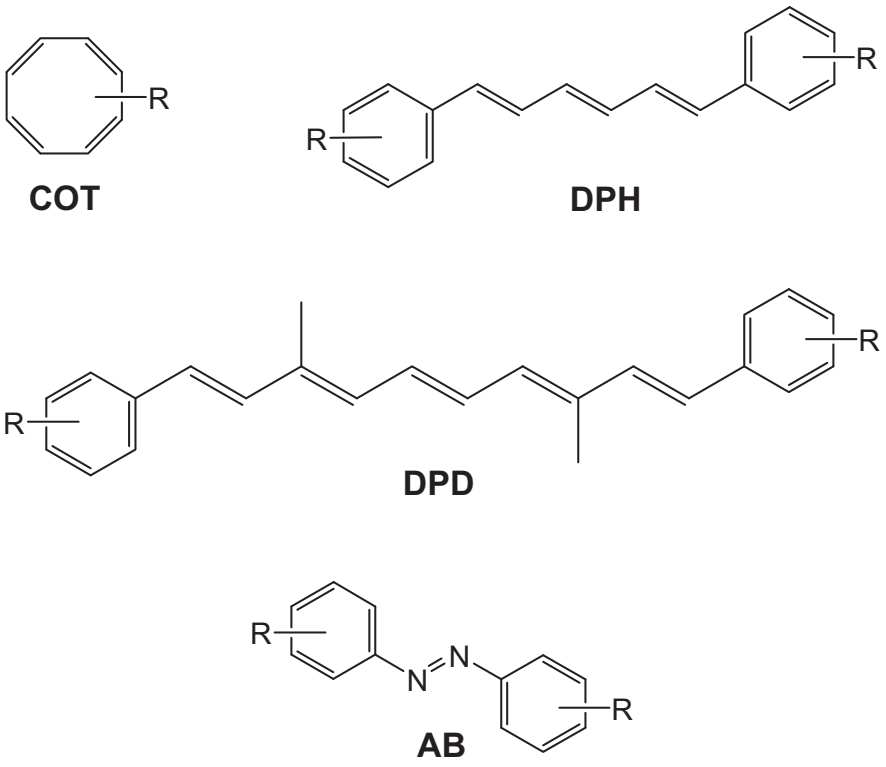


Abbildung 3.48: Allgemeine Strukturen von Cyclooctatetraen- (**COT**), Diphenyldecapentaen- (**DPD**), Diphenylhexatrien- (**DPH**) und Azobenzolderivaten (**AB**).

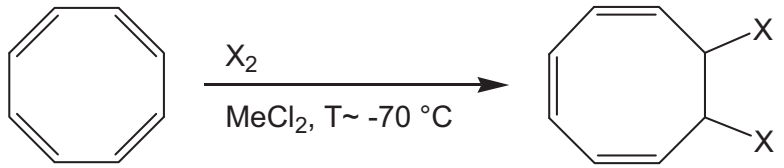
Es werden Derivate mit unterschiedlichsten Substituenten hergestellt. Ihre Eignung als Quencher für den angeregten Triplettzustand von Fluoreszenzfarbstoffen wird untersucht. Ein möglicher Zusammenhang von Struktur und Quenchpotential soll erarbeitet werden, um Prognosen über das Verhalten weiterer, nicht synthetisierter Verbindungen abgeben zu können bzw. gezielte Synthese geeigneter Quencher zu ermöglichen.

3.9.1 Cyclooctatetraenderivate

Cyclooctatetraen (**63**) ist ein bekannter Triplettquencher für Rhodaminfarbstoffe.[52-54] Im Rahmen dieser Arbeit wurden weitere Cyclooctatetraenderivate für Untersuchungen synthetisiert.

3.9.1.1 Synthese

Eine Synthesestrategie für substituierte **COT** beginnt mit der Halogenierung von Cyclooctatetraen (**63**).[49, 69, 70]

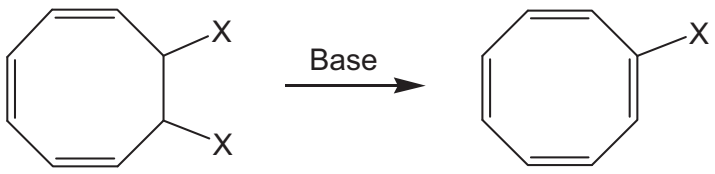


63 **82**

X: Cl oder Br

Abbildung 3.49: Halogenierung von Cyclooctatetraen (**63**).

Die anschließende Abspaltung von Halogenwasserstoff aus dem Dihalogenid **82** mittels einer Base gibt Chlor- bzw. Bromcyclooctatetraen (**83**). Als Basen werden z. B. Phenyllithium [69], Natriummethanolat, Kaliumhydroxid oder Kalium-*tert*-butanolat [70] verwendet.



82 **83**

X: Cl oder Br

Abbildung 3.50: Abspaltung von Halogenwasserstoff aus 7,8-Dihalogen-cyclooctatrien (**83**).

Das Bromcyclooctatetraen (**83**) dient als Ausgangssubstanz für verschiedenste COT-Derivate. Durch eine Metathesereaktion mit Lithiumorganylen erhält man das Cyclooctatetraenlithium (**84**).[71, 72] Dieses kann z. B. mit elementarem Jod zum Jodcyclooctatetraen (**85**) umgesetzt werden oder mit Brommethan (**86**) alkyliert werden.[70]

Ausgehend von den monohalogenierten COT-Derivaten **83** ist eine weitere Derivatisierung über Grignard-Reaktionen möglich. [73, 74] Diese metallorganische Syntheseroute wurde 2007 von *M. Ludwig* in ihrer Diplomarbeit im Rahmen dieses Projekts verfolgt.[75] Ihr Ziel war es über eine Grignard-Reaktion des Bromcyclooctatetraens (**83**) mit Kohlendioxid die Cyclooctatetraencarbonsäure (**COT01**) herzustellen. Ihr gelang die Synthese des Bromcyclooctatetraens (**83**) in einer Ausbeute von 42 %. Die anschließende Umsetzung schlug jedoch fehl.

Auch eine Williamsche Ethersynthese ist mit Bromcyclooctatetraens (**83**) zu COT-Alkylethern möglich.[74]

Käuflich erwerbbare Cyclooctatetraenderivate sind teuer. Das unsubstituierte Cyclooctatetraen **63** ist mit ca. 30 €/g das günstigste Derivat.

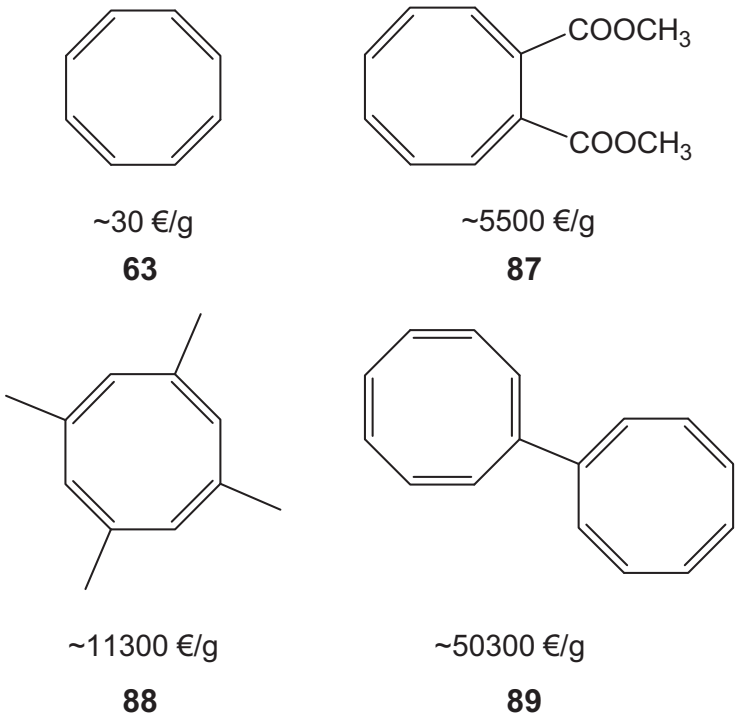


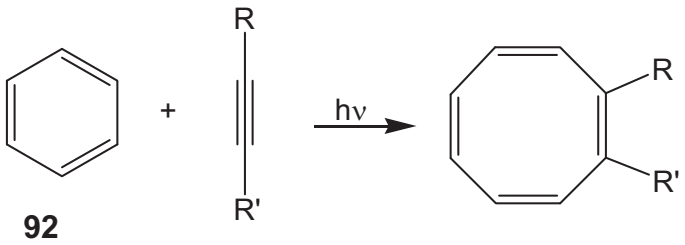
Abbildung 3.51: Ausgewählte Beispiele käuflicher Cyclooctatetraenderivate (Stand Februar 2011, Sigma-Aldrich).

Weitere Syntheseversuche nach dieser Strategie erscheinen daher kostspielig. Eine Synthesestrategie die den Aufbau des COT-Chromophors aus gängigen Edukten beinhaltet und somit größere Ansätze ermöglicht ist sinnvoller.

Willstätter und Waser publizierten 1911 eine mehrstufige Synthese des Cyclooctatetraens **63**, die auf dem Pseudopelletierin (**90**) (auch Granatonin genannt) basiert. Es ist ein Alkaloid, welches aus der Granatfrucht extrahiert werden kann.[76] Die erste veröffentliche Synthese, die sich nicht auf einen Naturstoff stützte, stammt aus 1948 von *Reppe et al.*[49] Dabei wird unter Druck aus Acetylen mit einem Nickelcyanidkatalysator (**65**) Cyclooctatetraen (**63**) gewonnen (siehe Abbildung 3.35).

Im Laufe der Jahre sind weitere Synthesen veröffentlicht worden. Meist sind es Metallkatalysator gestützte Cycloadditionen von Olefinbausteinen.[77]

Bryce-Smith et. al. stellten 1963 eine photochemische Syntheseroute für Cyclooctatetraenderivate vor.[78] Sie berufen sich dabei auf frühere Beobachtung von 1,2- und 1,4-Photoadditionen von Maleinsäureanhydrid (**91**) an Benzol (**92**) [79-81] sowie Versuche von *Grovenstein et Rao* mit Dimethylacetylendicarbonsäure (**93**).[82] Sie bestrahlten Lösungen aus Benzol (**92**) mit Acetylenbausteinen und erhielten so substituierte COT.



92

Abbildung 3.52: Reaktionsschema einer Cyclooctatetraensynthese nach *Bryce-Smith et Lodge*[78].

Ihre Synthese für Methylcycloocta-1,3,5,7-tetraencarboxylat (**COT02**) wurde 1976 von *Grunewald et al.* aufgegriffen und weiter ausgearbeitet. [83]

V22: In Anlehnung an diese Versuche wird der COT-Methylester **COT02** synthetisiert. Dazu wird eine Mischung aus Methylpropiolat (**94**) und Benzol (**92**) in einem Quarzreaktor mit einer Quecksilberdampflampe (254 nm) bestrahlt. Beim Bestrahlen verfärbt sich die Reaktionslösung gelb. Dies ist auf die Produktbildung zurückzuführen. Wenn die Farbtiefe der Lösung sich augenscheinlich nicht mehr ändert werden die flüchtigen Edukte **92** und **94** unter verminderten Druck am Rotationsverdampfer entfernt und erneut bestrahlt, während das Produkt **COT02** zurückbleibt.

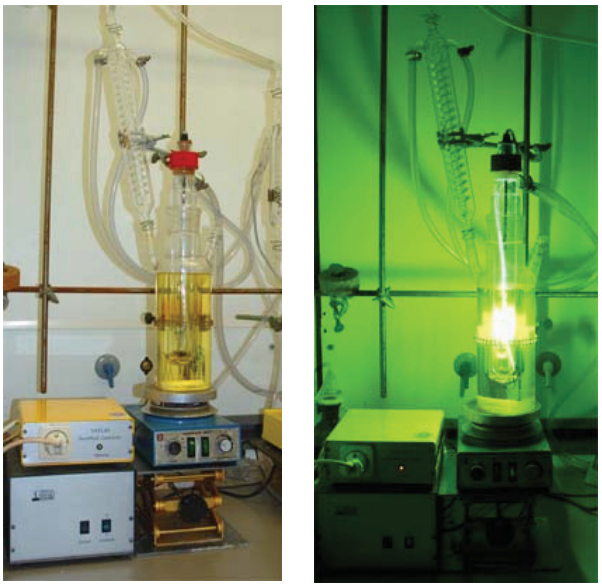
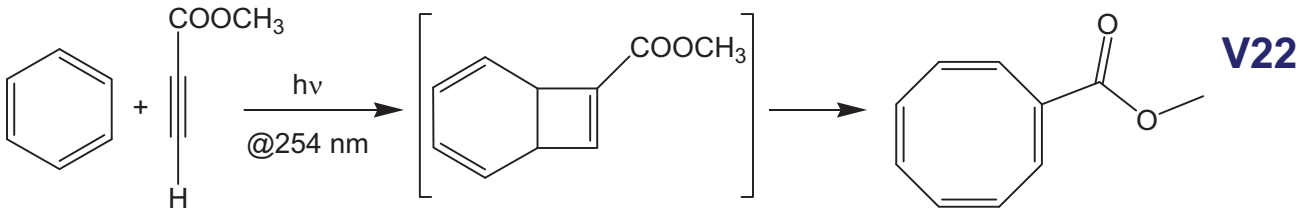


Abbildung 3.53: Bestrahlungsapparatur aus Quarzglasreaktor und Quecksilberdampflampe mit einem Syntheseansatz für Methylcyclooctatetraencarboxylat **COT02**. Links: aus; rechts: an.



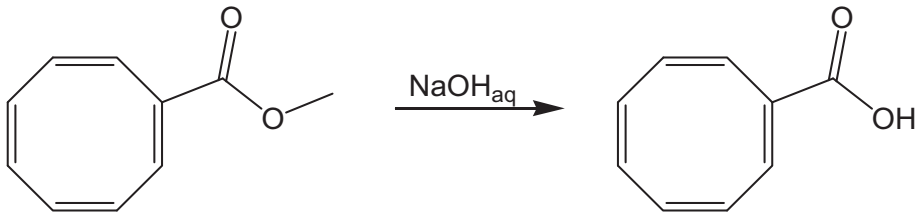
V22

92 **94** **COT02**

Diese Prozedur wiederholt sich bis keine Verfärbung der Lösung mehr stattfindet. Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt. Man erhält den COT-Methylester **COT02** in einer Ausbeute von > 10 %.

V23: Die Umsetzung zur COT-Carbonsäure **COT01** verläuft über die Hydrolyse des Ester **COT02** mit Natronlauge.[78]

V23



COT02 **COT01**

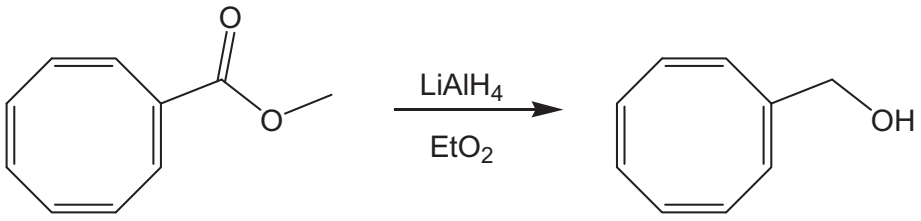
Nach der Extraktion erhält man das Produkt **COT01** als kristallinen gelben Feststoff in einer Ausbeute von 90 %.



Abbildung 3.54: Cycloocta-1,3,5,7-tetraencarbonsäure (**COT01**).

V24: Durch die Reduktion des **COT**-Methylester **COT02** mit Lithiumaluminiumhydrid wird Methyl-cycloocta-1,3,5,7-tetraenylmethanol (**COT03**) dargestellt.[83]

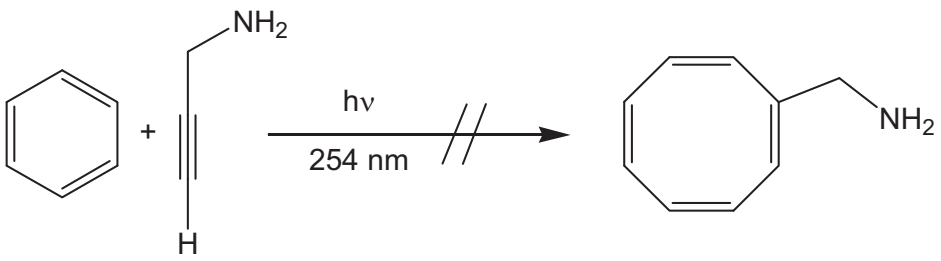
V24



COT02 **COT03**

Säulenchromatographische Reinigung ergibt den COT-Alkohol **COT03** als gelbes Öl in einer Ausbeute von 50 %.

Analog zum Versuch 23, in dem der COT-Methylester **COT2** aus Methylpropiolat (**94**) und Benzol (**92**) hergestellt wurde, wird versucht das COT-Amin **95** durch die Bestrahlung von Propargylamin und Benzol darzustellen.



92 **96** **95**

Die Reaktion wird ebenfalls in einem Quarzglasreaktor mit einer Quecksilberdampflampe als Strahlungsquelle durchgeführt. Die flüchtigen Bestandteile werden im Vakuum eines Rotationsverdampfers entfernt Das so isolierte Rohprodukt beginnt beim Kontakt mit Luft stark zu rauchen. Es wird daher sofort in deuteriertem Benzol aufgenommen. In einem aufgenommenen NMR-Spektrum konnte kein COT-Amin **95** nachgewiesen werden. Auf weitere Untersuchung zur Identifizierung des gebildeten Produkts wurde verzichtet.

3.9.1.2 Redoxpotentiale und Übergangsenergien von COT-Derivaten

Die drei synthetisierten COT-Derivate **COT01**, **COT02** und **COT03** zeigen, wie erwartet, ein ähnliches Absorptionsverhalten (siehe Versuchsbeschreibungen). Dies lässt eine vergleichbare Verteilung der Energiezustände annehmen und damit ein ähnliches Löschverhalten der Derivate wie von unsubstituierten Cyclooctatetraen **63** vermuten. Um diese These zu kontrollieren wird die Carbonsäure **COT01** mit Cyclooctatetraen (**63**) verglichen. Die Eigenschaften von Interesse sind die Redoxpotentiale und Zustandsenergien.

Redoxpotentiale: Die Redoxpotentiale von Cyclooctatetraen (**63**) und der Cyclooctatetraencarbonsäure (**COT01**) wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* cyclovoltametrisch bestimmt.[44]

Tabelle 3-4: Redoxpotentiale von Cyclooctatetraen (**63**) und **COT01** gemessen vs. NHS.[44]

	E^{ox}_{NHS} /V	E^{red}_{NHS} /V
*Cyclooctatetraen (**63**)*	*1.76*	*-1.79*
*Cyclooctatetraencarbonsäure (**COT01**)*	*1.69*	*-1.30*

Das Oxidationspotential von Cyclooctatetraen (**63**) wurde von *Eberson et Nyberg* mit einer Kalomel-Elektrode (**s**aturated **c**alomel **e**lectrode: SCE) zu E^{ox}_{SCE} = 1.42 V bestimmt.[84] Der Korrekturwert zur Normal-Wasserstoffelektrode (**n**ormal **h**ydrogen **e**lectrode: NHE) wird mit $E_{NHE} = E_{SCE} + 0.24$ V angegeben[85]. Für das Oxidationspotential vs. NHS ergibt sich daraus ein Wert von E^{ox}_{NHS} = 1.68 V. Dieses Oxidationspotential stimmt im Rahmen der Messgenauigkeit mit den 1.69 V überein, die von Pffifi bestimmt wurden.[44]

Ermittelt man die freie Enthalpie ΔG^0 eines Elektronentransfers zwischen angeregtem Rhodamin 123 (**54**) und **63** bzw. **COT01** in Wasser nach *Rehm-Weller* (siehe Kapitel 3.7.3) so erhält man für die Reduktion des Fluorophors Werte unter Null.

Tabelle 3-5: Enthalpien der Reduktion bzw. Oxidation des S_1 bzw. T_1-angeregten Rhodamin 123 (**54**) ($E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1)$ = 2.32 eV, $E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@T_1)$ = 1.90 eV).

	ΔG^0_{red}/eV		ΔG^0_{ox}/eV	
	S_1	*T_1*	*S_1*	*T_1*
*Cyclooctatetraen (**63**)*	*0.05*	*0.49*	*0.62*	*1.04*
COT01	*-0.02*	*0.40*	*0.13*	*0.55*

Die Enthalpie einer möglichen Reduktion durch die COT-Carbonsäure **COT01** ist mit -0.02 eV nur leicht exergonisch. Da die Herleitung dieser Enthalpiewerte sich u. A. auf quantenmechanisch errechnete Zustandsenergien stützt und die Rehm-Weller-Gleichung nur eine Nährung darstellt, sind geringe Abweichungen zu den tatsächlichen Werten nicht auszuschließen. Weiterhin unterscheiden sich Anregungsenergie mit der Polarität des verwendeten Lösungsmittels. Ob ein zugesetztes COT-Derivat tatsächlich ein angeregtes Rhodamin 123 (**54**) reduzieren kann, muss experimentell geklärt werden.

Übergangsenergien: Die vertikale Anregungsenergie des T_1-Zustands $E(^1Q_0@S_1 \rightarrow {}^1Q_1@T_1)$ von Cyclooctatetraen (**63**) wurde von *Frueholz et Kuppermann* mittels Elektronenspektroskopie zu 3.05 eV bestimmt[86]. Die Anregungsenergie $E(^1Q_0@S_1 \rightarrow {}^1Q_1@T_1)$ der COT-Carbonsäure **COT01** wurde von *C. Marian* quantenmechanisch zu 2.75 eV errechnet[87]. Die vertikale Emissionsenergie des ersten angeregten Triplettzustands von Rhodamin 123 (**54**) wurde zu 1.90 eV bestimmt.

Tabelle 3-6: Vertikale Triplettanregungs- und Triplettemissionsenergien von ausgewählten COT-Derivaten und Rhodamin 123 (**54**).

	$E(^1Q_0@S_1 \rightarrow {}^1Q_1@T_1)$/eV	$E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@T_1)$/eV
63	*3.05*[86]	
COT01	*2.75*[87]	
RH123		*1.90*[87]

Für einen effektiven Triplettenergietransfer muss die Triplettanregungsenergie eines Quenchers wenige kcal unterhalb der zu transferierenden vertikalen Triplett-emissionsenergie des Fluorophors liegen. Vergleicht man die Energien der Übergänge der COT-Derivaten mit den 1.90 eV der Triplettemission von Rhodamin 123 (**54**) so erkennt man, dass diese deutlich größer sind und ein Energietransfer, daher unwahrscheinlich. Es ist jedoch bekannt, dass dieser dennoch stattfindet. Der Grund liegt in den Konformationsänderungen des COT-Grundgerüsts (siehe Abbildung 3.34). Durch die Umwandlung der planaren Form in die Wannenform steigt die Zustandsenergie im Grundzustand. Gleichzeitig sinkt der Singulett-Triplett-Abstand. Diese geometriebedingte Abnahme der Triplettanregungsenergie macht einen Energietransfer möglich.[44]

3.9.1.3 FCS-Messungen von COT-Derivaten

Leistungsabhängige FCS-Messungen an Rhodamin 123 (**54**) mit COT-Carbonsäure **COT01** als Quencherzusatz in Ethanol wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* durchgeführt[44]. Dabei wurde **COT01** in Konzentrationen bis 726 µM zugesetzt. Die Messungen sind in Abbildung 3.55 dargestellt. Man kann erkennen, dass die Triplettamplitude des Rhodamin 123 (**54**) mit zunehmender Quencherkonzentration sinkt (schwarzer Pfeil).

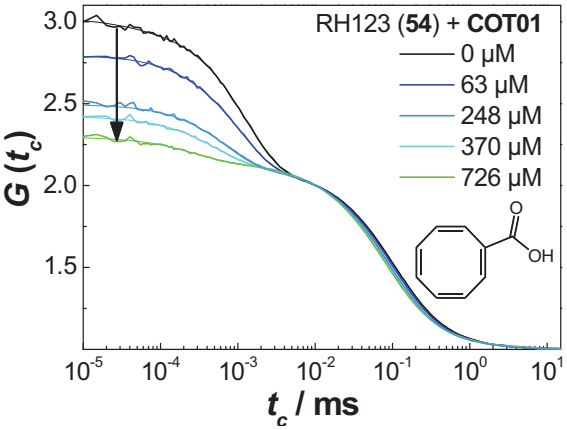


Abbildung 3.55: Normierte FCS-Kurven von Rhodamin 123 (**54**) mit **COT01** unterschiedlicher Konzentration.

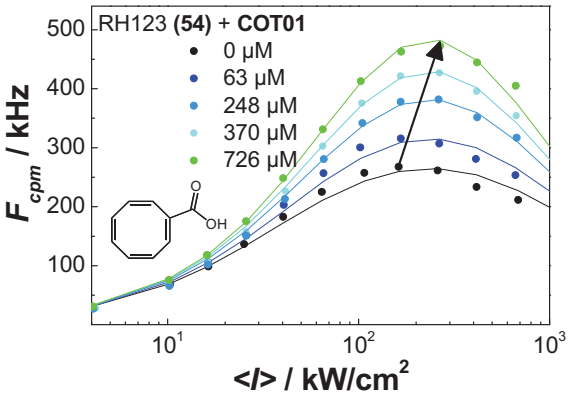


Abbildung 3.56: Fluoreszenzrate von Rhodamin 123 (**54**) mit **COT01** unterschiedlicher Konzentration.

In Abbildung 3.56 ist die Fluoreszenzzählrate pro Fluorophormolekül aufgetragen. Als Konsequenz der Löschung des Triplettzustands steigt wie vorhergesagt die Fluoreszenzzählrate mit der Menge des zugesetzten Quenchers an. Bei einer Zugabe von **COT01** in einer Konzentration von 726 µM gelang es die Fluoreszenz zu verdoppeln.

Eine leichte Verschiebung des Kurven Maximums ist durch die Quencherzugabe zu höheren Laserleistungen zu beobachten. Dies bedeutet, dass die Stabilität des Rhodamins durch die Zugabe von **COT01** gesteigert werden konnte.

Diese Untersuchungen zeigen, dass Cyclooctatetraenderivate wie das unsubstituierte Cyclooctatetraen **63** als Quencher für den angeregten Triplettzustand von Rhodaminfarbstoffen geeignet sind. Als Additive können sie die Fluoreszenz steigern und die Stabilität erhöhen.

3.9.2 Diphenyldecapentaene

Diphenyldecapentaene (**DPD**) können als Carotinoide mit verkürztem Polyensystem betrachtet werden. Die Kombination des großen Singulett-Triplet Abstand von Carotinoiden und die erhöhte Redoxstabiltät durch das verkleinerte Polyensystem lässt eine Eignung als Quencher für Rhodaminfarbstoffe erwarten.
Im Rahmen dieser Arbeit werden Diphenyldecapentaenderivate synthetisiert und ihre Löscheigenschaften überprüft.

3.9.2.1 Synthese

Als Carotinoid ähnliche Verbindungen liegt es nahe die Diphenyldecapentaenderivate aus Bausteinen aufzubauen, die für die Synthese klassischer Carotinoide eingesetzt werden. Die Moleküle lassen sich in zwei Komponenten unterteilen: die Polyenkette und die Endgruppen.

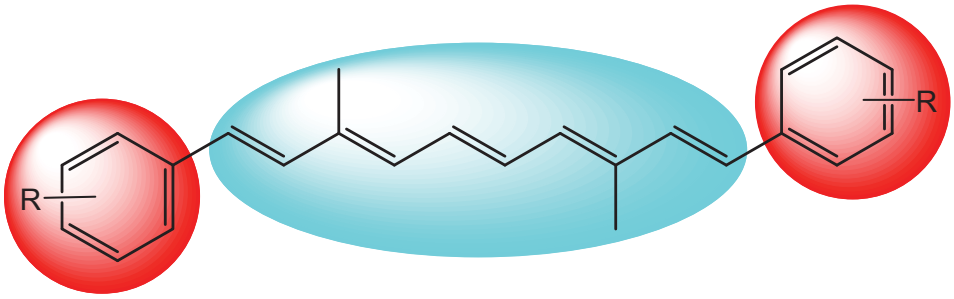


Abbildung 3.57: Unterteilungsschema der Struktur von Diphenyldecapentaenderivaten in Synthesebausteine. Polyenkette: hellblau; Endgruppen: rot.

Die Einzelkomponenten sollen über eine Wittig-Reaktion verknüpft werden. Als Mittelbaustein wird 2,7-Dimethyl-2,4,6-trien-1,8-dial (**97**) eingesetzt, welches von der BASF AG zur Verfügung gestellt wurde. Zur Kopplung der Endgruppen müssen diese als Phosphoniumsalze vorliegen. Diese können durch die Umsetzung von Triphenylphosphin (**98**) mit Alkylhalogeniden oder Triphenylphosphoniumhydrohalogenid (**99**) und Alkoholen dargestellt werden.

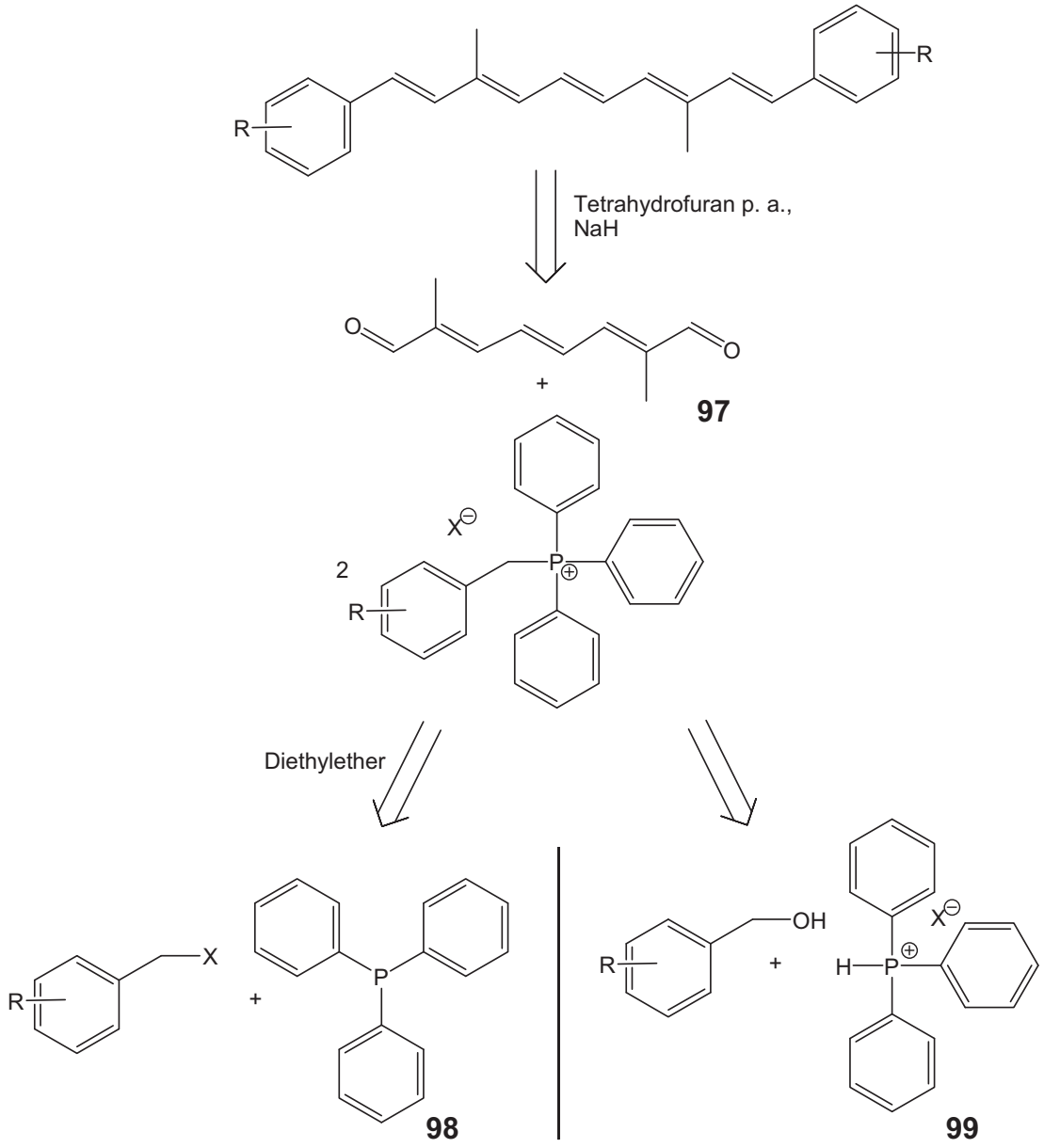
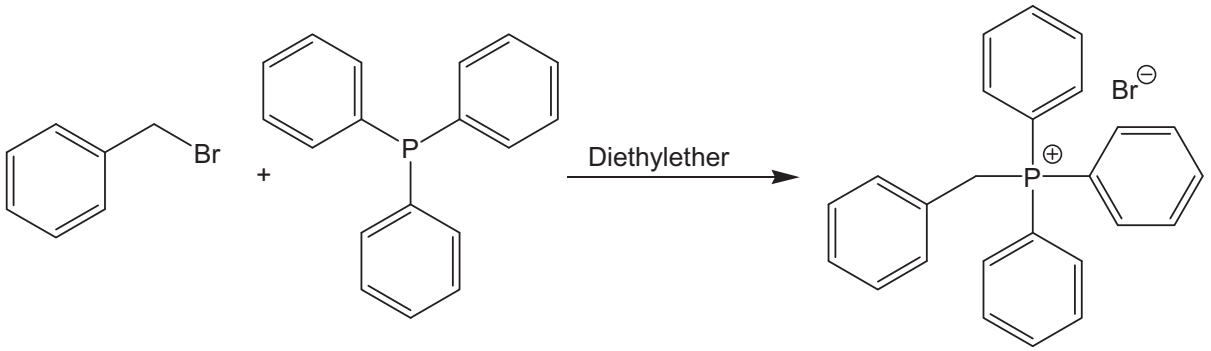


Abbildung 3.58: Syntheseschema für den Aufbau von Diphenyldecapentaenderivaten.

V25: Für die Synthese des unsubstituierten, aromatischen Diphenyldecapentaen **DPD01** muss zunächst das benzylische Phosphoniumsalz **100** als Endgruppe synthetisiert werden.[88]

Es werden Triphenylphosphin (**98**) und Benzylbromid (**101**) in Diethylether zum Rückfluss erhitzt.

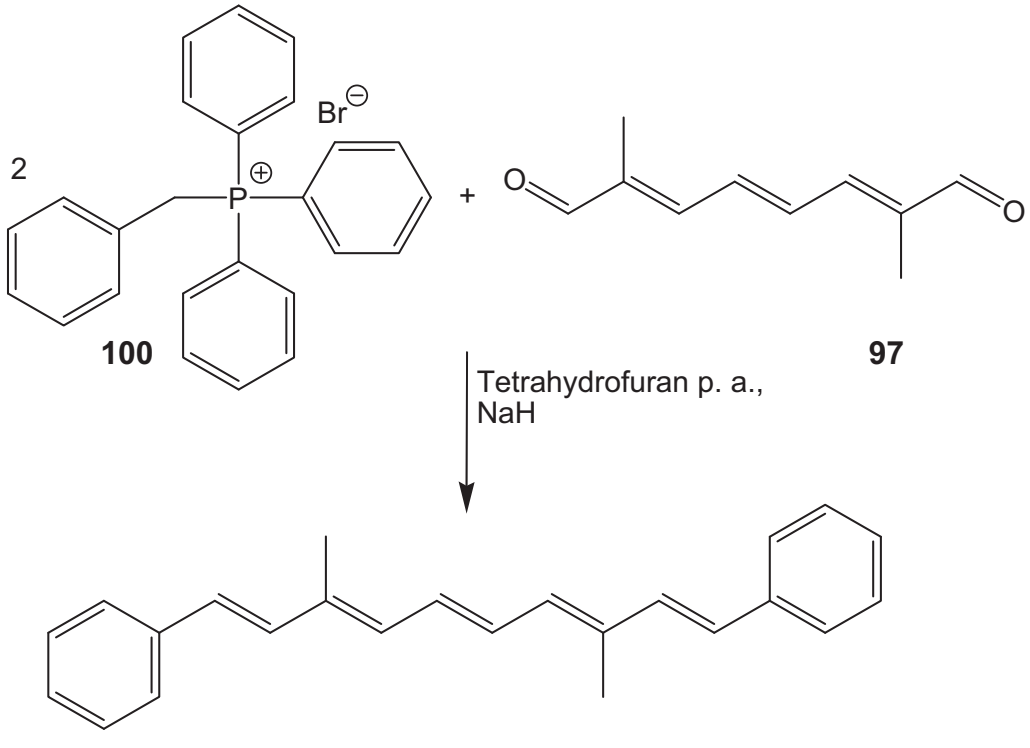


V25

101 **98** **100**

Das Produkt **100** wird in einer Ausbeute von 69 % als ausfallender Feststoff abfiltriert.

V26: Zur Synthese von 3,8-Dimethyl-1,10-diphenyldeca-1,3,5,7,9-pentaen (**DPD01**) wird das hergestellte Triphenylphosphonium-bromid **100** in einer doppelten Wittig-Reaktion beidseitig an 2,7-Dimethyl-2,4,6-trien-1,8-dial (**97**) gekoppelt.[89, 90]



V26

100 **97**

DPD01

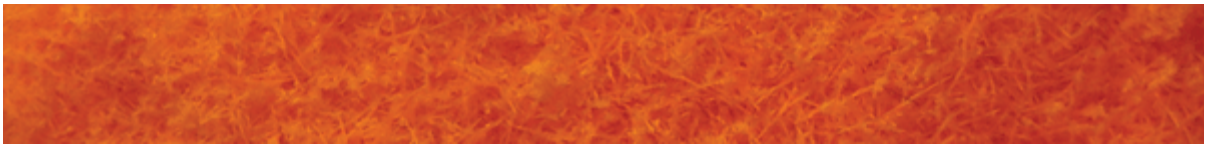
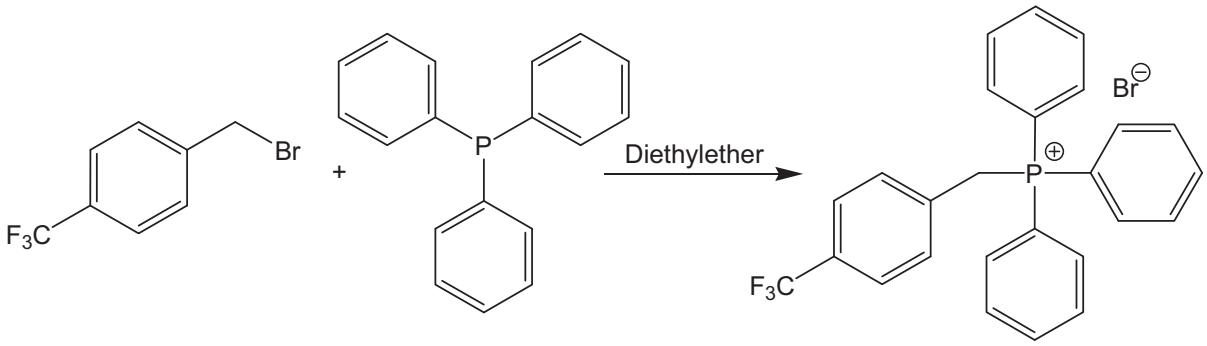


Abbildung 3.59: Orangefarbene Kristalle von **DPH01.**

Die Umsetzung erfolgt in Tetrahydrofuran mit Natriumhydrid als Base. Die Ausbeute des benzylischen Diphenyldecapentaen **DPD01** beträgt 48 %.

Als weiteres elektronenarmes Derivat soll das in 4-Position trifluormethylsubstituierte Diphenyldecapentaen **DPD02** synthetisiert werden.

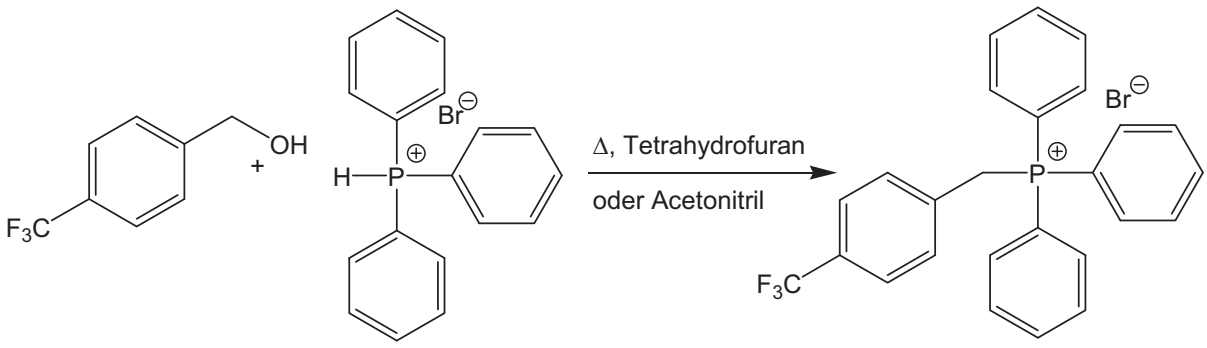
V27: Für die Endgruppe wird Triphenyl-[(4-triflourmethyl)benzyl]phosphonium-bromid (**102**) hergestellt.[91] Wie bei V25 wird das Benzylhalogenid mit Triphenylphosphin (**98**) in Diethylether umgesetzt. Es gelingt, das Produkt **102** in einer Ausbeute von 38 % zu erhalten.



V27

103 **98** **102**

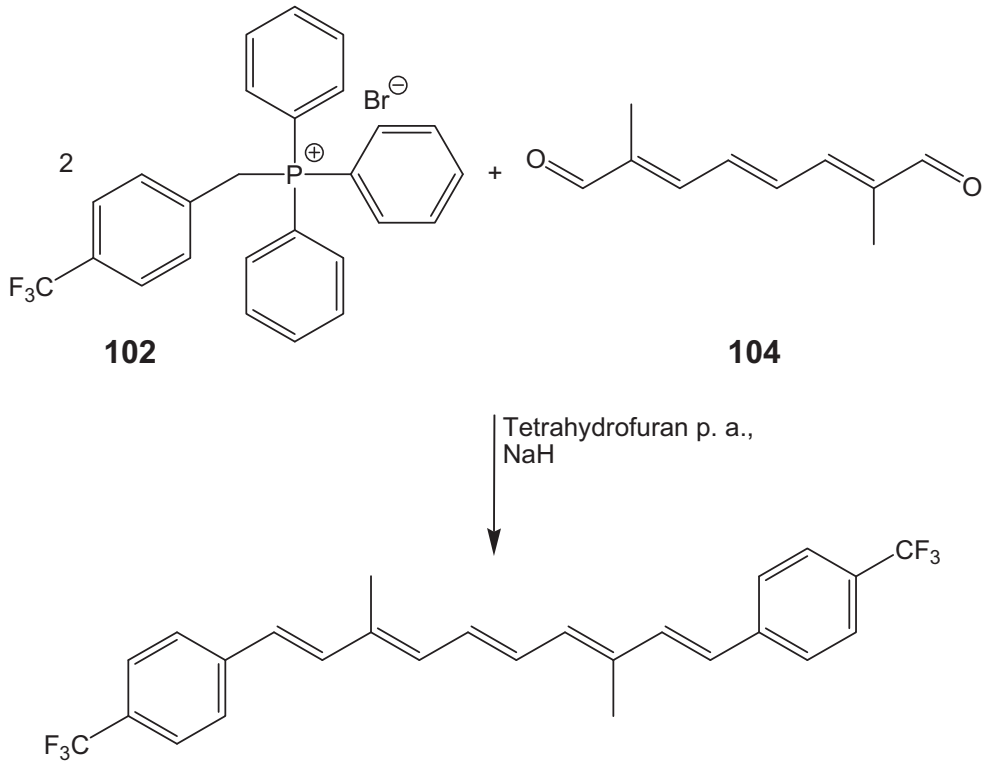
Bei Versuchen das Phosphoniumsalz **102** aus Triphenylphosphoniumhydrobromid (**99**) und 4-(Trifluormethy)benzylalkohol (**104**) analog dem ersten Schritt einer Appel-Reaktion darzustellen, konnte die Produktbildung in Spuren beobachtet werden. Es gelang jedoch nicht das Produkt **102** in analytischen Mengen zu isolieren.



104 **99** **102**

V28: Die Umsetzung des Phosphoniumsalz **102** zum Diphenyldecapentaen Derivat **DPD02** erfolgt wie zuvor bei V26 in einer Wittig-Reaktion mit Natriumhydrid.

V28



102 **104**

DPD02

Das orangefarbene Produkt **DPD02** wird in einer Ausbeute von 14 % erhalten.

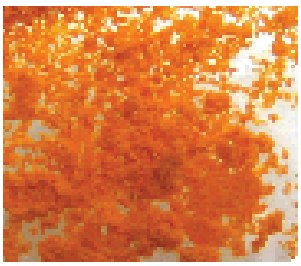


Abbildung 3.60: DPD02 in Form eines orangefarbenen Feststoffs.

3.9.2.2 UV-spektroskopische Untersuchung

Die Absorption der Diphenyldecapentaene **DPD01** und **DPD02** liegt zwischen 325 und 475 nm.

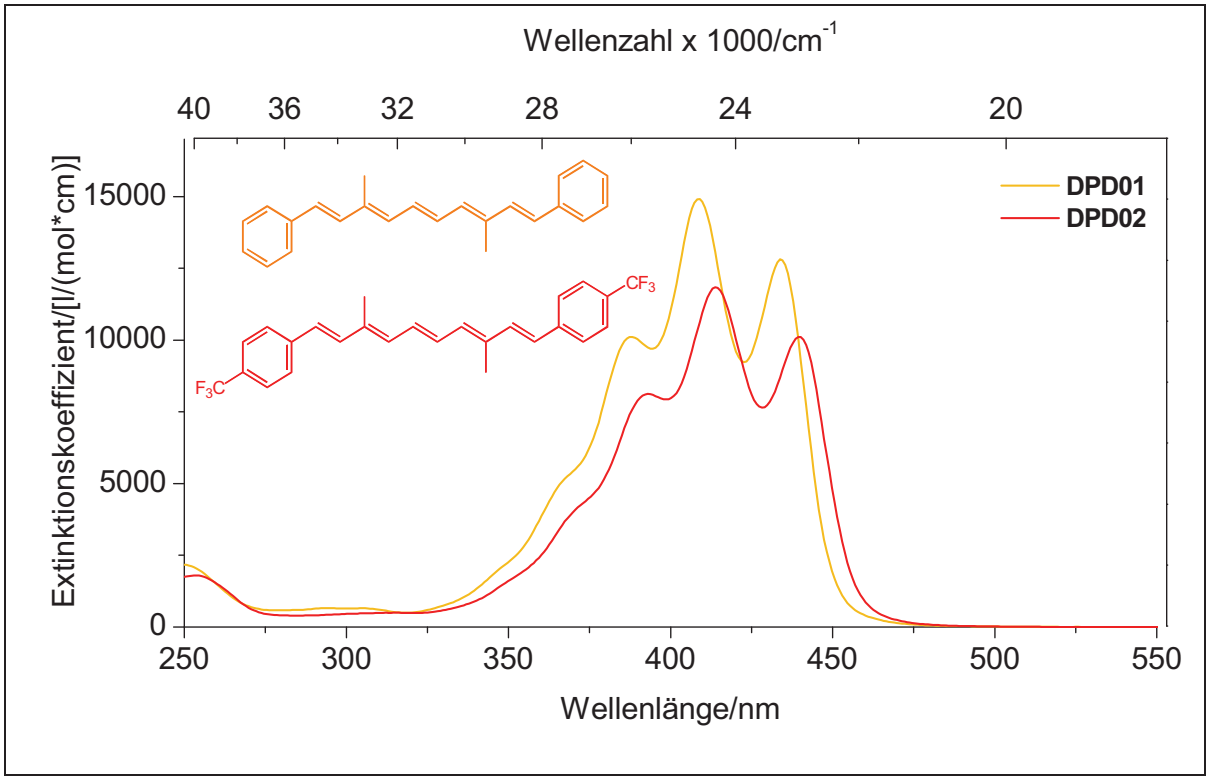


Abbildung 3.61: UV-Spektren von den Diphenyldecapentaenen **DPD01** und **DPD02** gemessen in Chloroform.

Rhodaminfarbstoffe absorbieren zwischen 425 und 550 nm. Ihre Fluoreszenz wird im Bereich von 500 und 650 nm emittiert. Bei den einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen wird ein Argon-Ionen-Laser der Wellenlänge 496.5 nm verwendet. Die spektrale Nähe der DPD-Absorption zu der Anregungswellenlänge des Lasers und der detektierten Fluoreszenz macht FCS-Messungen an Rhodaminen mit zugesetzten Diphenyldecapentaenen unmöglich. Für die Durchführung von Fluorophor-Löscher Studien mit Rhodaminfarbstoffen werden hypsochromer absorbierende Verbindungen benötigt.

3.9.3 Diphenylhexatriene

Diphenylhexatriene, DPH, können eben wie die Diphenyldecapentaene, DPD, als Carotinoide mit verkürztem Polyensystem betrachtet werden. Im vorherigen Kapitel wurde beschrieben, dass die Absorption von DPD zu bathochrom ist. Die Absorption von DPH hingegen ist durch das kürzere Polyensystem zu kürzeren Wellenlängen verschoben.

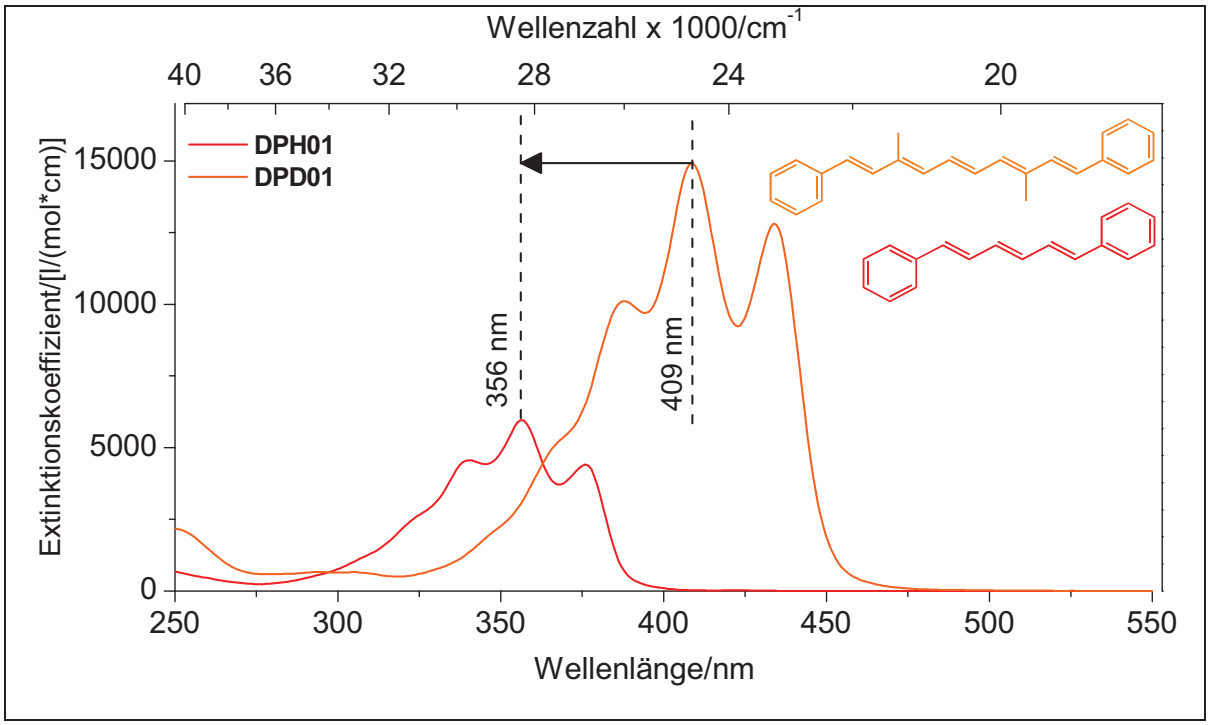


Abbildung 3.62: UV-Vis-Spektren von den unsubstituierten **DPH01** und **DPD01** gemessen in Chloroform.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Bibliothek von Diphenylhexatrienen synthetisiert und untersucht.

3.9.3.1 Synthese

Der Aufbau der Diphenylhexatriene lehnt sich wie bei den Diphenyldecapentaenen aus Kapitel 3.92 an der klassischen Synthese von Carotinoden an. Auch die DPH lassen sich in die Polyenkette und die Endgruppen unterteilen.

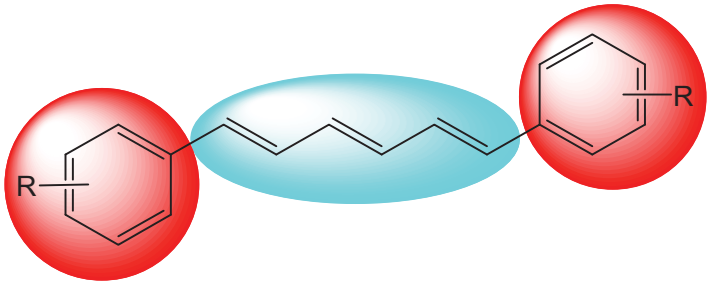
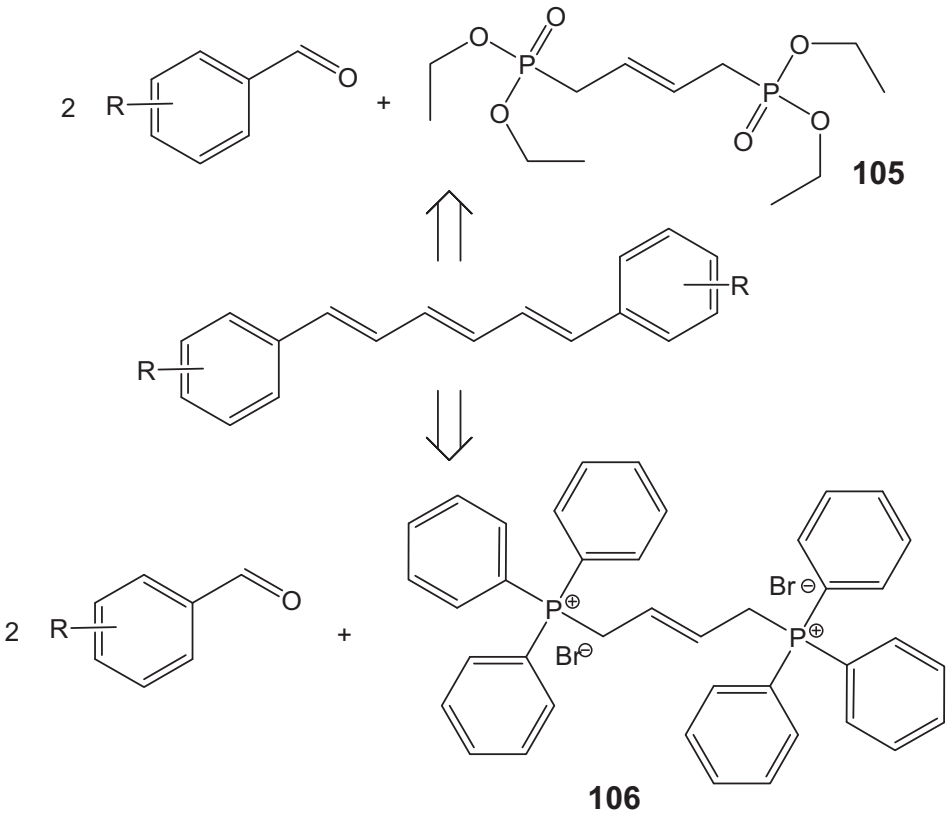
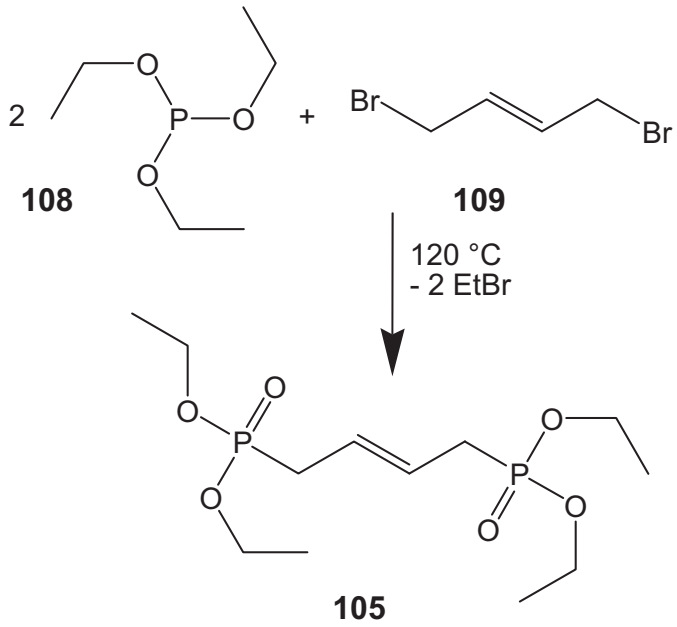


Abbildung 3.63: Unterteilungsschema der Struktur von Diphenylhexatrienderivaten in Synthesebausteine. Polyenkette: hellblau; Endgruppen: rot.

Die Einzelkomponenten sollen über eine doppelte Horner-Wadsworth-Emmons- oder Wittig-Reaktion verknüpft werden. Als Bausteine für die Endgruppen kommen verschiedene Benzaldehyde zum Einsatz. Der Mittelbaustein kann ein Bisphosphonat oder Bisphosphoniumsalz sein.



V29: Das Bisphosphonat **105** lässt sich durch eine doppelte Arbuzov-Reaktion aus 1,4-Dibrombut-2-en (**107**) und Triethylphosphit (**108**) darstellen.[92] Durch das Erhitzen der beiden Substanzen wird die Reaktion in Gang gebracht. Das entstehende Ethylbromid (**109**) wird während der Synthese abdestilliert. Nach destillativer Reinigung erhält man 2-Buten-1,4-ylen-bis(diethylphosphonat) (**105**) in einer Ausbeute von 93 %.



V29

Das Bisphosphoniumsalz But-2-en-1,4-diylbis[(triphenylphosphonium)-bromid] (**106**) stand aus Arbeiten von *O. Fahr* zur Verfügung.[93]

Die Synthesen der Diphenylhexatriene erfolgen nach dem am Anfang des Kapitels vorgestelltem Schema. Sie werden in der Regel in absolutem Tetrahydrofuran durchgeführt. Als Base findet vorrangig eine 60%ige Suspension von Natriumhydrid in Mineralöl Anwendung. Zur Hydrolyse der Reaktionsmischung wird meist destilliertes Wasser eingesetzt. Die jeweilige Reinigung richtet sich nach den Eigenschaften des synthetisierten Derivats.
Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Synthesen mit jedem Benzaldehyd in der Regel nur einmal durchgeführt. Eine Synthesen- oder Ausbeutenoptimierung fand nicht statt. Die entsprechenden Details der einzelnen Diphenylhexatriensynthesen sind im Experimentalteil beschrieben. Synthesen aus denen kein Produkt isoliert wurde, werden hier nicht diskutiert.
Die Diplomarbeiten von *M. Ludwig* und *M. Murjahn* wurden im Rahmen dieses Forschungsprojekts betreut.[75, 94] Ihre Synthesen von DPH werden hier ebenfalls diskutiert. Die entsprechenden Versuchsbeschreibungen aus den Diplomarbeiten sind im Experimentalteil dieser Arbeit aufgeführt.

Beispielhaft für die allgemeine Synthesestrategie wird hier die Synthese des unsubstituierten DPH 1,6-Diphenylhexa-1,3,5-trien (**DPH01**) beschrieben.

V30: Das phenylische **DPH01** wird durch eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion dargestellt.

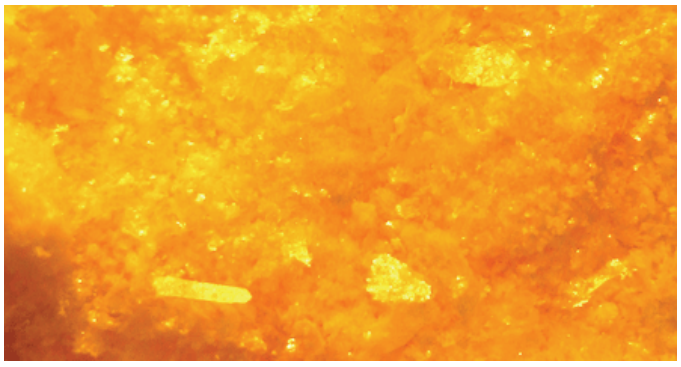
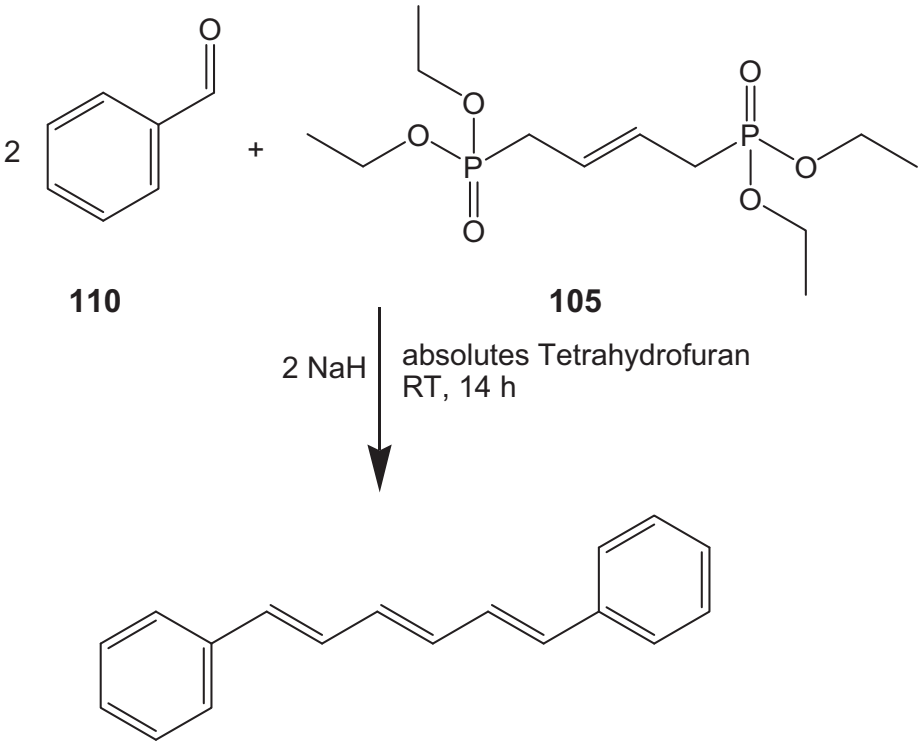


Abbildung 3.64: DPH01 als gelber, kristalliner Feststoff.

V30



110 **105**

DPH01

Ein Äquivalent 60%iges Natriumhydrid wird in absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt. Bei Raumtemperatur wird ein in absolutem Tetrahydrofuran gelöstes Äquivalent Bisphosphonat **106** unter Rühren zugetropft. Nach einer halben Stunde tropft man drei Äquivalente frisch destillierten Benzaldehyd (**110**) hinzu. Die Reaktionslösung wird bis zur einseitigen Umsetzung des Bisphosphonats **106** gerührt. Dies erkennt man an der Bildung einer klaren, hellroten Lösung. Ein weiteres Äquivalent 60%iges Natriumhydrid wird portionsweise zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Ein dunkles Öl fällt aus. Der Reaktionsansatz wird mit gesättigter Natriumchloridlösung hydrolysiert. Die wässrige Phase wird mit Diethylether/Tetrahydrofuran (1:3) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum einer Membranpumpe entfernt.
Das Rohprodukt enthält nicht umgesetzten Benzaldehyd (**110**) und wird in Hexan aufgeschwemmt. Über Nacht bei 5 °C fällt ein gelber Feststoff aus. Dieser Feststoff wird abfiltriert und in Ethanol digeriert. Man filtriert den hellgelben Niederschlag ab und erhält das gewünschte kristalline Produkt **DPH01** in einer Ausbeute von 37 %.
Die folgenden Diphenylhexatrienderivate wurden im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich synthetisiert.

3.9.3.1.1 Übersicht über die synthetisierten elektronenarmen DPH

In den Synthesen von elektronenarmen DPH wurden Benzaldehyde mit Halogen-, Nitro-, Cyano- und Trifluormethylsubstituenten als Endgruppenbausteine verwendet.

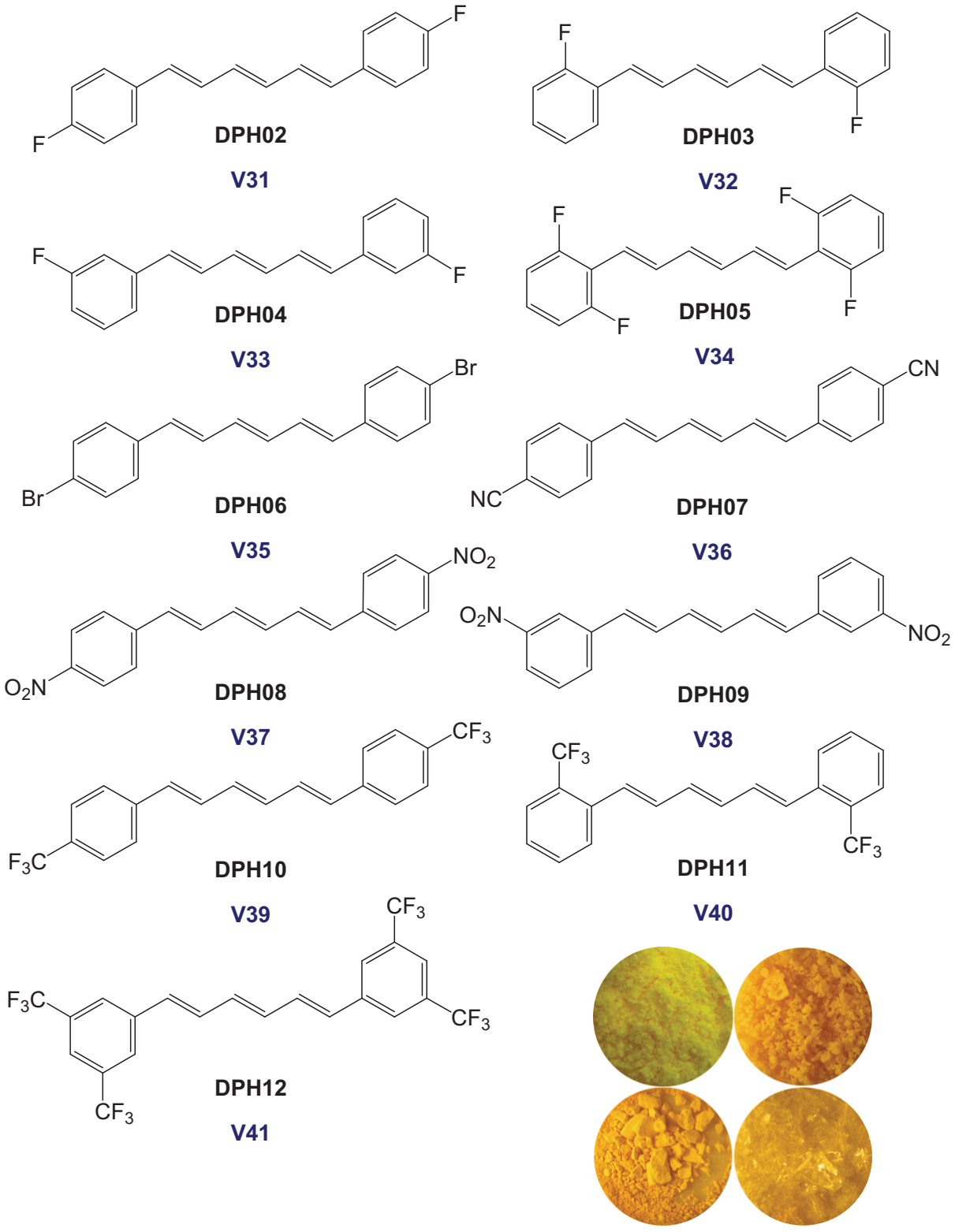


Abbildung 3.65: Ausgewählte elektronenarme DPH als kristalliner, gelber Feststoff; **DPH02** (oben links), **DPH06** (oben rechts), **DPH07** (unten links) und **DPH11** (unzen rechts).

3.9.3.1.2 Übersicht über die synthetisierten elektronenreichen DPH

In den Synthesen von elektronenreichen DPH wurden Benzaldehyde mit Methoxy-, Alkylamino-, Alkyl- und Phenylsubstituenten als Endgruppenbausteine verwendet.

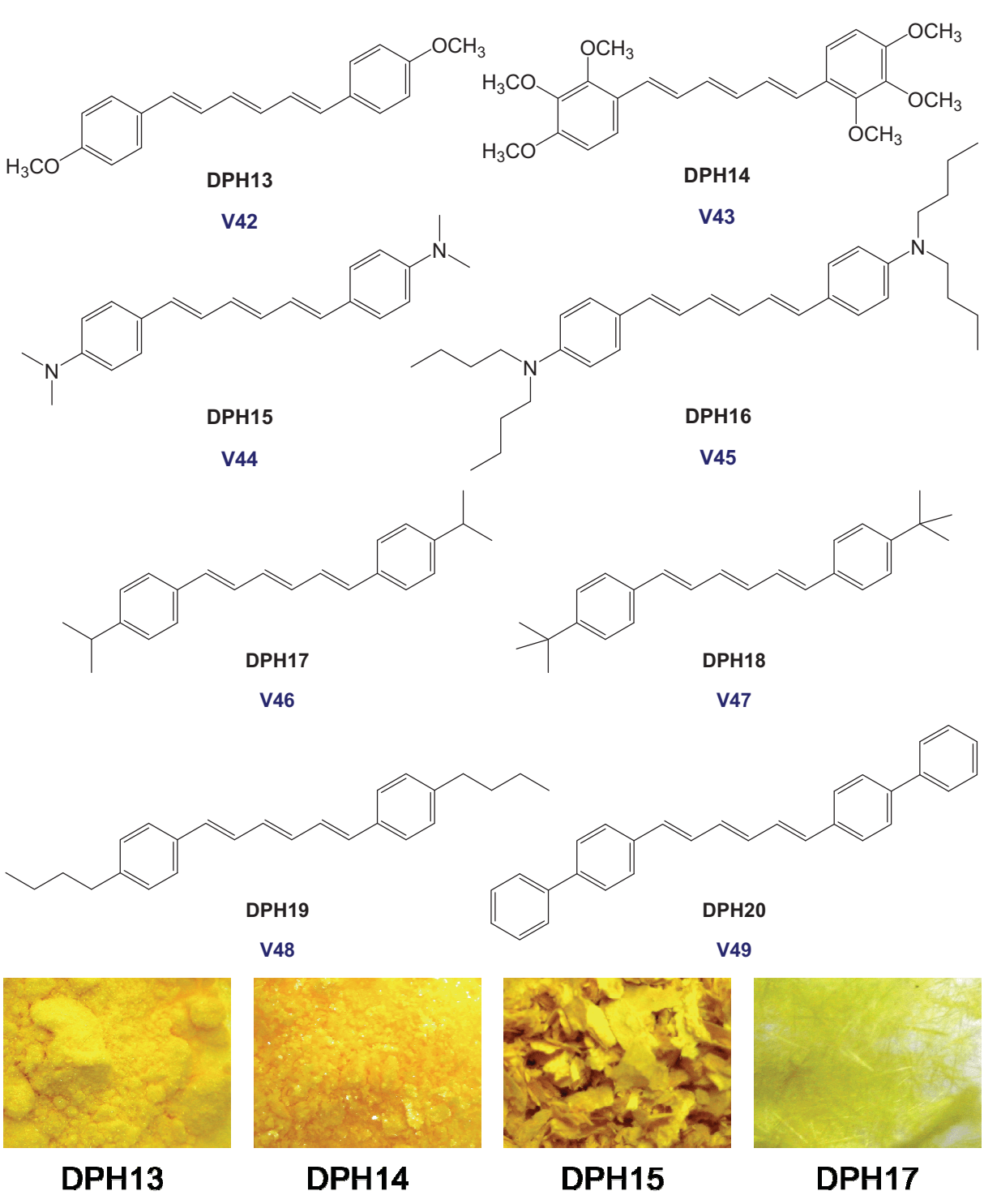
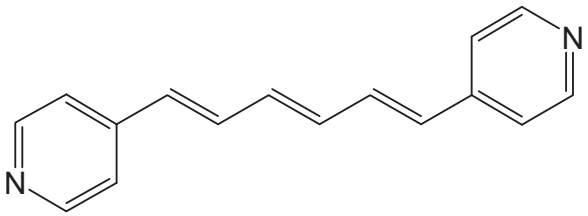


Abbildung 3.66: Photos ausgewählter elektronenarmer DPH.

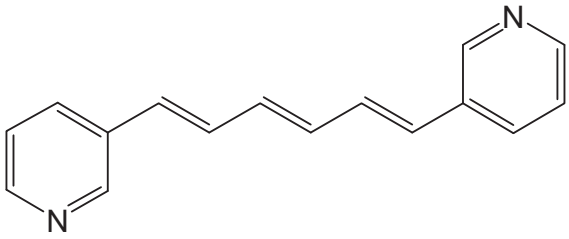
3.9.3.1.3 Übersicht über die synthetisierten heteroaromatischen DPH

In den Synthesen der heteroaromatischen DPH wurden Pyridin- und Furancarbaldehyde als Endgruppenbausteine eingesetzt.



DPH21

V50

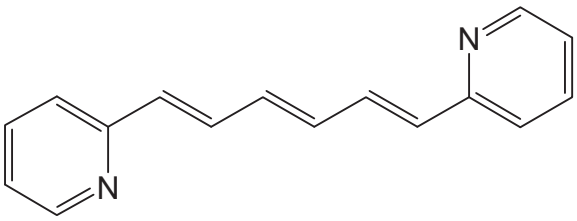


DPH22

V51

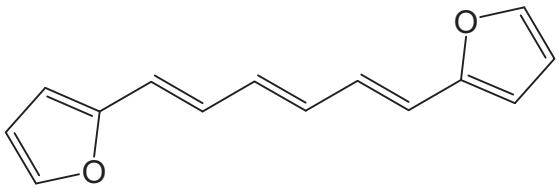
V50

-53



DPH23

V52



DPH24

V53

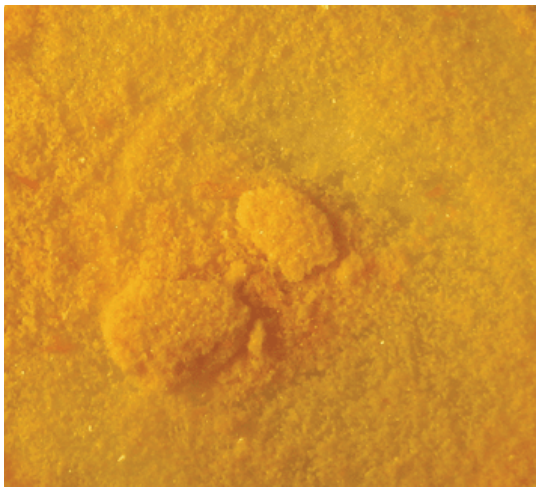
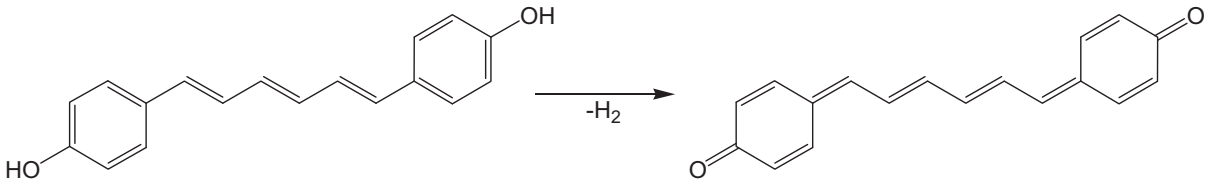


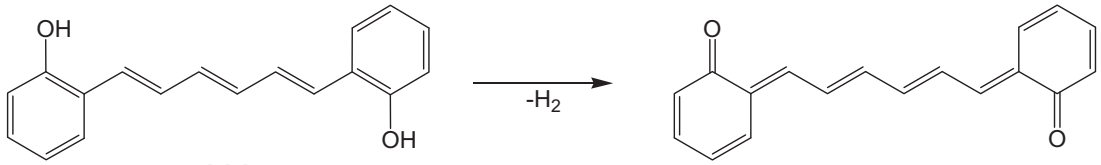
Abbildung 3.67: DPH22 als gelber, kristalliner Feststoff.

3.9.3.1.4 Synthese von phenolischen DPH

Phenolischen Carotinoiden wird eine hohe antioxidatie Wirkung zugeschrieben. Durch Hydroxygruppen in *para*- oder *ortho*-Position kann ein solches Polyensystem durch Oxidation in die relativstabile chinoide Retroform gebracht werden.[95-97]

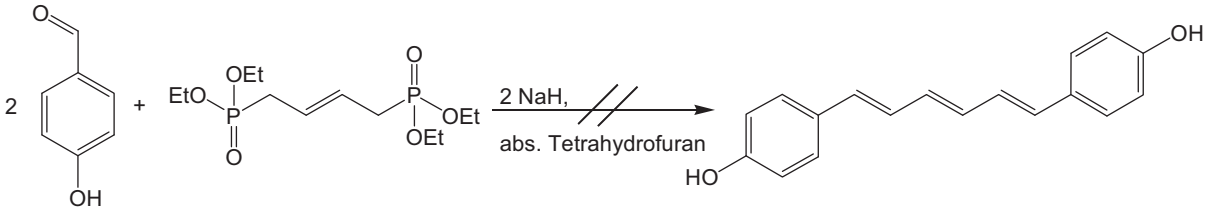


DPH25



111

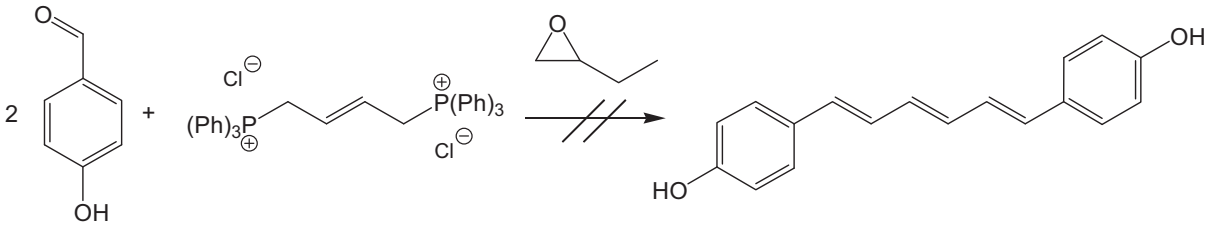
Zur Synthese des *para*-hydroxysubstituierten DPH 4,4'-(Hexa-1,3,5-triene-1,6-diyl)diphenol (**DPH25**) wurde zunächst eine Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion unter den zuvor vorgestellten Bedingungen mit Natriumhydrd in Tetrahydrofuran durchgeführt.



112 **105** **DPH25**

Das zugegebene 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) wird in der basischen Reaktionslösung deprotoniert. Eine Farbveränderung sowie eine leichte Trübung weist auf Spuren einer Produktbildung hin. Jedoch gelang es wegen der hohen Löslichkeit der farbigen Verbindungen in den wässrigen und organischen Medien nicht, dass Produkt **DPH25** zu isolieren.

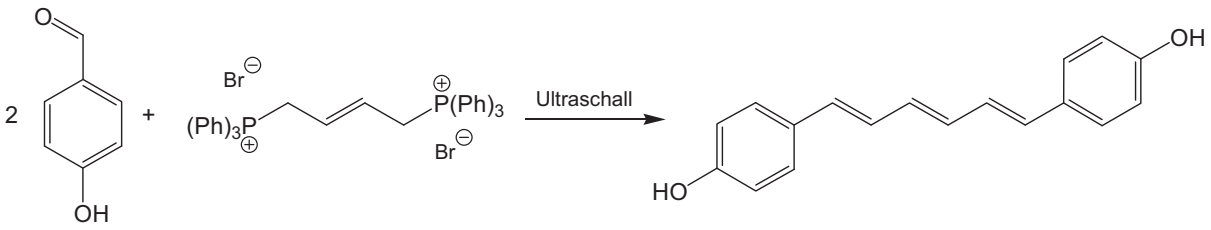
Um die Menge der vorhandenen Base in der Reaktion zu minimieren wird die Buddrus-Variante der Wittig-Reaktion mit Butylenoxid mit und ohne Zusatz von Ethanol getestet.[95, 98] Es konnte keine Produktbildung beobachtet werden.



112 **113** **DPH25**

V54: Synthesen von DPH nach Wittig können in zweiphasigen Reaktionssystemen mit Ultraschall durchgeführt werden.

V54

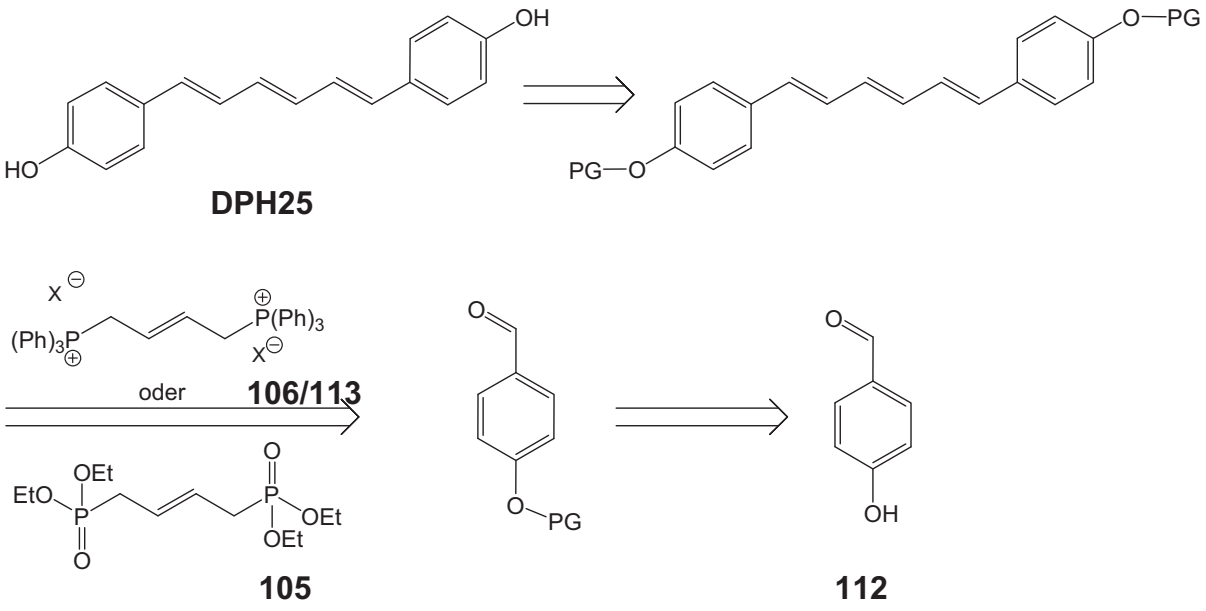


112 **106** **DPH25**

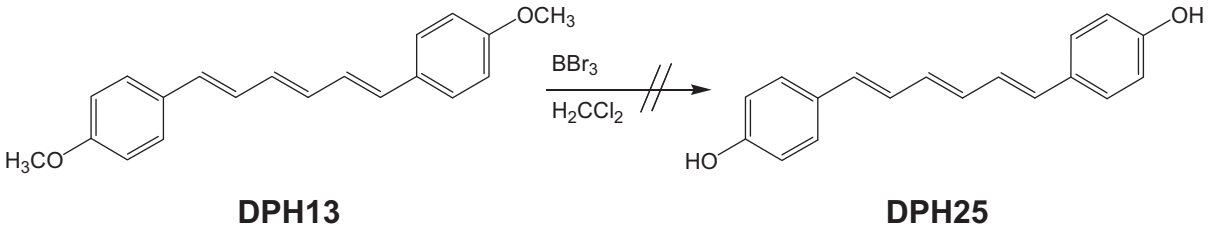
Die Edukte werden in einem System aus Ethylacetat und 3 M Natriumcarbonatlösung beschallt. Das Phosphoniumsalz **106** löst sich in der organischen Phase; der 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) in der wässrigen. Die Reaktion findet an der Phasengrenze statt. Durch diese Synthese gelang der Nachweis von 4,4'-(Hexa-1,3,5-triene-1,6-diyl)diphenol (**DPH25**) im Produktgemisch. Reines Produkt konnte nicht erhalten werden.

Die Rohproduktfraktionen von Synthesen von 4,4'-(Hexa-1,3,5-triene-1,6-diyl)diphenol (**DPH25**), die sich auf 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) als Endgruppenbaustein stützen, enthalten stets größere Mengen dieses eingesetzten Benzaldehyds. Bei der Reinigung ähneln sich das Verhalten des gewünschten Produkts **DPH25** und des Endgruppenbausteins **112** stark. Eine Trennung dieser zwei Komponenten war nicht erfolgreich. Es wird daher beschlossen Syntheserouten zu verfolgen, in denen das

polare und pH-abhängige Verhalten der Hydroxygruppe durch eine Schutzgruppe (PG) unterbunden wird.



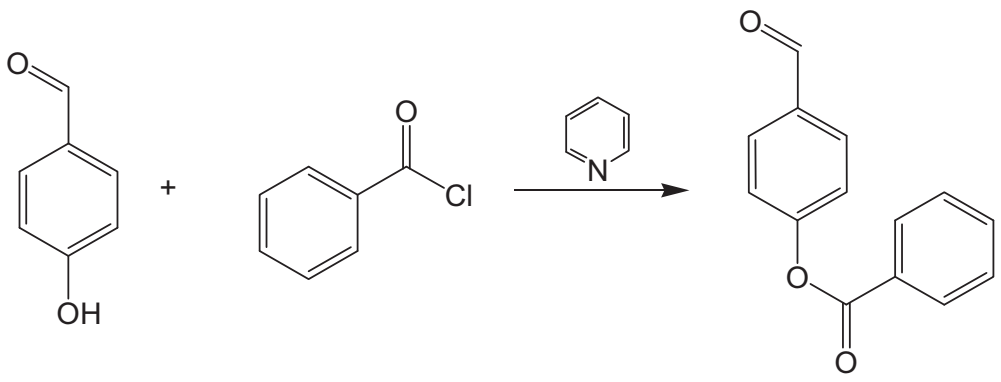
Ein entsprechendes Alkoxyderivat wurde bereits synthetisiert: das methoxy-substituierte **DPH13**. Zur Demethylierung der Methoxygruppe wurde **DPH13** mit Bortribromid in absolutem Methylenchlorid umgesetzt.



Es konnte kein Produkt isoliert werden. Es wird vermutet, dass das Bortribromid (**114**) die Polyenkette angegriffen und den Chromophor zerstört hat.
Daher wird eine andere Schutzgruppe verwendet, die Benzoylschutzgruppe.

V55/V56: Zur Synthese von 4-Formylphenylbenzoat (**115**) wird 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) mit Benzoylchlorid (**42**) umgesetzt. Zugesetztes Pyridin fängt den entstehenden Chlorwasserstoff ab.

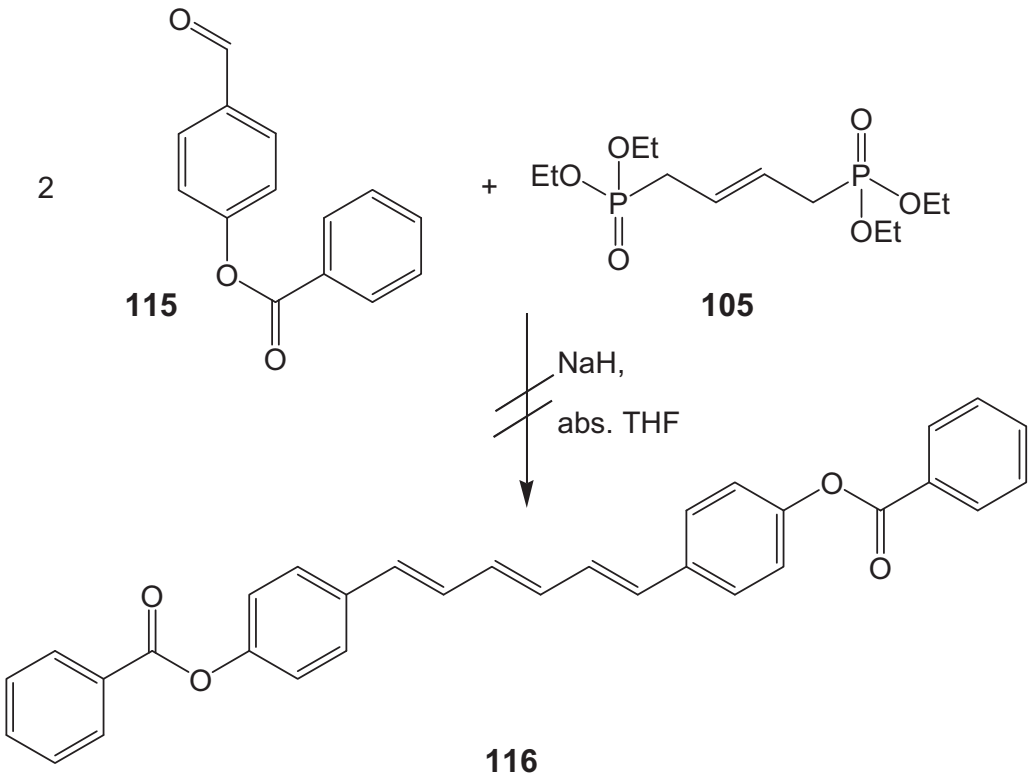
V55/ V56



112 **42** **115**

Die Synthese wird einmal in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel (V55) und in Substanz (V56) durchgeführt. Es wurden Ausbeuten von 93 % bzw. quantitative Umsetzung erreicht.

Die anschließende Reaktion des 4-Formylphenylbenzoat (**115**) mit dem Bisphosphonat **105** zum benzoylgeschütztem DPH **116** unter den verwendeten Wittig-Horner-Bedingungen (in Tetrahydrofuran mit Natriumhydrid) führte nicht zum gewünschten Produkt.



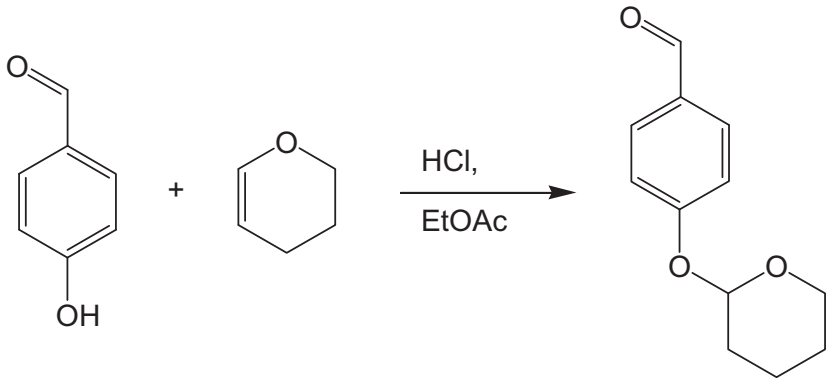
115 **105** **116**

Es wurden wenige Milligramm eines gelben Feststoffs isoliert, dessen Identität jedoch aufgrund der geringen Löslichkeit nicht geklärt werden konnte.

Als alternative Schutzgruppe für phenolische Hydroxygruppen wurde die Dihydropyrangruppe ausgewählt.

V57: Die Reaktion von 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) mit 3,4-Dihydro-*2H*-pyran (**117**) in Ethylacetat unter salzsaurer Katalyse führte zum 4-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (**118**).

V57

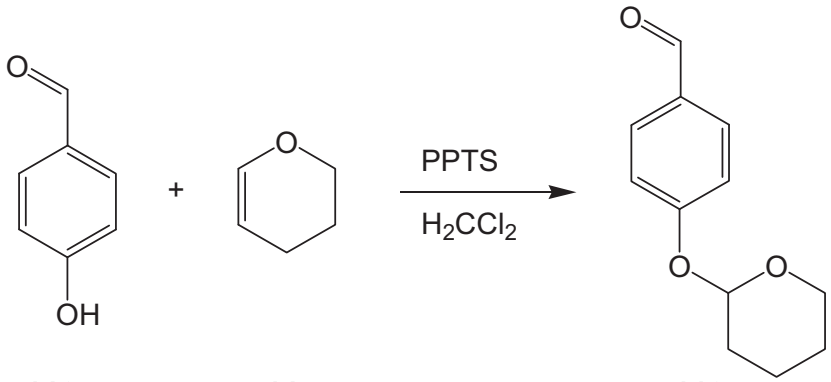


112 **117** **118**

Das gewonnene Rohprodukt enthielt Dihydropyran. Weitere Reinigungsversuche führten zur zunehmenden Zersetzung des Produkts. Die Ausbeute dieser Stufe betrug ca. 26 %.

V58: Der Versuch V57 wurde abgewandelt und in Methylenchlord mit Pyridinium-*para*-toluolsulfonat (PPTS) als Katalysator durchgeführt.

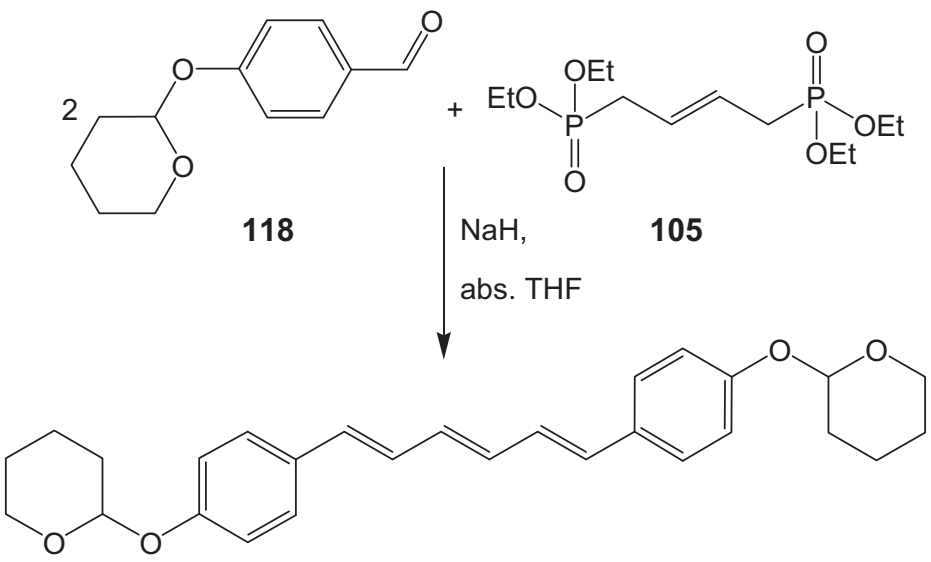
V58



112 **117** **118**

Diese Variante führte zum dihydropyrangeschützten Aldehyd **118** in einer Ausbeute von 98 %.

V59: Die Umsetzung des Benzaldehyds **118** mit dem Bisphosphonat **105** zum DPH **DPH39** erfolgte analog den bekannten Wittig-Horner-Bedingungen (NaH, THF).



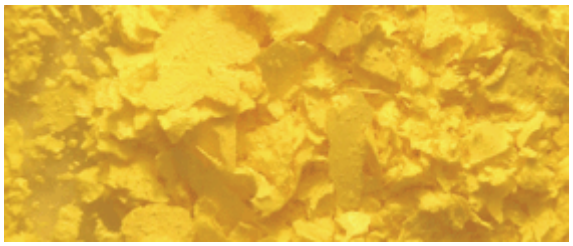


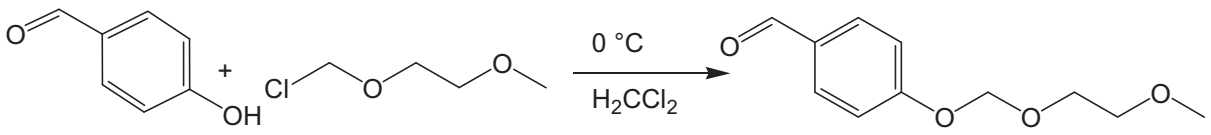
Abbildung 3.68: DPH26 als gelber Feststoff.

Mit Dihydropyran **117** verunreinigtes **DPH26** konnte als Rohprodukt isoliert werden. Die Ausbeute betrug max. 9 %. Weitere Reinigungsversuche führten zur Zersetzung des Produkts.

Eine weitere Alternative als Schutzgruppe für phenolische Hydroxygruppen ist die Methoxyethoxymethylgruppe.

V60: Bei dieser Reaktion wird zunächst 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) in Methylenchlorid mit Diisopropylamin deprotoniert. Unter Eiskühlung wird eine Lösung aus Methoxyethoxymethylchlorid (**119**) zugetropft.

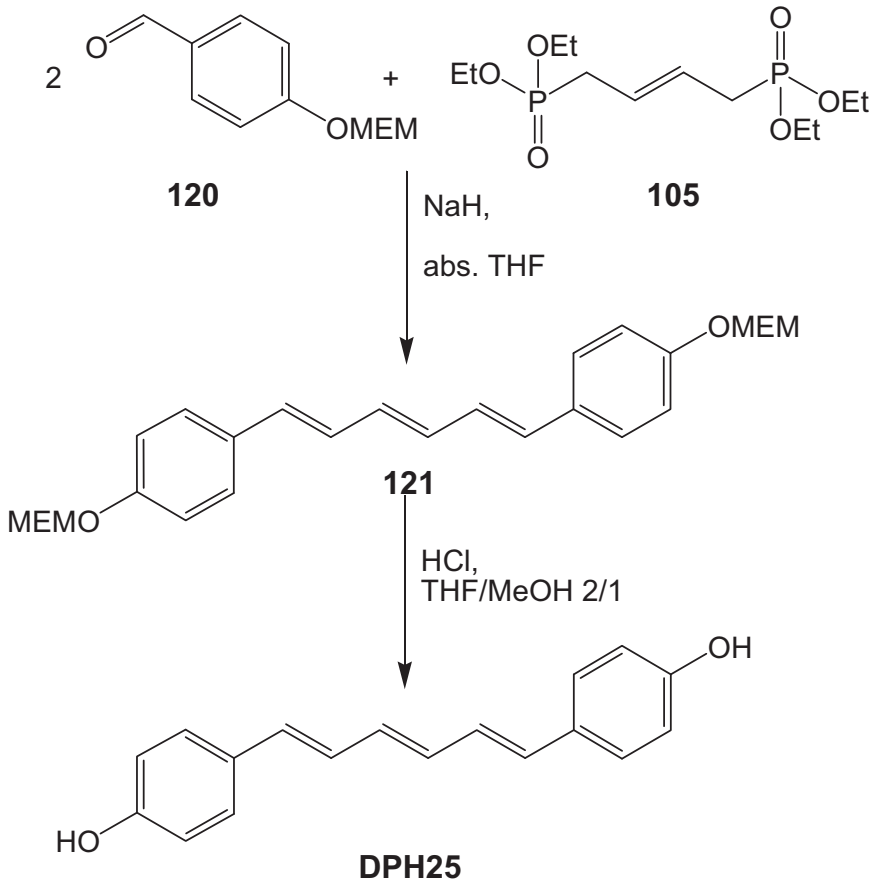
V60



112 **119** **120**

4-[(2-Methoxyethoxy)methoxy]benzaldehyd (**120**) wurde in einer Ausbeute von 36 % erhalten.

Die Umsetzung des geschützten Benzaldehyds **120** zum DPH **121** und das anschließende Entschützen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt, da sich der Fokus der Synthesen auf andere Systeme verschoben hat.

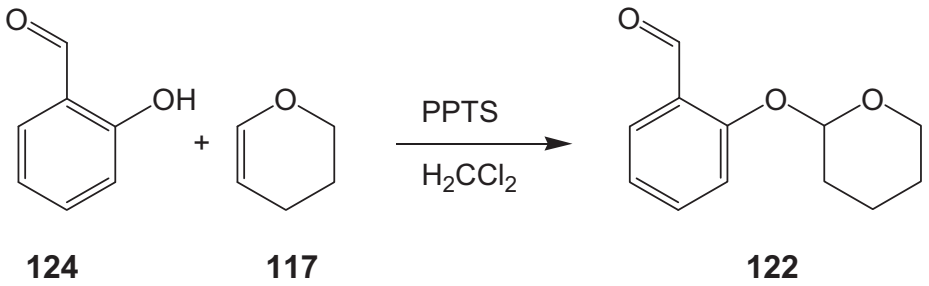


Diese Schritte wurden jedoch 2006 von *Zhuang et al*. durchgeführt und publiziert.[99]

Für die Synthese der *o*- und *m*-hydroxysubstituierten DPH **111** und **DPH25** wurden die entsprechenden Hydroxybenzaldehyde mit der Dihydropyranschutzgruppe versehen.

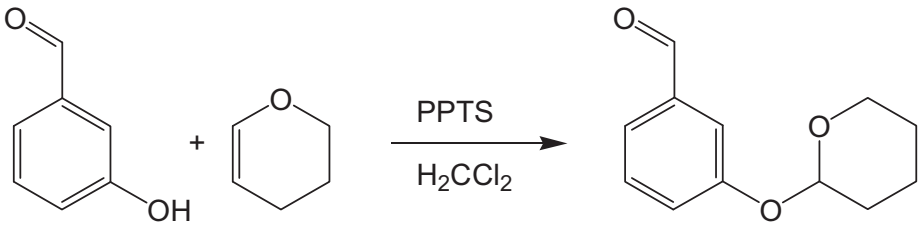
V61 bzw. V62: Die Synthesen von 2- bzw. 3-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (**122** bzw.**123**) erfolgten analog zu Versuch 58.

V61



124 **117** **122**

V62



125 **117** **123**

Die Ausbeuten waren 59 % bzw. quantitativ. Das isolierte Rohprodukt war in beiden Fällen mit Dihydropyran **117** verunreinigt und konnte ohne Produktverlust nicht weiter aufgereinigt werden.

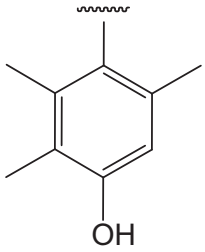
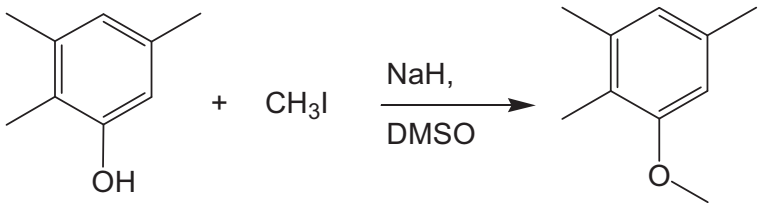


Abbildung 3.69: φ-Endgruppe.

In Untersuchungen an Carotinoiden mit unterschiedlichen Endgruppen konnte von *Scherrers* gezeigt werden, dass 3,3'-Dihydroxyisorenieraten (**126**) besonders antioxidativ ist.[96] Dies ist auf seine trimethylphenolische Endgruppe zurückzuführen. Sie wird auch als φ-Endgruppe bezeichnet. Es soll ein DPH mit φ-Endgruppen synthetisiert werden. Zur Darstellung der Endgruppe werden die Synthesearbeiten von *Scherrers* zur Hilfe genommen.

V63: Die Synthese der φ-Endgruppe beginnt mit der Methylierung von 2,3,5-Trimethylphenol (**127**).

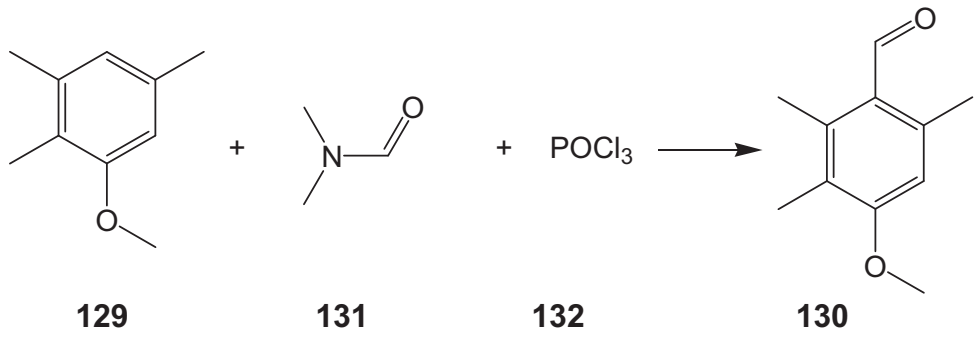
V63



127 **125** **129**

Bei der Reaktion handelt es sich um eine Williams-Ethersynthese mit Natriumhydrid und Jodmethan (**128**) in Dimethylsulfoxid. Nach destillativer Reinigung erhält man Methoxy-2,3,5-trimethylbenzol **129** in einer Ausbeute von 81 %.

V64: Zur Koppelfähigkeit der Endgruppe wird Methoxy-2,3,5-trimethylbenzol **129** in einer Vilsmeierreaktion zum Aldehyd **130** umgesetzt.



V64

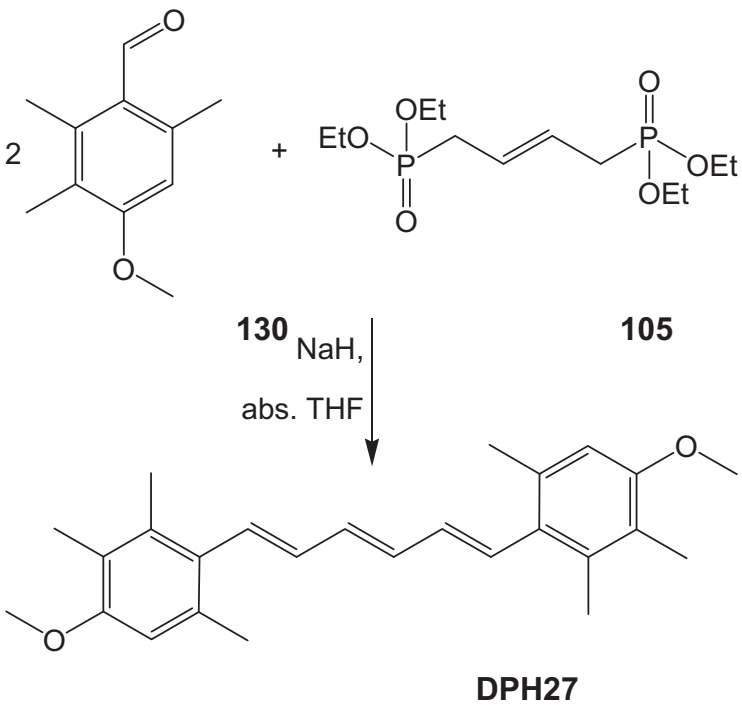
129 **131** **132** **130**

Die Synthese gelingt mit einer Ausbeute von 84 %.

V65: Die Umsetzung von 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (**130**) als Endgruppe zum entsprechendem **DPH27** erfolgt analog den bekannten Wittig-Horner-Reaktionsbedingungen (NaH, THF).



Abbildung 3.70: DPH27 als gelber, kristalliner Feststoff.



V65

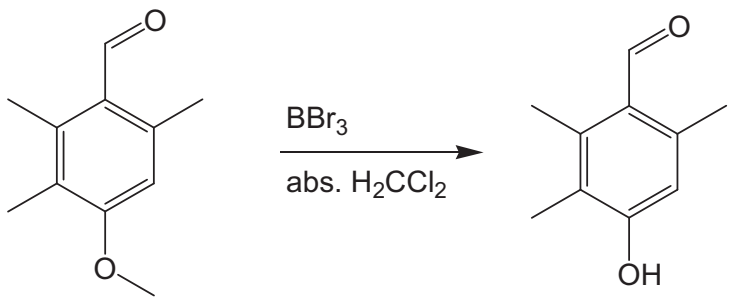
DPH27

Man erhält 1,6-Bis-(4-methoxy-2,3,6-trimethylphenyl)hexa-1,3,5-trien (**DPH27)** in einer Ausbeute von 9 %.

Die Demethylierung einer aromatischen *para*-Methoxygruppe kann mit Bortribromid (**114**) erfolgen. Vorherige Versuche haben gezeigt, dass unter diesen Reaktionsbedingungen das Polyensystem eines DPH angegriffen und zerstört wird. Es wird daher beschlossen einen Schutzgruppenaustausch an der noch ungekoppelten φ-Endgruppe durchzuführen.

V66: Zur Demethylierung von 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (**130**) wird dieses in absolutem Methylenchlorid mit Bortribromid (**114**) umgesetzt.

V66

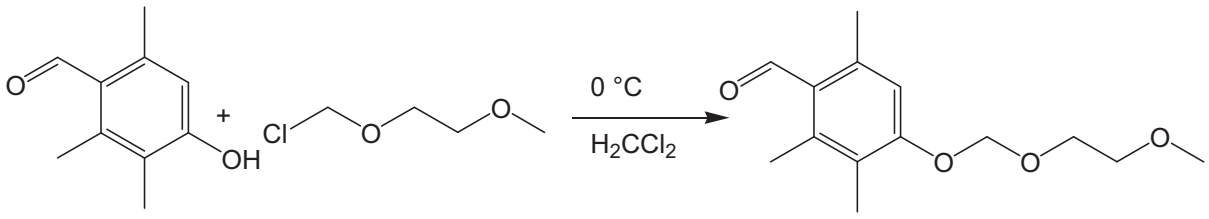


130 **133**

Nach säulenchromatographischer Reinigung erhält man 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd (**133**) in einer Ausbeute von 32 %.

V67: Als neue Schutzgruppe wird die zuvor vorgestellte Methoxyethoxymethylgruppe gewählt. Die Umsetzung erfolgt analog zu V60.

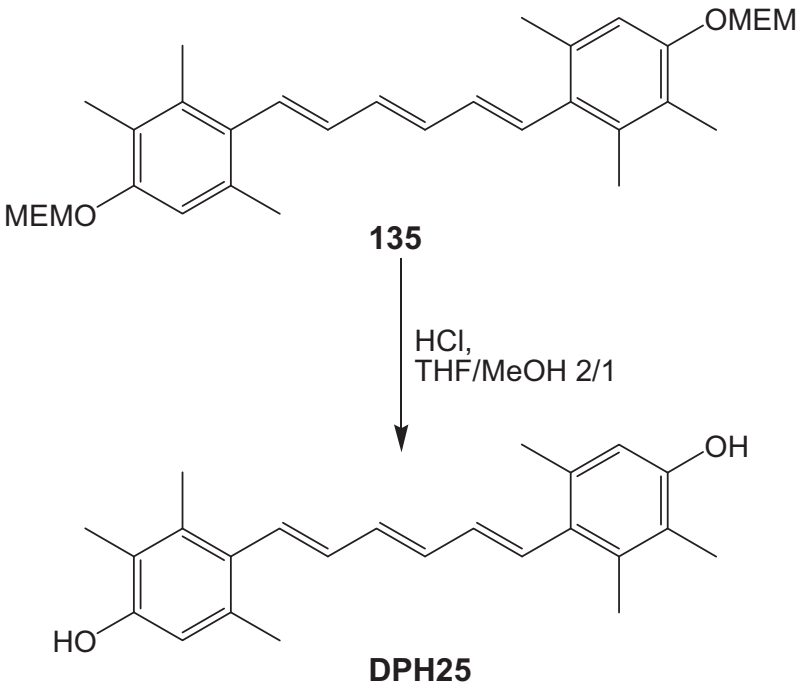
V67



133 **119** **134**

Das gewünschte Produkt **134** kann NMR-spektroskopisch identifiziert werden. Es ist jedoch mit mehreren Nebenprodukten der Schutzgruppe verunreinigt. Weitere Reinigungsversuche wurden nicht unternommen.

Die weitere Synthese zum geschützten DPH **135** über eine Wittig-Horner-Reaktion und die anschließende Entschützung mit Salzsäure analog zur Syntheseroute für das phenolische **DPH25** von Zhuang et al ist denkbar[99].



135

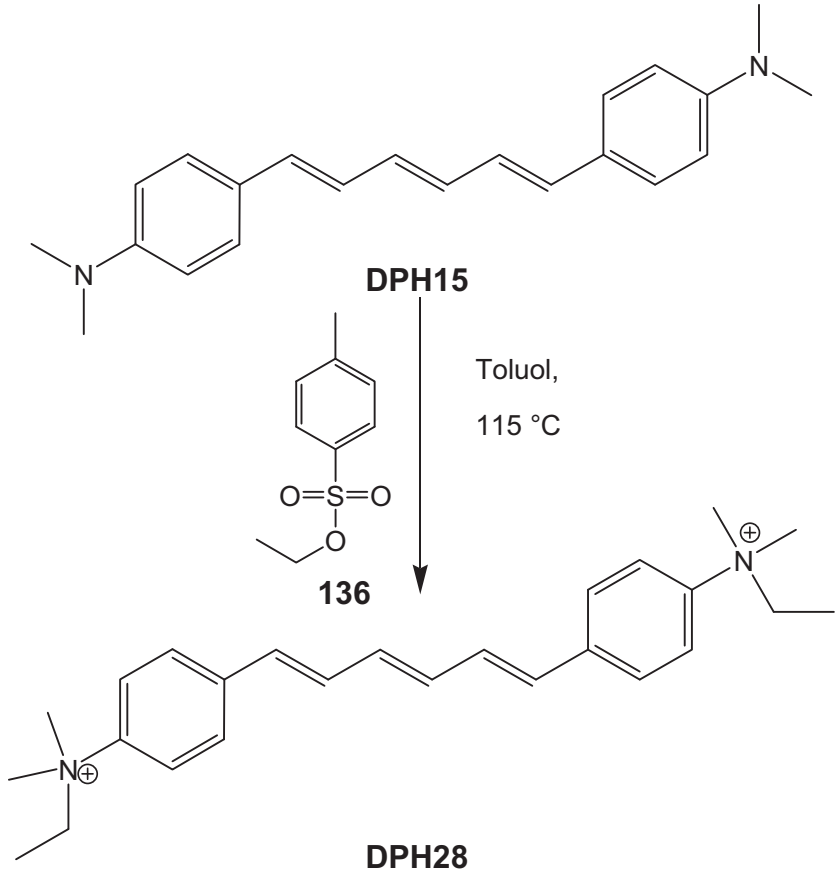
DPH25

3.9.3.1.5 Synthese von DPH mit erhöhter Wasserlöslichkeit

Untersuchungen an biologischen Systemen werden häufig in wässrigen Puffern durchgeführt. Daher werden DPH mit erhöhter Wasserlöslichkeit synthetisiert.

V68: Zunächst wurde die Quarternisierung des bereits vorhandenen dimethylamino-substituierten **DPH15** durchgeführt. Durch das Erhitzen vom DPH **DPH15** mit Ethyl-4-methylbenzolsulfonat (**136**) in einem zweiphasigen Wasser/Toluol-System konnte in der wässrigen Phase quarternäres Produkt gebildet werden.

V68

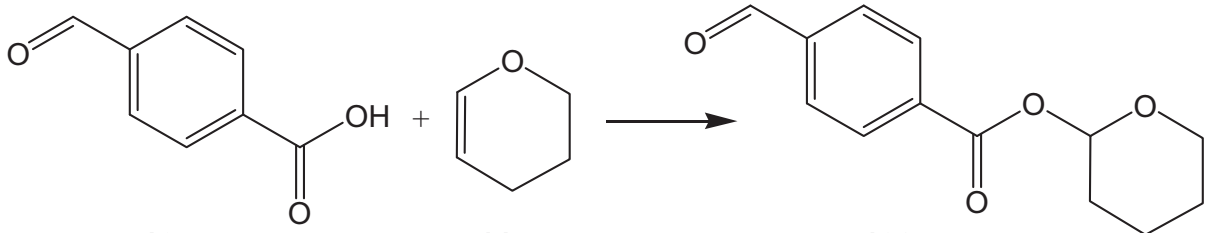


D.Pffifi gelang es in einem UV-Spektrum der wässrigen Phase das quarternäre Amino-**DPH28** durch die typische Dreifingerform nachzuweisen.[100] Die Absorptions-maxima liegen bei 342, 357 und 377 nm. Ein UV-Spektrum in Ethanol zeigt nur eine geringe Verschiebung um +1 nm. Das Edukt **DPH15** im Gegensatz dazu in Ethanol ein unstrukturiertes UV-Spektrum mit einem Maximum bei 402 nm aufzeigt. Weitere spektroskopische Daten konnten nicht erhalten werden. Aus diesem und einem weiterem Versuch das **DPH15** mit Iodmethan zu Quarternisieren konnten keine Ausbeuten von Ammonium-DPH isoliert werden.

Als Alternativstrategie für ein DPH mit erhöhter Wasserlöslichkeit soll ein Derivat mit einer Carboxygruppe dargestellt werden. Die Direktsynthese aus dem Bisphosphonatbaustein **105** und 4-Carboxybenzaldehyd (**137**) führte nicht zum gewünschten Produkt. Es soll daher der Syntheseumweg über einen Endgruppenbaustein mit geschützter Carboxyeinheit gegangen werden.

V69: Als Schutzgruppe für 4-Carboxybenzaldehyd (**137**) wird die Tetrahydropyranylgruppe ausgewählt. Die Umsetzung des Aldehyds **137** mit Dihydropyran **117** erfolgt mit 4-Toluolsulfonsäure in Ethylacetat.[101]

V69

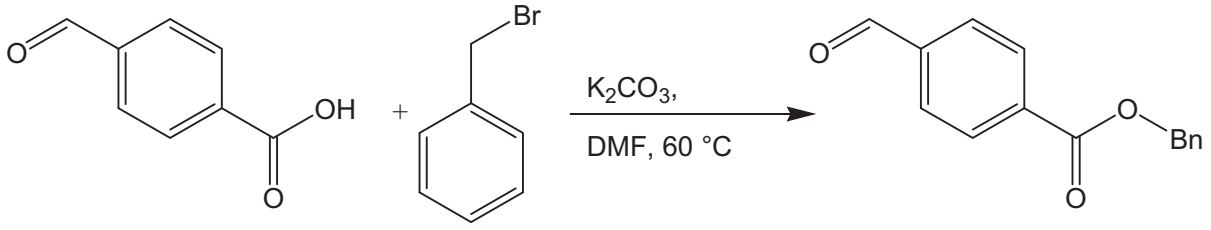


137 **117** **138**

Der THP-Aldehyd **138** ist im Rohprodukt erhalten. Er konnte nicht rein erhalten werden. Weitere Reinigungsversuche führen zur Verseifung.

V70: Alternativ wird die Carboxygruppe des Aldehyds **137** mit einer Benzylschutzgruppe (Bn) versehen.

V70

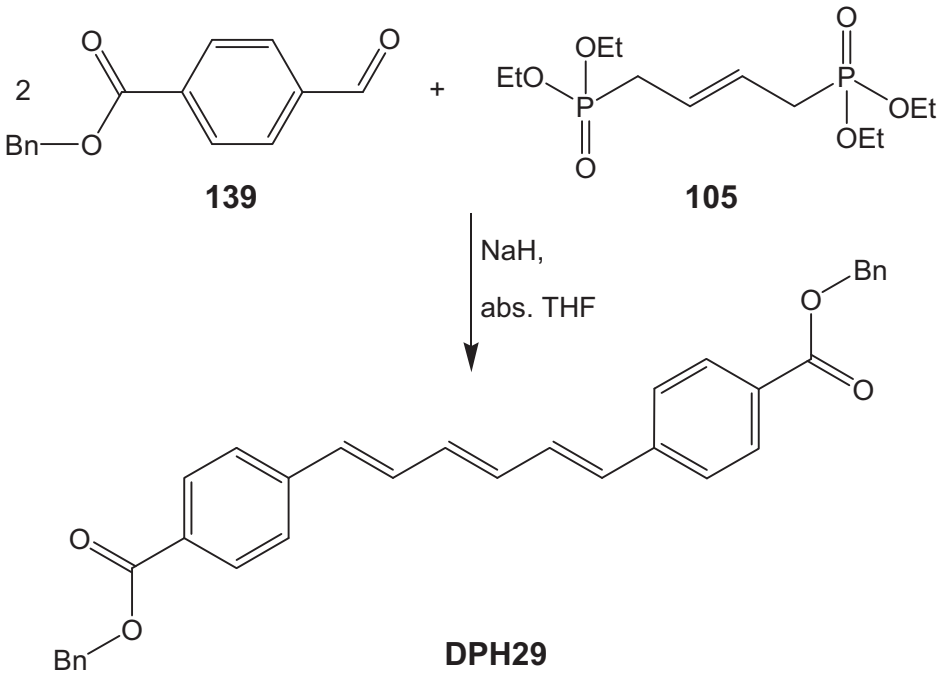


137 **101** **139**

Durch die Umsetzung mit Benzylbromid (**101**) erhält man den geschützten Benzaldehyd **139** in einer Ausbeute von 93 %.

V71: Die Synthese zum **DPH29** erfolgt mit dem Bisphosphonat **105** analog den erarbeiteten Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktionsbedingungen. Die Umsetzung gelingt mit einer Ausbeute von 28 %.

V71



139 **105** **DPH29**

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Abspaltung der Benzylschutzgruppe zur freien DPH-Dicarbonsäure nicht mehr, da sich der Fokus der Synthesen auf andere Systeme verschoben hat.

3.9.3.2 Redoxpotentiale von DPH

Die Redoxpotentiale ausgewählter, *para*- und *meta*-substituierter DPH wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* cyclovoltametrisch bestimmt.[1, 102]

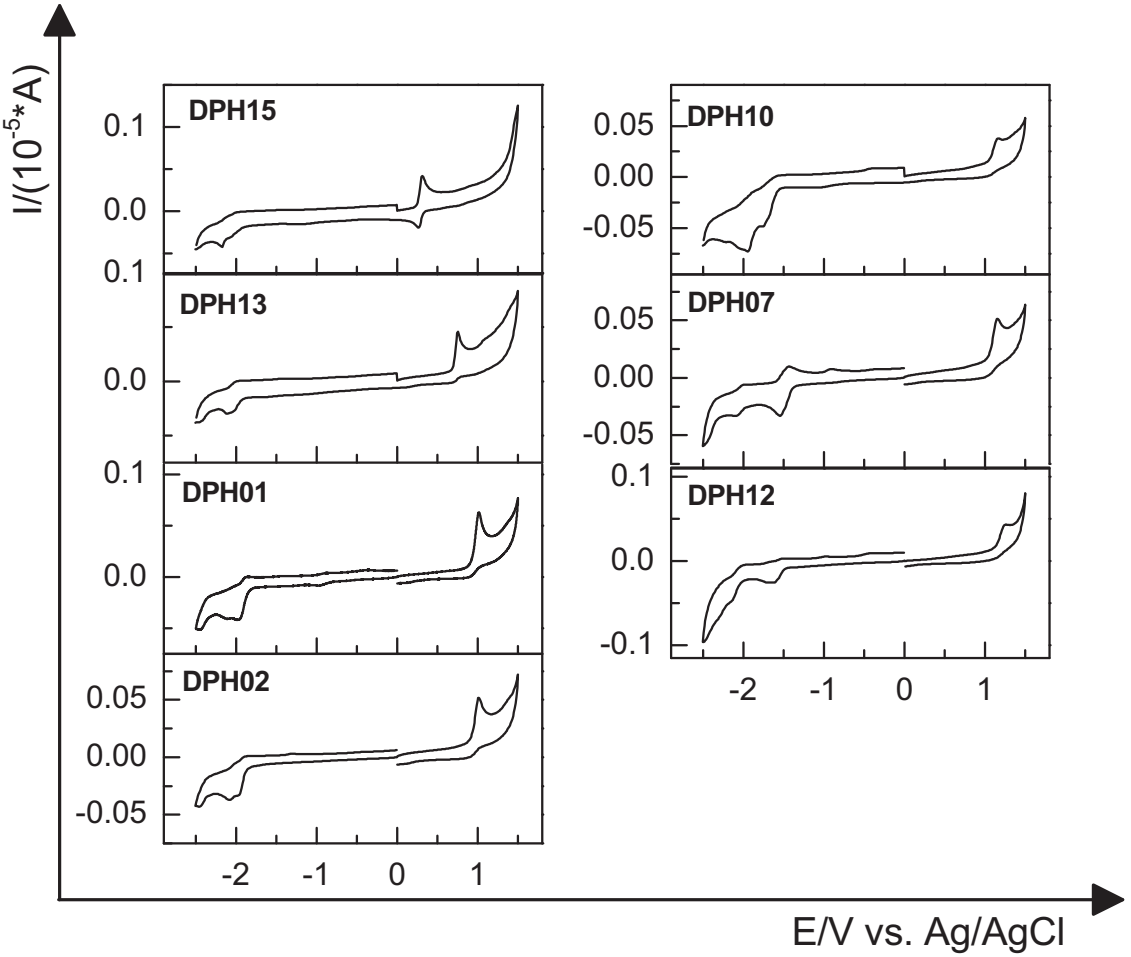


Abbildung 3.71: Cyclovoltamogramme von ausgewählten DPH.[1]

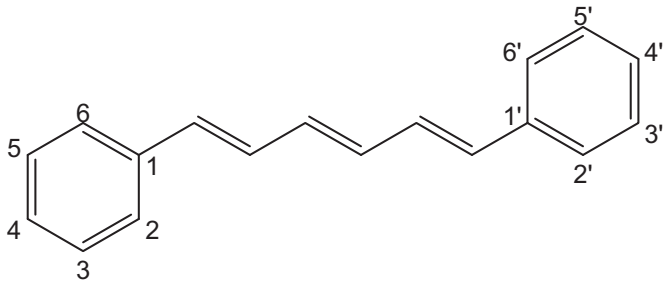


Abbildung 3.72: Allgemeine Struktur von DPH mit Nummerierung der möglichen Substituitionspositionen.

Tabelle 3-7: Redoxpotentiale von ausgewählten DPH gemessen vs. NHS[102].

DPH	*Substituent in*		E^{ox}_{NHS} /V	E^{red}_{NHS} /V
	2, 6 und 2', 6'	*4 und 4'*		
DPH15	*-H*	*-N(CH$_3$)$_2$*	*0.57*	*-1.92*
DPH13	*-H*	*-OCH$_3$*	*0.99*	*-1.83*
DPH01	*-H*	*-H*	*1.28*	*-1.71*
DPH02	*-H*	*-F*	*1.26*	*-1.83*
DPH10	*-H*	*-CF$_3$*	*1.42*	*-1.50*
DPH07	*-H*	*-CN*	*1.42*	*-1.29*
DPH12	*-CF$_3$*	*-H*	*1.52*	*-1.44*

Trägt man die Redoxpotentiale dieser DPH-Derivate gegen die Hammett-Koeffizienten [103, 104] der Substituenten auf, so erhält man zwei Geraden:

$$E_{ox} = 1.13 + 0.52 \cdot \sigma \quad \text{bzw.} \quad E_{red} = -1.68 + 0.35 \cdot \sigma \qquad (\mathbf{3.13, 3.14})$$

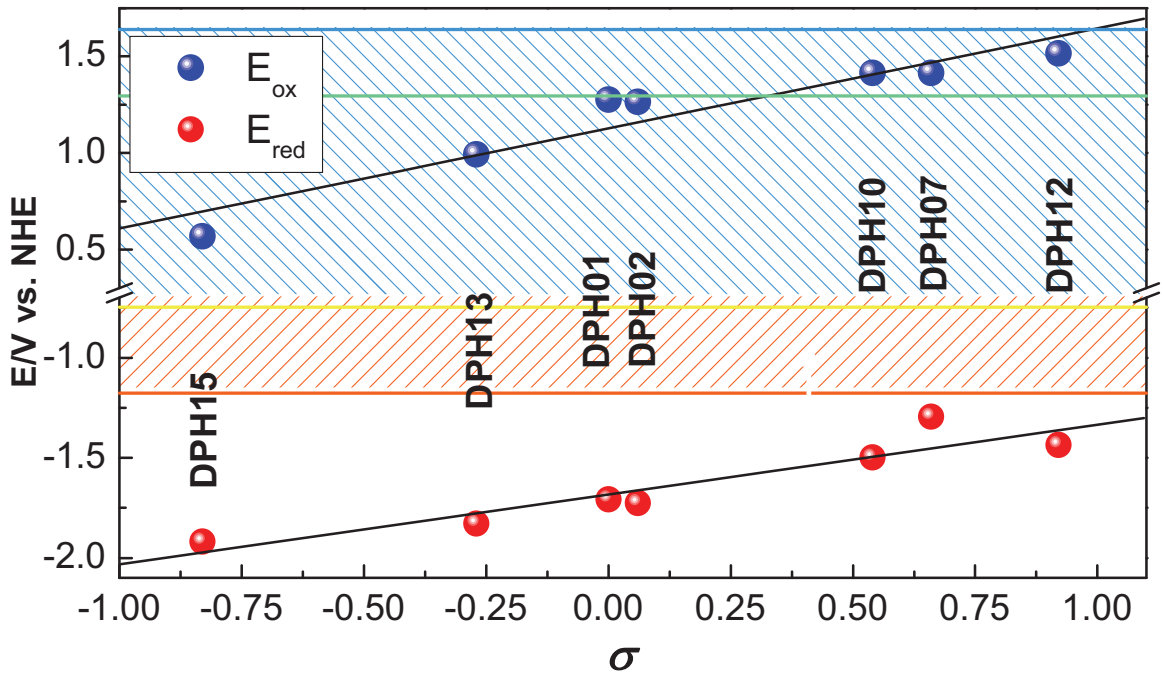


Abbildung 3.73: Auftragung der Redoxpotentiale ausgewählter DPH-Derivate gegen die Hammett-Koeffizienten ihrer Substituenten. Es ergeben sich die folgenden linearen Zusammenhänge:
E_{ox} = 1.13 + 0.52·σ (**3.13**) bzw. E_{red} = -1.68 + 0.35·σ (**3.14**).

Die rot schraffierte Fläche zeigt den Potentialbereich an in dem Reduktionspotentiale ausreichend hoch wären, um ein Rhodamin 123 (**54**) zu oxidieren (E_{red} > -1.17 V). Die gelbe Linie (E_{red} > -0.75 V) zeigt die Potentialschwelle einer möglichen Oxidation des angeregten RH123 (**54**) im T_1-Zustand. Die Reduktionspotentiale aller hier vorgestellten DPH-Derivate liegen unterhalb der Grenze von -1.17 V und somit selbstverständlich auch unter der Schwelle von -0.75 V. Eine Photooxidation von Rhodamin 123 (**54**) ist daher mit keinem Derivat möglich.

Die blau schraffierte Fläche zeigt den Potentialbereich an in dem Oxidationspotentiale niedrig genug wären, um angeregtes Rhodamin 123 (**54**) zu reduzieren (E_{ox} < 1.71 V). Die grüne Linie (E_{ox} < 1.29 V) gibt die Potentialschwelle einer möglichen Reduktion des angeregten RH123 **54** im T_1-Zustand wieder. Am Graphen kann man sehen, dass nur die Oxidationspotentiale der elektronenarmen DPH mit Triflourmethyl- (**DPH 10** und **DPH12**) oder Nitrilsubstituenten (**DPH07**) ausreichend hoch sind, um eine Photoreduktion des Fluoreszenzfarbstoffs im S_1 ihrerseits zu unterbinden. Alle vorgestellten Derivate könnten RH123 **54** im T_1-Zustand reduzieren.

Die linearen Zusammenhänge zwischen den Redoxpotentialen und den Hammett-Koeffizienten ermöglichen verlässliche Prognosen zu den Redoxpotentialen weiterer substituierter DPH. Aussagen über *ortho*-substituiete DPH können nicht gemacht werden, da für die *ortho*-Position aufgrund sterischer Einflüsse keine Substituenten-parameter von Hammett und Taft bestimmt werden konnten. Es ist davon auszugehen, dass nur DPH mit stark elektronenziehenden Substituenten sich als ideale Quencher für Rhodamine eignen. Dabei ist jedoch darauf zu achten, dass mit zunehmendem Oxidationspotential auch das Reduktionspotential ansteigt und man Gefahr läuft ein DPH zu erhalten, das mit einem E_{red} > -1.17 V in der Lage ist, angeregtes RH123 **54** zu reduzieren.

Tabelle 3-8: Hammett-Koeffizienten für die *meta*- und *para*-substituierten DPH, die synthetisiert wurden. Der blaue Bereich zeigt den nicht reduzierenden bzw. oxidierenden σ-Bereich. Bei fehlenden σ-Werten wurden σ-Werte ähnlicher funktioneller Gruppen als Referenz herangezogen.[103, 104]

* = $-N(Me)_2$, $-N(Et)_2$ bzw. $-N(Bu)_2$

♦ = $-N^+(Me)_3$

Verbindung	Substituent		σ
	in para	in meta	
DPH16	$-N(Bu)_2$	-H	-0.7 -0.9*
DPH15	$-N(CH_3)_2$	-H	-0.83
DPH25	-OH	-H	-0.37
DPH13	$-OCH_3$	-H	-0.27
DPH18	-tBu	-H	-0.20
DPH19	-Bu	-H	-0.16
DPH26	-O-THP	-H	-0.16
DPH17	-iPr	-H	-0.15
DPH20	-Ph	-H	-0.01
DPH01	**-H**	**-H**	**0.00**
DPH02	-F	-H	0.06
DPH06	-Br	-H	0.23
DPH04	-H	-F	0.34
DPH29	-COOBn	-H	0.45
DPH10	$-CF_3$	-H	0.54
DPH07	-CN	-H	0.66
DPH08	$-NO_2$	-H	0.78
DPH28	$-N^+(CH_3)_2(C_2H_5)$	-H	0.82 ♦
DPH12	-H	2 x $-CF_3$	0.86

Möchte man Redoxreaktionen von Fluorophor und einem DPH-Derivat als Quencher vermeiden, so kommen, bei Monosubstitutionen des DPH, Substituenten mit Hammett-Koeffizienten σ zwischen 1.11 und 1.46 in Frage. Ein Derivat mit diesen Redoxeigenschaften wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht synthetisiert. Berücksichtigt man nur angeregtes RH123 **54** im S_1-Zustand, so liegen die Potentialgrenzen bei $E_{red} < -1.17$ V bzw. $E_{ox} > 1.29$ V. Dies entspicht Hammett-Koeffizienten σ von $0.31 < \sigma < 1.46$. Die DPH, von denen aufgrund dieser Abschätzung keine Redoxreaktion mit singulettangeregtem RH123 **54** erwartet wird, sind blau schattiert.

3.9.3.3 Übergangsenergien von DPH

In Kapitel 3.7.1 wurde bereits erarbeitet, dass für einen effektiven Energietransfer von einem Rhodaminfarbstoff im Triplettzustand auf einen Quencher, die Anregungsenergien zum Triplettzustand des Quenchers ≤ 1.90 eV (≥ 653 nm) für RH123 **54** bzw. ≤ 2.43 eV (≥ 510 nm) für RH110 **1** seien. Die vertikale Anregungsenergie zum Singulettzustand des Quenchers muss mindestens 2.40 eV sein, um einen Singulett-Singulett-Energietransfer mit dem Fluoreszenzfarbstoff zu vermeiden. Zur Bestimmung der Anregungsenergien der DPH werden spektroskopische und quantenmechanisch errechnete Daten verwertet.

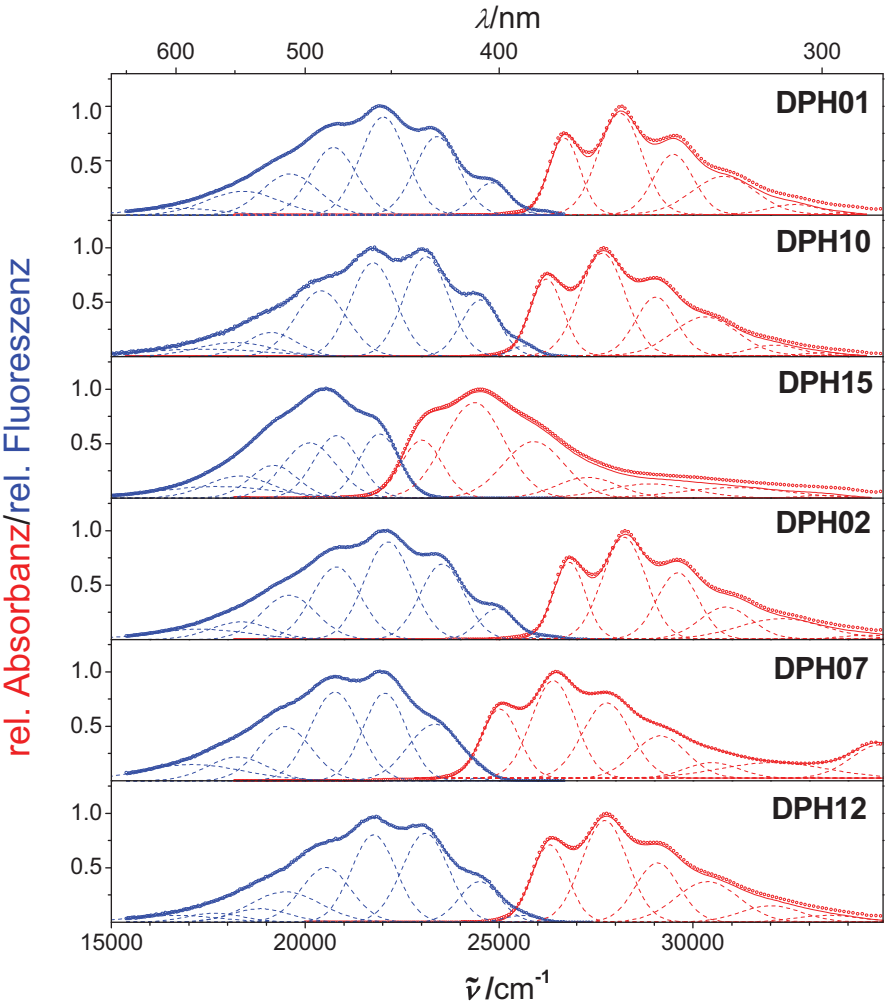


Abbildung 3.74: Absorptions- (rot) und Fluoreszenzspektren (blau) von ausgewählten Beispielen der synthetisierten DPH gemessen in THF (Kreise) mit multi-Gauss Analyse zur Bestimmung der einzelnen Bandenlagen (gestrichelt). Die durchgezogene Linie gibt den Gesamtfit wieder.

Die Übergangsenergie für eine adiabatische Anregung aus dem Grundzustand zu dem S_1-Zustand entspricht dem 0-0 Übergang im UV-Spektrum. Die Lage eines 0-0 Übergangs lässt sich anhand einer Bandenanalyse des Absorptionsspektrums bestimmen. Die Überlappung mit einem Fluoreszenzspektrum liefert Gewissheit. Beispielhaft sind in Abbildung 3.71 die Bandenanalysen der UV- und Fluoreszenzspektren von ausgewählten DPH dargestellt.[1] Es ergeben sich folgende experimentelle Werte für die adiabatischen Singulett-Anregungsenergien der synthetisierten DPH:

Tabelle 3-9: Wellenlängen und Energien in eV der 0-0 Übergänge der synthetisierten DPH. Lösungsmittel der gemessenen Spektren:
■: Cyclohexan ◊: Acetonitril ▲: Wasser □: Ethylacetat ●: Dichlormethan

Verbindung	Substituent			$\lambda_{0\text{-}0}$/nm	$E_{0\text{-}0}$/eV
	in ortho	in meta	in para		
DPH22		3-*N*-pyrindinyl		372 ■	3.33
DPH02	-H	-H	-F	374 ◊	3.32
DPH05	2 x -F	-H	-H	375 *	3.31
DPH09	-H	1 x -N_2O	-H	375 ■	3.31
DPH01	**-H**	**-H**	**-H**	378 ◊	3.28
DPH03	-F	-H	-H	378 *	3.28
DPH28	-H	-H	-$N^+(CH_3)_2Et$	379 ▲	3.27
DPH04	-H	-F	-H	379 *	3.27
DPH10	-H	-H	-CF_3	380 ◊	3.26
DPH12	-H	2 x -CF_3	-H	380 ◊	3.26
DPH11	-CF_3	-H	-H	380 *	3.26
DPH23		2-*N*-pyrindinyl		383 *	3.24
DPH17	-H	-H	-iPr	386 *	3.21
DPH25	-H	-H	-OH	386 □	3.21
DPH19	-H	-H	-Bu	386 ●	3.21
DPH18	-H	-H	-tBu	387 *	3.20
DPH26	-H	-H	-O-THP	392 *	3.16
DPH14	1 x -OCH_3	1 x -OCH_3	-OCH_3	392 *	3.16
DPH13	-H	-H	-OCH_3	393 *	3.15
DPH24		2-furenyl		395 *	3.14
DPH07	-H	-H	-CN	401 ◊	3.09
DPH15	-H	-H	-$N(CH_3)_2$	422 ◊	2.94
DPH16	-H	-H	-$N(Bu)_2$	446 *	2.78

Aus der Tabelle 3-9 geht hervor, dass alle vorgestellten DPH Anregungsenergien zum S_1-Zustand über 2.40 eV besitzen. Eine Fluoreszenzlöschung von Rhodaminfarbstoffen durch diese DPH ist daher auszuschließen.

Die niedrigste Triplettanregungsenergie entspricht der Bande des $S_{0(v = 0)} \leftarrow T_{1(v = 0)}$ Übergangs der Phosphoreszenzemission. Phosphoreszenzspektren der DP sind im Rahmen dieser Arbeit experimentell nicht zugänglich. Für die Abschätzung von Werten für die Triplettanregungsenergien werden daher quantenchemische Rechnungen an ausgewählten DPH zur Hilfe genommen. *C. M. Marian* bestimmte die notwendigen Ausgangssymmetrien mittels (TD)DFT und führte für die Triplettenergien DFT/MCRI-Rechnungen durch.[1] Zur Methodenkontrolle wurden auch die 0-0 Übergänge der Singulettanregung ermittelt und mit den experimentellen Werten verglichen.

Tabelle 3-10: Berechnete und experimentelle adiabatische Anregungsenergien für die S_1- und T_1-Zustände ausgewählter DPH.[1]

Verbindung	Substituent		$E_{S(0-0)}$exp/	$E_{S(0-0)}$cal/	↓	$E_{T(0-0)}$cal/eV
	in meta	in para	eV	eV	$\Delta E_{S(0-0)}$ /eV	
DPH01	-H	-H	3.28	3.10	0.18	1.39
DPH10	-H	$-CF_3$	3.26	3.06	0.20	1.37
DPH02	-H	-F	3.32	3.13	0.19	1.40
DPH07	-H	-CN	3.09	2.84	0.25	1.31
DPH12	2 x $-CF_3$	-H	3.26	3.06	0.20	1.37
DPH15	-H	$-N(CH_3)_2$	2.94	2.81	0.13	1.33

In Tabelle 3-10 ist eine gute Übereinstimmung der berechneten adiabatischen Singulettanregungsenergien mit den experimentell ermittelten Werten zu erkennen. Die theoretischen Werte liegen im Durchschnitt 0.19 ± 0.04 eV über den experimentellen. Nimmt man eine ähnliche Abweichung für die Triplettanregungsenergien an, so liegen alle errechneten Werte deutlich unterhalb der errechneten Energiegrenze der Rhodaminfarbstoffe von 1.82 eV. Die DPH sollten energetisch in der Lage sein, die angeregten Trilpettzustände von Rhodaminfarbstoffen zu quenchen.

3.9.3.4 FCS-Messungen an DPH

Leistungsabhängige FCS-Messungen an Rhodamin 123 (**54**) mit DPH als Quencherzusatz wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* durchgeführt.[44] Die Studien fanden in ethanolischen Lösungen mit einer Sauerstoffkonzentration von ca. 0.1 % statt. Die DPH wurden in Konzentrationen von 0 – 21 µM zugesetzt.

FCS-Messungen an DPH01: *D. Pfiffi* konnte zeigen, dass durch den Zusatz von **DPH01** die Lebensdauer des Triplettzustands von RH123 **54** T_t mit zunehmender DPH-Konzentration abnimmt (Abbildung 3.76, links). Die Fluoreszenzzählrate von Rhodamin 123 (**54**) steigt signifikant (Abbildung 3.73, rechts).

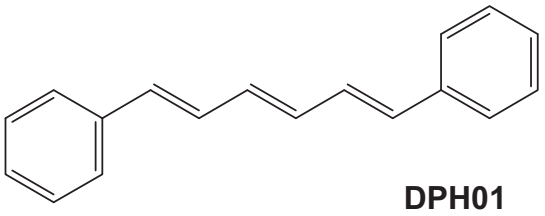


Abbildung 3.75: Struktur von **DPH01.**

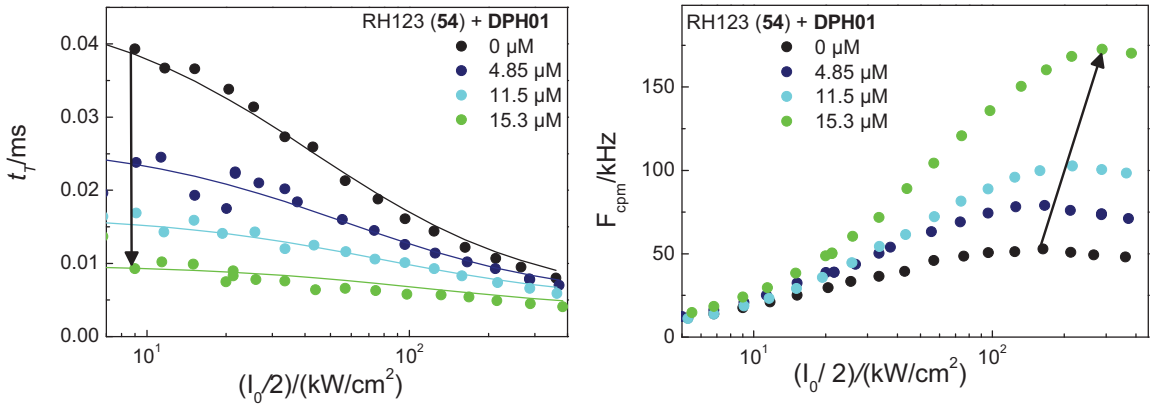


Abbildung 3.76:[1] Rechts: Korrelationszeit des Triplettzustands von Rhodamin 123 (**54**) in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von **DPH01.** Links: Fluoreszenzzählrate von Rhodamin 123 (**54**) mit **DPH01** in unterschiedlichen Konzentrationen.

Aus diesen Messungen lassen sich kinetische Parameter ableiten (siehe dazu auch die Dissertation von *D. Pfiffi*[105]). Trägt man die Relaxationsrate k_T des Triplettzustands und k_{ISC} gegen die **DPH01**-Konzentration auf so erhält man einen steigenden Zusammenhang (siehe Abbildung 3.78). Während die ISC-Rate und somit die Menge des gebildeten Triplettzustands von der Menge des zugegebenen Quenchers nicht beeinflusst wird, steigt die Triplettrelaxationsrate mit zunehmenden

Quencherkonzentrationen an. Dies entspricht der Verkürzung der Triplettlebensdauer t_T. Als Konsequenz der Löschung des Triplettzustands steigt wie vorhergesagt die Fluoreszenzrate. Die Zugabe von 15.3 µM **DPH01** führt zu einer Steigerung der Fluoreszenz um den Faktor drei.

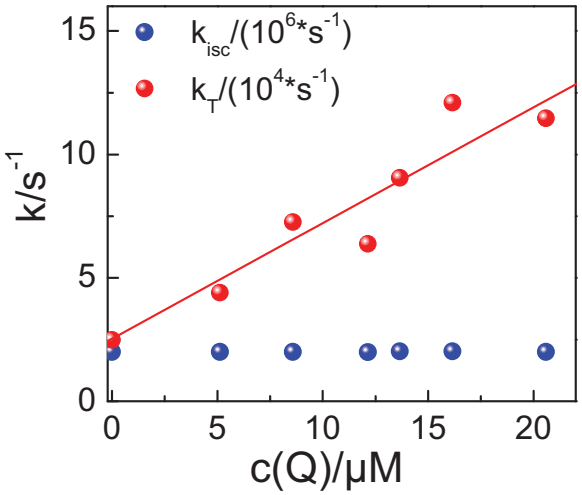


Abbildung 3.77:[1] Relaxationsrate k_T des Triplettzustands und die Inter-System-Crossing-Rate k_{isc} gegen die **DPH01**-Konzentration-

Eine leichte Verschiebung des Kurven Maximums ist durch die Quencherzugabe zu höheren Laserleistungen zu beobachten. Dies bedeutet, dass die Stabilität des Rhodamins durch die Zugabe von **DPH01** gesteigert wird.

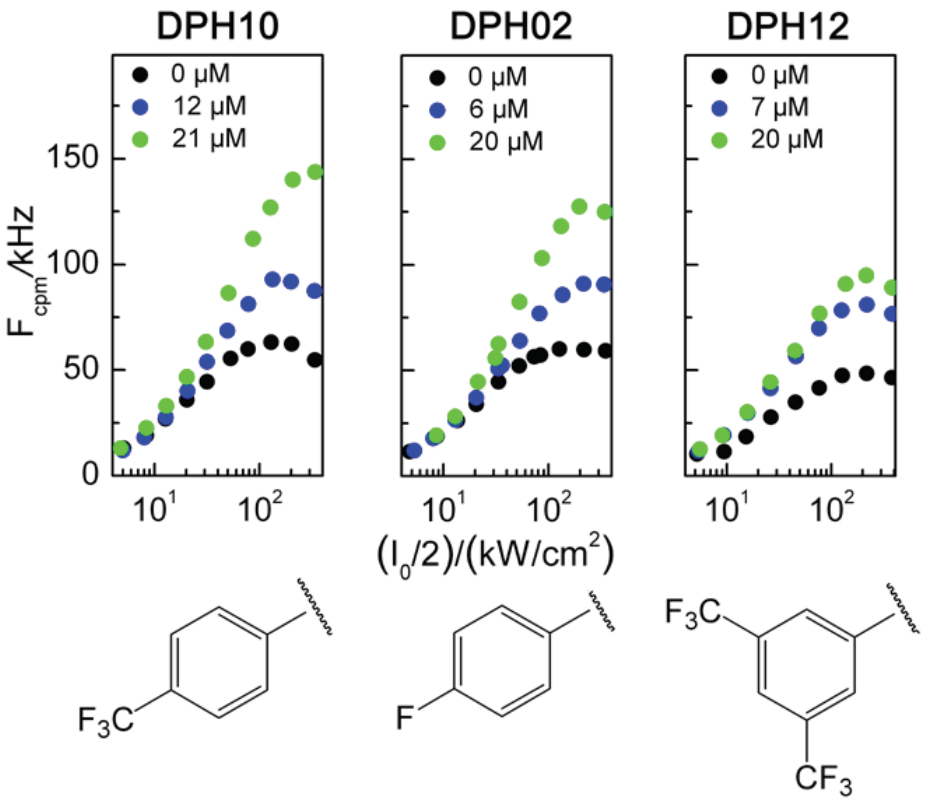


Abbildung 3.78:[1] Fluoreszenzzählraten (F_{cpm}) für RH123 **54** mit unterschiedlichen Konzentrationen von **DPH10, DPH02** und **DPH12.**

FCS-Messungen an DPH10, DPH02 und DPH12: FCS-Messungen, wie zuvor für **DPH10** beschrieben, wurden auch für die elektronenarmen **DPH10, DPH02** und **DPH12** durchgeführt.

Auch hier konnten Steigerungen der Fluoreszenzzählraten und erhöhte Photostabilität von Rhodamin 123 (**54**) durch den Zusatz von DPH als Triplettquencher beobachtet werden. Die elektronenziehenden Substituenten beeinflussen die Triplettquenchfähigkeit nicht. Auffällig ist, dass **DPH10** und **DPH02** ähnlichen großen Einfluss wie das unsubstituierte **DPH01** aufweisen. das **DPH12** jedoch die Fluoreszenzzählrate bei einer Konzentration von 20 µM nicht verdreifacht, sondern lediglich verdoppelt. Vergleicht man die Fluoreszenzzählraten und die Triplettpopulation von RH123 **54** bei unterschiedlichen Konzentrationen von **DPH01** und **DPH12** so erkennt man für **DPH12** in beiden Graphen eine Sättigung des Löschprozesses durch das Abflachen der Kurven.

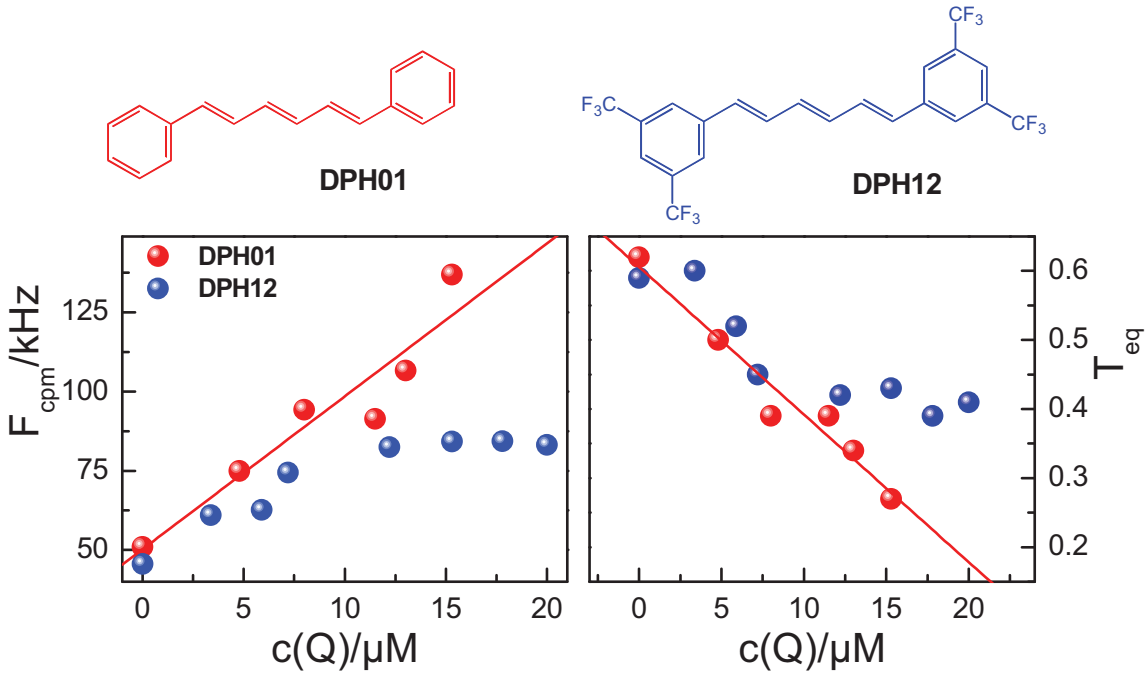


Abbildung 3.79: Fluoreszenzzählrate (links) und Triplettpopulation (rechts) von RH123 **54** bei verschiedenen Konzentrationen von **DPH01** (rot) und **DPH12** (blau) bei einer Laserleistung von $I_0/2$ = 100 kW/cm^2.

Bei geringen Konzentrationen sieht man einen linearen Anstieg; bei größeren Konzentrationen strebt das Quenchen gegen einen Grenzwert. Dies wird auf die geringe Löslichkeit von **DPH12** in Ethanol zurückgeführt. Eine Sättigung der Messlösung ist ab einer Konzentration von ca. 10 µM **DPH12** zu beobachten und erklärt die schwächere Quenchfähigkeit dieser Verbindung im direkten Vergleich mit den anderen betrachteten Derivaten.

Die Löslichkeit von allen DPH in alkoholischen und wässrigen Systemen ist gering. Wie in Kapitel 3.9.3.1.5 beschrieben, wurden Versuche unternommen Derivate mit erhöhter Wasserlöslichkeit zu synthetisieren. Es gelang jedoch nicht für Quencher-Maßlösungen wasserlösliche DPH in einer einsetzbaren Menge zu gewinnen.

Diese Untersuchungen zeigen, dass Diphenylhexatriene als Quencher für den angeregten Triplettzustand von Rhodaminfarbstoffen hervorragend geeignet sind. Ihr Quenchpotential wird jedoch durch die geringe Löslichkeit in den Solvatationsmedien limitiert. Um die lokale Konzentration von DPH in der Nähe vom Rhodaminfarbstoff ausreichend hoch für einen Energietransfer nach dem Dextermechanismus zu erreichen (siehe Kapitel 3.6.1.2), sollen kovalente Bichromophorsysteme aus Quencher und Fluorophor aufgebaut werden. Diese Strategie wird in Kapitel 3.10 erklärt.

3.9.4 Azobenzole

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Synthese einer Bibliothek von Azobenzolderivaten durchgeführt.

3.9.4.1 Synthese

Zur Darstellung von Azobenzolen gibt es verschiedene Synthesestrategien. Die wohl bekannteste Route besteht aus der Diazotierung eines primären, aromatischen Amins und der anschließenden Azokupplung an einen elektronenreichen Aromaten.

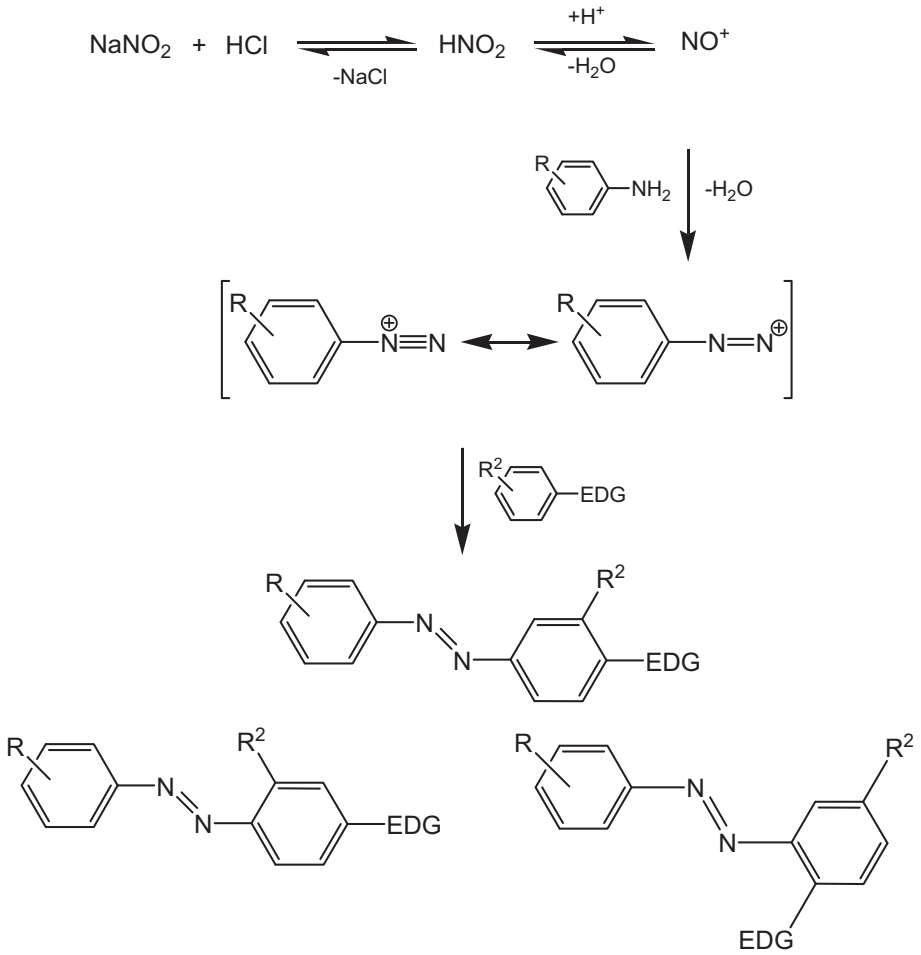


Abbildung 3.80: Reaktionsschema einer Diazotierung und einer Azokupplung. EDG: elektronendonierende Gruppe.

Der elektronendonierende Substituent befindet sich wenn möglich nach der Kupplung in der *para*-Position zur Azobindung. Eine 1,4-Zweitsubstitution des ankoppelnden Aromaten führt zur *ortho*-Position der EDG im Azobenzol.

Eine Auswahl von Azobenzolen wird durch diese klassische Synthesestrategie hergestellt. Da bisher in den Untersuchungen von *S. Felekyan* und *P. Taureg* keine Struktur-Quenchpotential-Beziehung für Azobenzole erarbeitet wurde, richtet sich das Substitutionsmuster der synthetisierten Derivate nach der Verfügbarkeit der Edukte.[45, 46] Die folgenden Derivate wurden durch die Umsetzung von aromatischen Verbindungen mit Natriumnitrit (**140**) und Salzsäure bei T< 5 °C dargestellt.[106] Die Synthesen haben Ausbeuten bis 95 %.

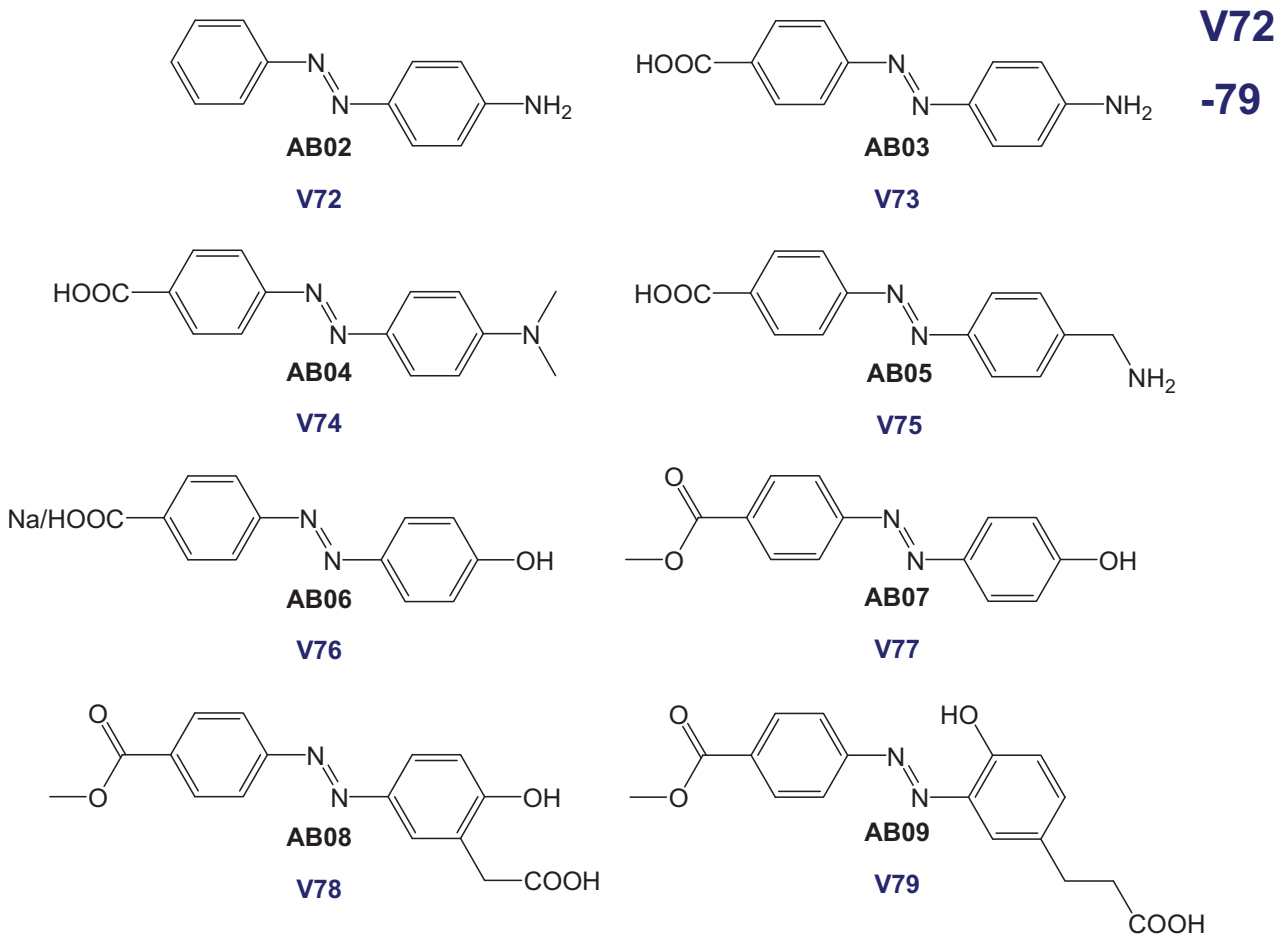
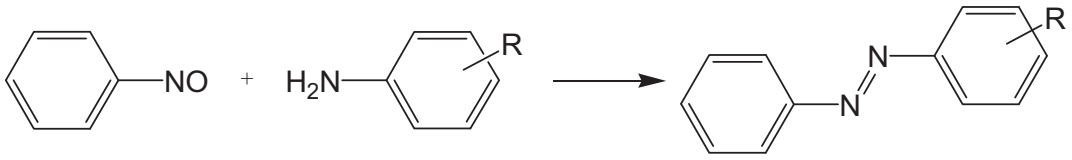




Abbildung 3.81: Photos ausgewählter synthetisierter **AB.**

Eine weitere Möglichkeit das Azobenzolgerüst aufzubauen ist die Umsetzung von primären, aromatischen Aminen mit Nitrosobenzol (**141**) in Eisessig bei Raumtemperatur. So erhält man einseitig substituierte Derivate.

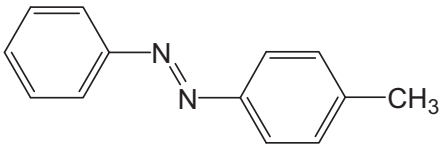


141

Die folgenden Azobenzolderivate können auf diese Weise hergestellt werden:

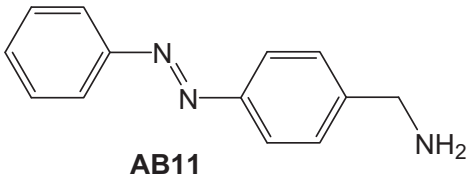
V80

-85



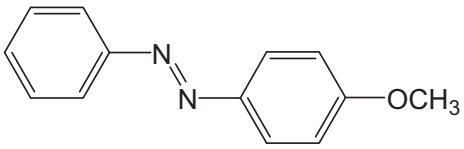
AB10

V80



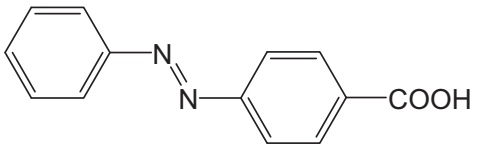
AB11

V81



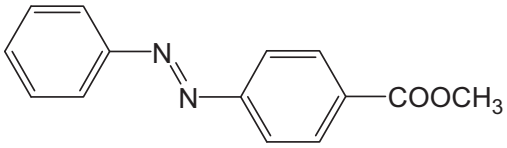
AB12

V82



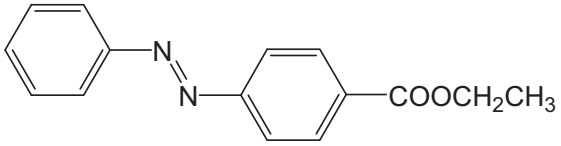
AB01

V83



AB13

V84



AB14

V85

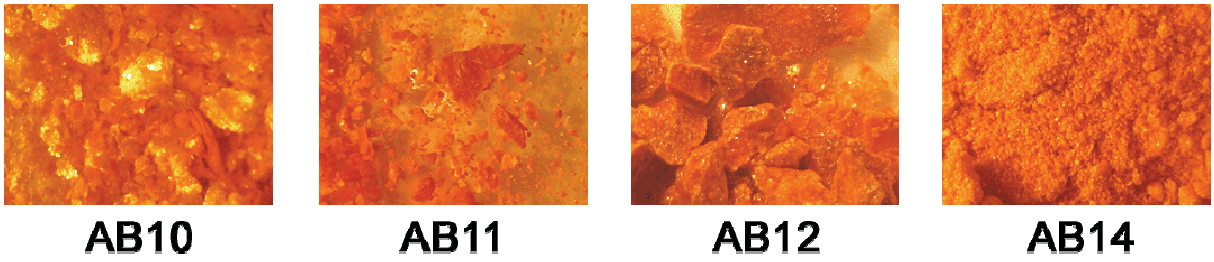
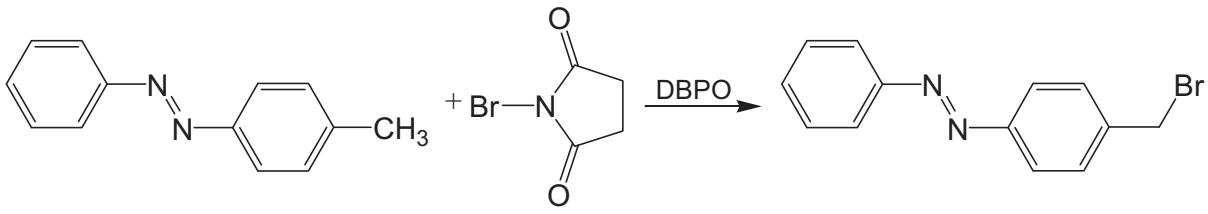


Abbildung 3.82: Photos einiger synthetisierter Azobenzole.

Die Derivatisierung von Azobenzolen kann durch Reaktionen wie Veretherung oder Bromierung erfolgen.

V86: Setzt man 4-Methylazobenzol (**AB10**) mit NBS (**142**) um so erhält man 4-(Brommethyl)azobenzol (**AB15**) in quantitativer Ausbeute.

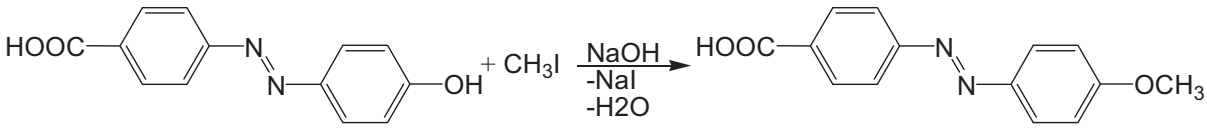
V86



AB10 **142** **AB15**

V87: Phenolische Azobenzole lassen sich über eine Williamson-Synthese mit Mehtyliodid (**128**) und Natronlauge in Methylether überführen.

V87



AB06 **128** **AB16**

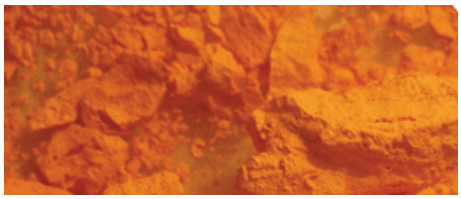
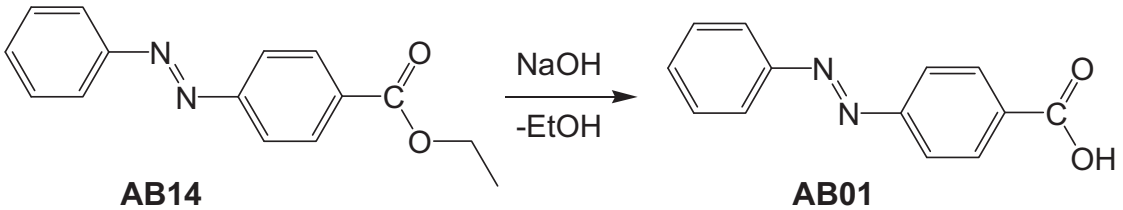


Abbildung 3.83: AB16 als orangefarbener Feststoff.

4'-Carboxy-4-methoxyazobenzol (**AB16**) erhält man so aus 4'-Carboxy-4-hydroxy-azobenzol (**AB06**) in einer Ausbeute von 10 %.[107]

V88: Diazenylische Ethylbenzoate können in ethanolischer Kaliumhydroxidlösung zur freien Carbonsäure verseift werden.

V88



AB14 **AB01**

Die Synthese von 4-(Phenyldiazenyl)benzoesäure (**AB01**) aus Ethyl-4-phenyldiazenylbenzoat (**AB14**) verläuft mit einer Ausbeute von 88 %.[108]

3.9.4.2 Redoxpotentiale von Azobenzolen

In Kapitel 3.6.3 wurde erläutert, dass die Redoxpotentiale potentieller Quencher Aussagen über eine mögliche Reduktion bzw. Oxidation von Fluoreszenzfarbstoffen im angeregten Zustand ermöglichen. Die Redoxpotentiale ausgewählter, hier synthetisierter *para*-substituierter Azobenzole wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* cyclovoltametrisch bestimmt.[1, 102]

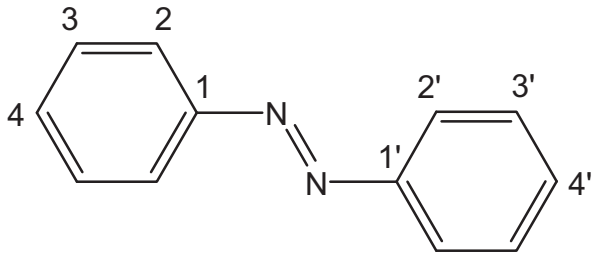


Abbildung 3.84: Allgemeine Struktur von Azobenzol mit Nummerierung der möglichen Substitutionspositionen.

Tabelle 3-11: Redoxpotentiale von ausgewählten Azobenzolen gemessen in DMF vs. NHS[102].

AB	*Substituent in*		E^{ox}_{NHS} /V	E^{red}_{NHS} /V
	4	*4'*		
AB01	*-H*	*-COOH*	*2.06*	*-0.81*
AB07	*-OH*	*-$COOCH_3$*	*1.31*	*-0.82*
AB16	*-OCH_3*	*-COOH*	*1.34*	*-0.96*
AB13	*-H*	*-$COOCH_3$*	*2.06*	*-0.99*
AB10	*-CH_3*	*-H*	*1.93*	*-1.29*
AB03	*-NH_2*	*-COOH*	*1.12*	*-1.55*
AB02	*-NH_2*	*-H*	*1.07*	*-1.54*

Ermittelt man die freie Enthalpie ΔG^0 eines Elektronentransfers zwischen angeregtem Rhodamin 123 (**54**) und den Azobenzolen nach *Rehm-Weller* (siehe Kapitel3.6.3), so findet man, dass das Azobenzolderivat **AB10** mit einer Methylgruppe keine

Redoxreaktion mit angeregtem RH123 **54** eingeht. Die Derivate **AB01** und **AB13** sind einseitig mit elektronenziehenden Substituenten versehen. Sie können zur Oxidation des singulettangeregten RH123 **54** führen. **AB07** und **AB16,** die zusätzlich zum elektronenziehenden Rest einen Methoxysubstituenten aufweisen, können den T_1-Zustand von RH123 **54** reduzieren und den S_1-Zustand oxidieren. Die aminosubstituierten Azobenzole **AB03** und **AB02** können RH123 **54** sowohl im S_1- und T_1-Zustand reduzieren.

Tabelle 3-12: Enthalpien der Reduktion bzw. Oxidation des S_1 bzw. T_1-angeregten Rhodamin 123 (**54**) ($E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@S_1)$ = 2.32 eV, $E(^1F_0@S_1 \leftarrow {}^1F_1@T_1)$ = 1.90 eV) durch verschiedene Azobenzole**.** Rote Felder entsprechen potentieller Reduktionen des angeregten RH123 **54**; gelbe Felder potentieller Oxidationen.

	$\Delta G^0_{red}/eV$		$\Delta G^0_{ox}/eV$	
	S_1	T_1	S_1	T_1
AB01	*0.77*	*0.35*	*-0.36*	*0.06*
AB07	*0.02*	*-0.40*	*-0.35*	*0.07*
AB16	*0.05*	*-0.37*	*-0.21*	*0.21*
AB13	*0.77*	*0.35*	*-0.18*	*0.24*
AB10	*0.64*	*0.22*	*0.12*	*0.54*
AB03	*-0.17*	*-0.59*	*0.38*	*0.80*
AB02	*-0.22*	*-0.64*	*0.37*	*0.79*

Aus diesen Untersuchungen lässt sich ableiten, dass zur Vermeidung von Redoxreaktionen mit dem angeregten Fluoreszenzfarbstoff RH123 **54** Azobenzolderivate ohne Substituenten oder mit schwach elektronenschiebenden bzw. –ziehenden Substituenten als Quencher eingesetzt werden müssen.

3.9.4.3 Übergangsenergien von Azobenzolen

In Kapitel 3.71 wurde beschrieben, dass für einen effektiven Energietransfer von einem Rhodaminfarbstoff im Triplettzustand auf einen Quencher, die Anregungsenergien zum Triplettzustand des Quenchers ≤ 1.90 eV (≥ 653 nm) für RH123 **54** bzw. ≤ 2.43 eV (≥ 510 nm) für RH110 **1** sein müssen. Die vertikale Anregungsenergie zum Singulettzustand des Quenchers muss > 2.43 eV sein, um einen Singulett-Singulett-Energietransfer mit dem Fluoreszenzfarbstoff zu verhindern.
Zur Bestimmung der Anregungsenergien der Azobenzole in den S_1-Zustand wird die UV-Absorption betrachtet. Das Absorptionsmaximum von Azobenzolen liegt meist zwischen 320 nm und 370 nm. Dies entspricht mit 3.35 - 3.87 eV der vertikalen Anregung in den S_1-Zustand. Die entsprechenden UV-Spektren sind in Kapitel 6 bei den Versuchsbeschreibungen abgebildet. Die langwellige Absorptionsgrenze liegt bei 500 nm (2.48 eV). Damit liegen die Singulettanregungsenergien von Azobenzolen über den 2.40 eV der Rhodaminfluoreszenz und eine effektive Fluoreszenzlöschung durch einen Singulett-Singulett-Energietransfer kann ausgeschlossen werden.
Triplettanregungsenergien der Azobenzole aus Emissionsspektren sind nicht bekannt. Sie wurden jedoch von *Monti et al.* durch Triplettlöschexperimente und SCF CI-Rechnungen auf 29-35 kcal/ mol (1.26 – 1.51 eV) abgeschätzt.[62, 109] Die Rechnungen konnten auch zeigen, dass die Triplettenergien von Azobenzolen weitgehend substitutionsunabhängig sind. Berechnungen von *Astrand et al*. konnten diese Beobachtungen bestätigen.[110] Die Triplettenergien von Azobenzolen sind mit ca. 1.5 eV kleiner als die Triplettanregungsenergien von Rhodaminfarbstoffen. Ein Triplett-Triplett-Energietransfer von einem Rhodamin auf ein Azobenzol ist daher möglich.

3.9.4.4 FCS-Messungen an Azobenzolen

Leistungsabhängige FCS-Messungen an Rhodamin 123 (**54**) mit Azobenzolen, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurden, als Quencherzusatz in Ethanol wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* durchgeführt.[44, 105]

FCS-Messungen an AB01:

Normierte Korrelationskurven mit steigenden Azobenzolkonzentrationen wurden bei verschiedenen Leistungsdichten gemessen. Das Azobenzol **AB01** wurde in Konzentrationen von 0 – 386 µM zugesetzt.

AB01

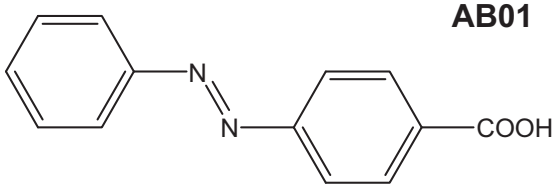


Abbildung 3.85: Struktur von **AB01.**

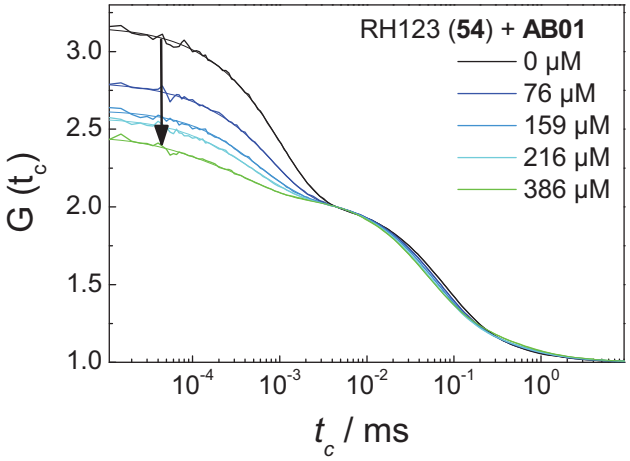


Abbildung 3.86: Normierte FCS-Kurven von Rhodamin 123 (**54**) mit **AB01** unter¬schied¬licher Konzentration und einer Leistungsdichte von 450 kW/cm^2 .[105]

Es konnte gezeigt werden, dass durch den Zusatz von **AB01** die Korrelationszeit des Triplettzustands von RH123 **54** (T_t) und damit auch die Lebensdauer (t_T) mit zunehmender Azobenzolkonzentration abnimmt (Abbildung 3.82, links). Die Fluoreszenzzählrate (F_{cpm}) von Rhodamin 123 (**54**) steigt signifikant (Abbildung 3.87, rechts). Bei einer Zugabe von **AB01** in einer Konzentration von 386 µM gelang es die Fluoreszenz annähernd zu verdreifachen.

Eine leichte Verschiebung des Kurven Maximums ist durch die Quencherzugabe zu höheren Laserleistungen zu beobachten. Dies bedeutet, dass die Stabilität des Rhodamins durch die Zugabe des Azobenzols gesteigert werden konnte.

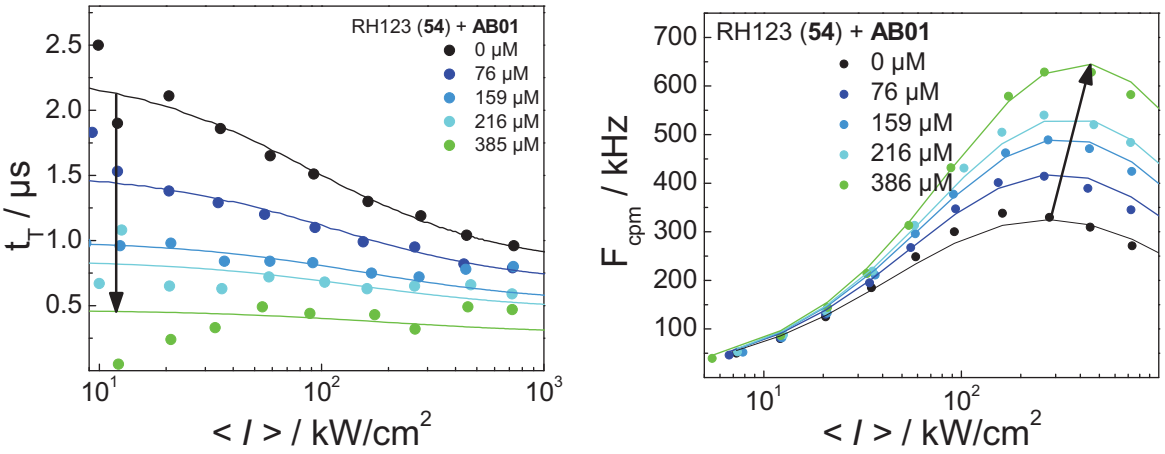


Abbildung 3.87:[105] Links: Fluoreszenzzählrate von Rhodamin123 (**54**) mit **AB01** in unterschiedlichen Konz¬entrationen. Rechts: Korrelationszeit des Triplettzustands von Rhodamin123 (**54**) in Gegenwart unter¬schiedlicher Konzentrationen von **AB01**.

FCS-Messungen an AB03:

Für das Azobenzolderivat **AB03** konnte durch Messungen der Fluoreszenzzählrate von RH123 **54** bei steigenden Laserleistungen (*Power Series*) und steigenden Azobenzolkonzentrationen eine Steigerung Signalstärke und der Photostabilität des Fluorophors nachgewiesen werden.[44] Die Messresultate sind in Abbildung 3.89 dargestellt. Das Azobenzol **AB03** wurde in Konzentrationen von 0 – 783 µM zugesetzt. Eine Steigerung von über einem Faktor fünf konnte beobachtet werden.

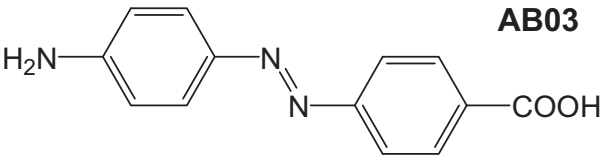


Abbildung 3.88: Struktur von **AB03.**

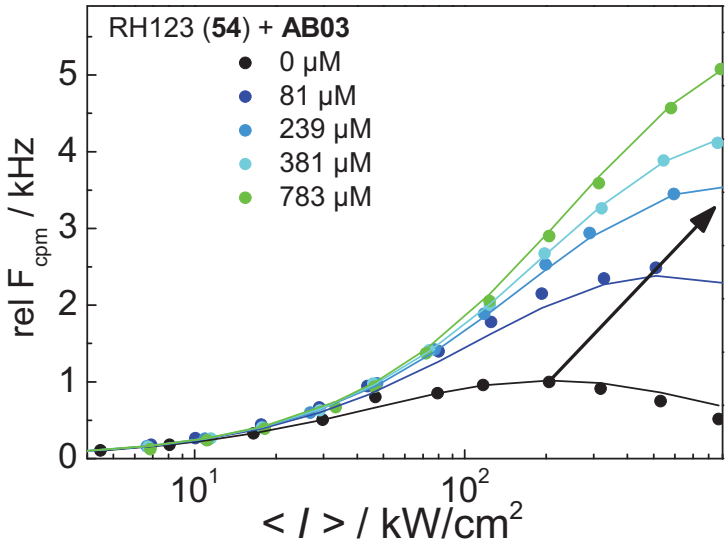


Abbildung 3.89: Fluoreszenzzählrate von Rhodamin 123 (**54**) mit **AB03** in unterschied¬lichen Konzentrationen.[44]

Tripletquenchraten von AB01 und AB03: Trägt man die Relaxationsrate k_T des Triplettzustands und k_{ISC} gegen die Azobenzolkonzentration auf so erhält man lineare Zusammenhänge.

$$k_T^Q = k_T^0 + k_q \cdot [Q] \quad \text{bzw.} \quad k_{ISC}^Q = k_{ISC}^0 + k_q' \cdot [Q] \qquad (\mathbf{3.15, 3.16})$$

k_T : Relaxationsrate des Triplettzustands mit (Q) bzw. ohne (0) Quencher.

k_q :Quencherabhängige Relaxationsrate des Triplettzustands

[Q]: Quencherkonzentration

k_q ': Quencherabhängige Intersystem Crossingrate

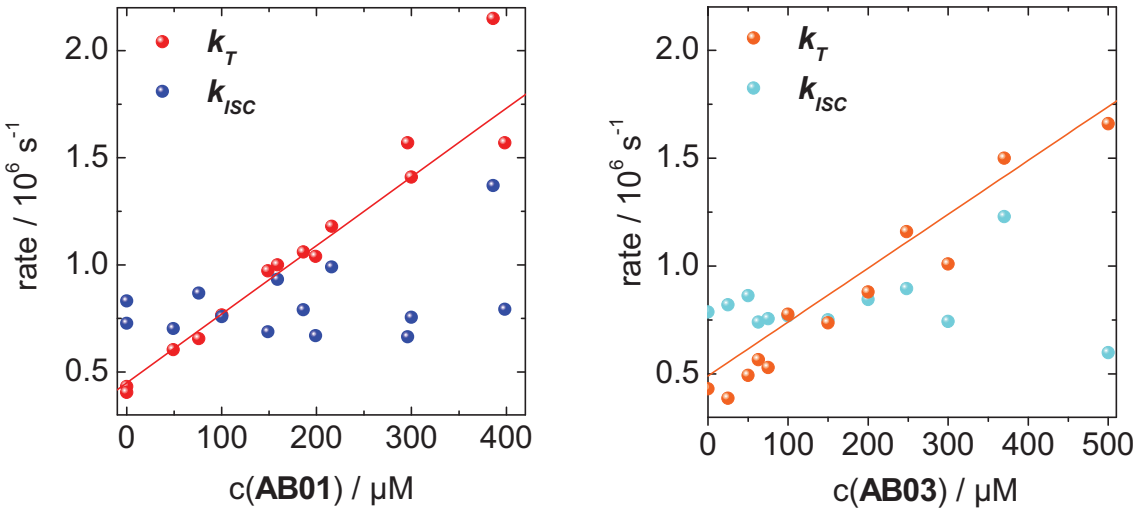


Abbildung 3.90:[44] Auftragung der Relaxationsrate k_T des Triplett¬zustands (rot bzw. orange) und der Inter-System-Crossing-Rate k_{ISC} (blau bzw. türkis) gegen die Konzentration von **AB01** bzw. **AB03**.

Während die ISC-Rate k_{ISC} und somit die Menge des gebildeten Triplettzustands von der Menge des zugegebenen Quenchers nicht beeinflusst wird, steigt die Triplettrelaxationsrate mit zunehmenden Quencherkonzentrationen an. Dies entspricht der Verkürzung der Triplettlebensdauer t_T.
Aus der Steigung der Auftragung der Triplettrelaxationsrate gegen die Quencherkonzentration ergeben sich die folgenden Werte:

Tabelle 3-13:[44] Tripletquenchrate k_{qT} ausgewählter Azobenzole für RH123 (**54**).

AB	*Substituent in*		*k_{qT} / M·s*
	4	*4'*	
AB01	*-H*	*-COOH*	*$2.5 \cdot 10^9$*
AB03	*-NH_2*	*-COOH*	*$3.6 \cdot 10^9$*

Als Konsequenz der Löschung des Triplettzustands steigt wie vorhergesagt die Fluoreszenzzählrate. Je größer die Tripletquenchrate k_{qT} desto größer ist die erwartete Signalsteigerung der Fluoreszenz des Rhodamin 123 (**54**). Sowohl **AB01** und **AB03** zeigen diese Wirkung.

Diese Untersuchungen zeigen, dass Azobenzole als Quencher für den angeregten Triplettzustand von Rhodaminfarbstoffen geeignet sind.[44] Als Additive können sie die Fluoreszenz steigern und die Photostabilität erhöhen.

3.9.5 Quenchleistung der potentiellen Quencher

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Bibliothek von Triplettquenchern für Rhodaminfarbstoffe synthetisiert. Sowohl Cyclooctatetraen- (**COT**), Diphenylhexatrien (**DPH**) und Azobezolderivate (**AB**) haben sich als geeignet erwiesen. Durch die Zugabe von ausgewählten Quenchern konnten die Fluoreszenzzählraten F_{cpm} von Rhodamin 123 (**54**) je nach Verbindungsklasse um einen Faktor zwei bis fünf erhöht werden (siehe Tabelle 3-14).

Tabelle 3-14: Relative Steigerung der Fluoreszenzzählrate F_{cpm} von Rhodamin 123 (**54**) in Abhängigkeit der zugesetzten Menge Quencher.

Quencher	**Q**/µmol	rel. Steigerung der $\mathbf{F_{cpm}}$	rel. Steigerung der $\mathbf{F_{cpm}}$**/100 µmol** Quencher
COT01	726	1.80	0.248
DPH01	15	3.26	21.7
DPH10	21	2.27	10.8
DPH02	20	3.28	16.4
DPH12	20	1.95	9.75
AB03	783	5.01	0.640
AB01	386	1.92	0.497

Betrachtet man die Steigerungen der Fluoreszenzzählraten F_{cpm} pro zugesetzten 100 µmol ausgewählter synthetisierter Quencher so erkennt man, dass bei gleicher Konzentration die **COT**- und **AB**-Derivate merklich geringere Wirkung auf die Fluoreszenzzählrate aufweisen als die **DPH**-Derivate (siehe Abbildung 3.91).

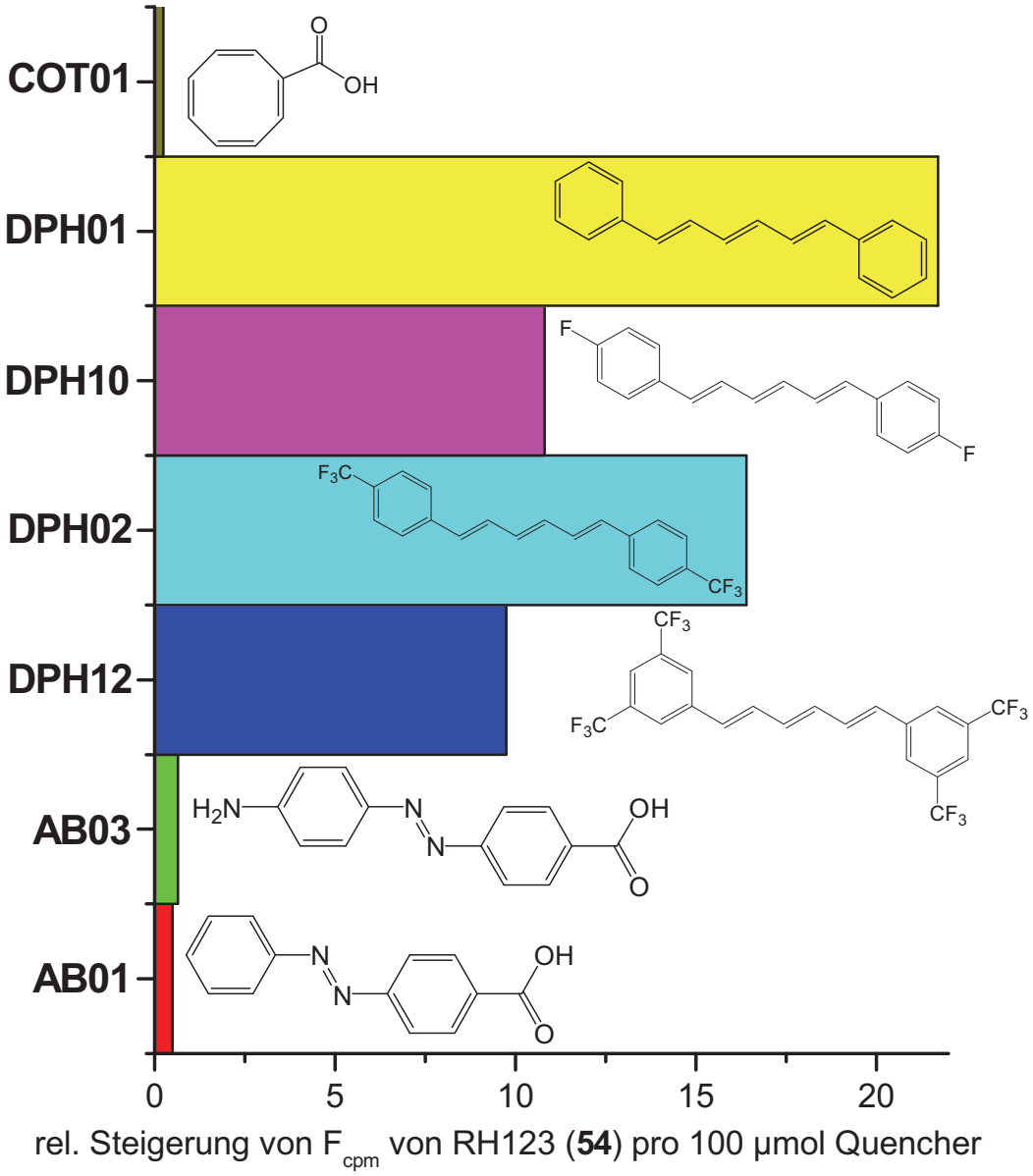


Abbildung 3.91: Relative Steigerung der Fluoreszenzzählrate F_{cpm} von Rhodamin 123 (**54**) in Abhängigkeit der zugesetzten Menge ausgewählter Quencher.

Für die FCS-Messungen in denen der Quencher einer ethanolischen Rhodaminlösung oder wässrigen Puffersystemen zugesetzt wurde hat sich die geringe Löslichkeit der **DPH** als problematisch erwiesen. Da sich nur geringe Mengen der hydrophoben Quencher lösen, sind vergleichbare absolute Steigerungen wie mit den löslicheren **AB** in diesen Additivstudien nicht möglich.

3.10 Bichromophore

In den vorherigen Kapiteln wurden **C**yclo**o**cta**t**etraen- (COT), **D**i**p**henyl**h**exatrien- (DPH) und **A**zo**b**enzol- (AB) Derivate als Triplettquencher für Rhodaminfarbstoffe identifiziert. Die FCS-Untersuchungen an Rhodamin 123 (**54**) haben gezeigt, dass die Triplett-Relaxationsrate k_T des Rhodamins mit der Konzentration des zugesetzten Quenchers ansteigt. Je höher die Konzentration an Quencher in der Messlösung, desto kürzer ist die Triplettlebensdauer des Rhodamins. Diese Beobachtung überrascht nicht, da Löschprozesse abstandsabhängig sind (siehe Kapitel 3.6.5). Hohe Konzentrationen von Zusätzen sind bei einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen aber unerwünscht, da Wechselwirkungen mit der Versuchsprobe den zu untersuchenden Prozess beeinflussen, unterbinden oder weitere Nebenreaktionen auslösen können. Je nach ihren spektroskopischen Eigenschaften können zugesetzte Löscher z. B. durch Absorption oder Eigenfluoreszenz auch die Detektion stören. Um die Quencherkonzentration in den Versuchslösungen niedrig zu halten, und dennoch eine ausreichende räumliche Nähe von Fluoreszenzfarbstoff und Quencher für eine effektive Triplettlöschung zu gewährleisten, werden kovalent gebundene **Bic**hromophore (BCs) entworfen.

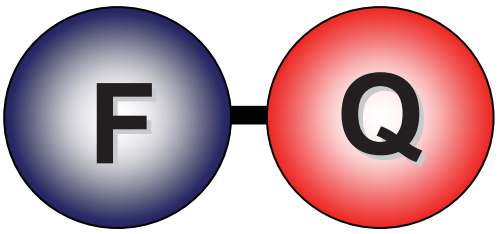


Abbildung 3.92: Einfaches Aufbauschema eines Bichromophors aus Fluorophor (F) und Quencher (Q).

3.10.1 Aufbaustrategien von Bichromophoren

Im Rahmen dieser Arbeit werden Bichromphorsysteme aus Fluorophor und Quencher entwickelt. Ziel dieser Entwicklung ist der Aufbau von Systemen in denen eine räumliche Nähe der Chromophore für eine effektive Triplettlöschung des Fluoreszenzfarbstoffs garantiert ist. Zum Aufbau der Bichromophore werden Fluoresceine und Rhodamine als Fluoreszenzfarbstoffe eingesetzt.

Um eine definierte Anordnung der jeweiligen Chromophoren von Fluorophor und Quencher in einem Bichromophor planen zu können, muss die räumliche Struktur der Farbstoffe bekannt sein.

Bei Rhodaminen und Fluoresceinen stellt die Xanthenyleinheit den Chromophor dar. Als Beispiel wird hier die räumliche Struktur von Rhodamin123 (**54**) rechts in Abbildung 3.93 gezeigt.

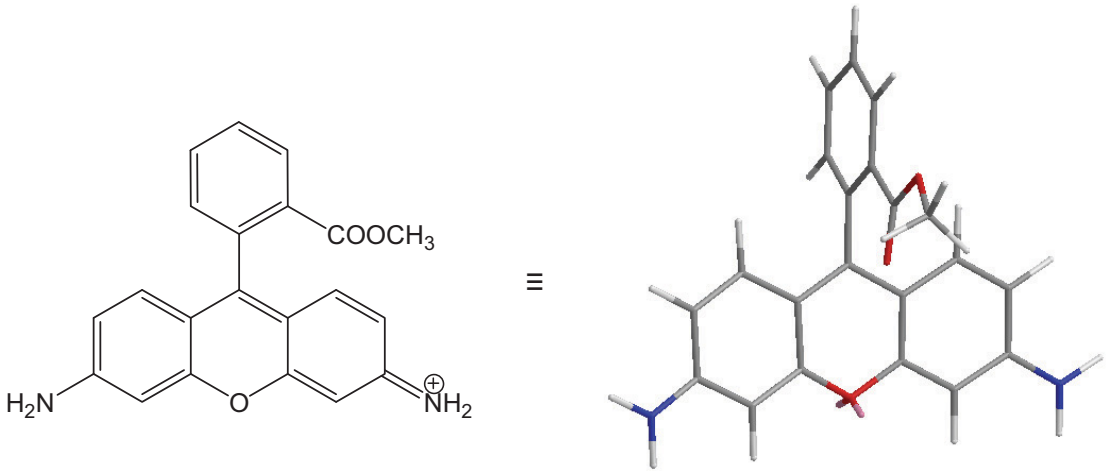


Abbildung 3.93: Struktur von Rhodamin123 (**54**). Links ist die Lewisstruktur abgebildet; rechts die räumliche Struktur in der Stabdarstellung berechnet mit MM2[111].

Man erkennt, dass die Xanthenylebene senkrecht zum Phenylring steht. Der Phenylring eignet sich als Modifikationsort für die Erzeugung eines Bichromophors, da er durch die fehlende Konjugation elektronisch nur wenig induktiv wechselwirkt. Die Xanthenyleinheit sollte möglichst wenig beeinflusst werden, um die guten Fluoreszenzeigenschaften nicht zu verändern. Dies wird auch bei der Herstellung von Fluo-

reszenz-*labeling*-Farbstoffen berücksichtigt. Diese Farbstoffe besitzen eine aktivierte Koppelgruppe, meist in 5'- oder 6'-Position, über welche die Bindung ans biologische Material erfolgt.

Cyclo**o**cta**t**etraene (COT), **D**i**p**henyl**h**exatriene (DPH) und **A**zo**b**enzole (AB) als Verbindungsklassen, die Quencher für Rhodaminfarbstoffe darstellen, wurden bereits diskutiert (siehe Kapitel 3.8).

Um eine Fluorophor- und eine Quenchereinheit in einem Bichromophormolekül unterzubringen, kann man unterschiedliche Strategien verfolgen.

3.10.1.1 Modifikationsstrategie

Eine Möglichkeit des Bichromophoraufbaus ist die kovalenten Verknüpfung von Fluorophor- und Quencherbausteinen über einen Linker stellt die Modifikationsstrategie dar. Dabei wird ein Teil eines Fluorophormoleküls, durch chemische Modifikationen in eine Quenchereinheit, umgewandelt. In der Einleitung dieses Kapitels zum Aufbau von Bichromophoren wurde erläutert, dass im Falle der Rhodamin- und Fluoresceinfarbstoffe sich der einzelne Phenylring für strukturelle Veränderungen im Molekül anbietet, damit die Fluoreszenzeigenschaften des Xanthenchromophor bestehen bleiben.

Diese Aufbaustrategie eignet sich vor allem für Quencher mit Phenylgruppen. Im Rahmen dieser Arbeit eignen sich dazu die Verbindungsklassen der **D**i**p**henyl**h**exatriene (DPH) und **A**zo**b**enzole (AB).

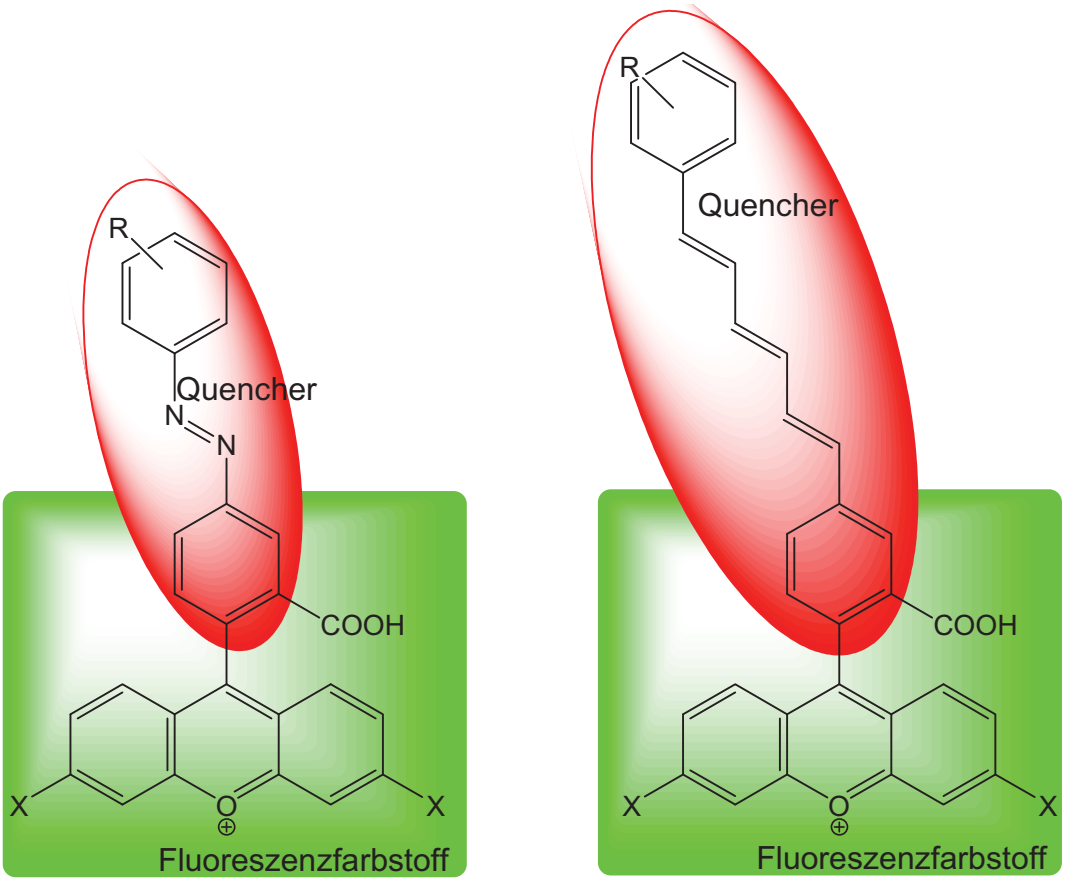


Abbildung 3.94: Strukturbeispiele von Bichromophoren nach der Modifikationsstrategie mit einer Azobenzoleinheit links bzw. Diphenylhexatrieneinheit rechts als intramolekularen Quencher (rot). Als Fluoreszenzfarbstoff (grün) können Fluorescein (**2**) (X = OH) oder Rhodamine (X = NR_2) eingesetzt werden.

Berücksichtigt man die Verdrillung des Xanthenchromophors zum einzelnen Phenylring in Fluorescein (**2**) und Rhodaminen, so kann man davon ausgehen, dass in einem Bichromophor nach der Modifikationsstrategie die Ebene der Quenchereinheit ebenso um etwa 90° verdreht zur Fluorophorebene ist. Ob diese Anordnung der Einheiten zu einer effektiven Überlappung von den Wellenfunktionen für einen Energietransfer nach dem Dexter-Mechanismus geeignet ist wird experimentell geklärt werden müssen. Dazu wird in dieser Arbeit ein Bichromophor nach der Modifikationsstrategie mit einer Quenchereinheit von Azobenzoltyp synthetisiert.

3.10.1.2 Verknüpfungsstrategie

Eine Alternative zur Modifikationstrategie ist die kovalente Verknüpfung von Quencher und Fluorophor. Für eine kovalente Kopplung eines Löschers an Rhodamine mit möglichst geringem Einfluss auf die hervorragenden Fluoreszenzeigenschaften eignet sich, wie in Kapitel 3.10.1 diskutiert wurde, der einzelne Phenylring. Als nützlich erweisen sich bei diesem Syntheseansatz die bereits erwähnten *Labeling*-Farbstoffe. Man kann die Farbstoffe als aus der Synthese stammendes Isomerengemisch oder aufgereinigt als 5'- oder 6'-Carboxyisomer erwerben.

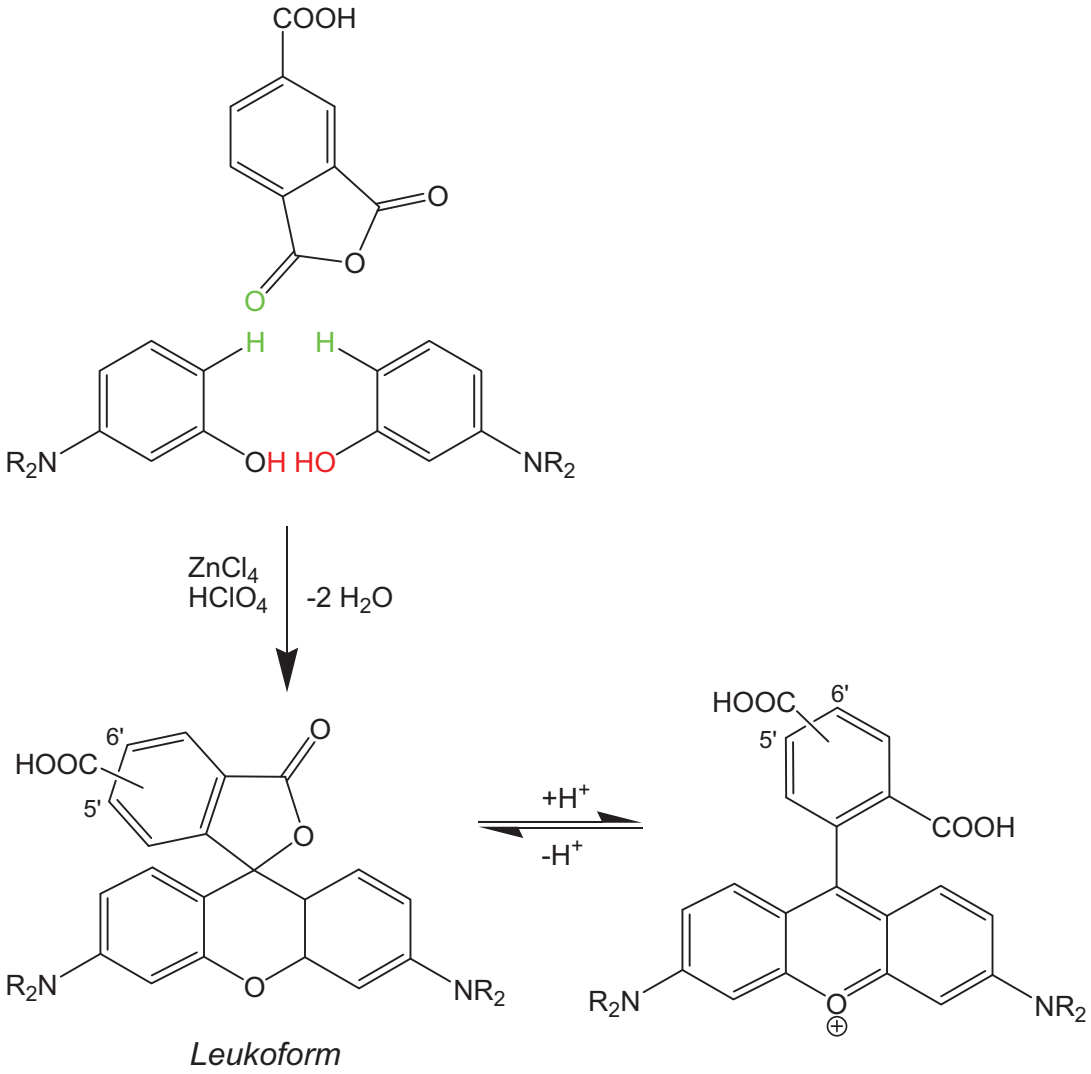


Abbildung 3.95: Allgemeines Syntheseschema von Rhodaminfarbstoffen.

In den kommerziellen Fluoreszenzmarker von Rhodamintyp ist die Carboxylgruppe in 5’ bzw. 6’-Position aktiviert. Als aktivierte Kopplungsstellen dienen Funktionalitäten wie z.B. NHS-Ester, Maleimide, Azide, Isothiocyanate oder Alkine. Auch Fluoresceinderivate mit einer aktivierten Carboxylgruppe in 5’ bzw. 6’-Position werden kommerziell angeboten.

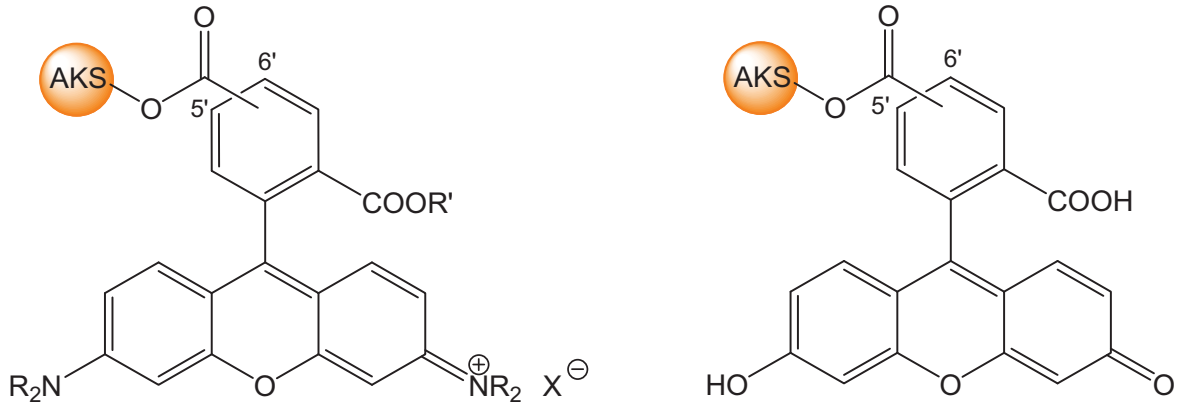


Abbildung 3.96: Allgemeine Strukturen aktivierter Rhodamin und Fluoresceinderivaten. AKS: **a**ktivierte **K**oppel**s**telle.

Würde man nun einen Quencher über diese aktivierten Koppelstellen an den Fluoreszenzfarbstoff binden, so befänden sich Quencher und Fluorophor auf gegenüber liegenden Enden des Phenylrings. Der Abstand einer solchen Anordnung beträgt ca. 10 Å. Eine Überlappung der Wellenfunktionen von Quencher und Fluorophor, eine Vorraussetzung für den hier erforderlichen Dexter-Energietransfer, wäre unter diesen Umständen nicht möglich; ebenso wenig wie für einen Löschprozess nach dem Charge-Transfer-Mechanismus.

Um den Abstand der verknüpften Quencher- und Fluorophoreinheiten in einem Bichromophor auf nur wenige Ångström zu bringen, muss der Quencher über einen Linker an den Fluorophor gebunden werde. Der Quencher kann sich dann über den Linker „zurückbiegen“ und sich dem Fluorophor nähern. Die Verdrillung des einzelnen Phenylrings zum Xanthenylchromophor darf bei diesen geometrischen Betrachtungen nicht außer Acht gelassen werden.

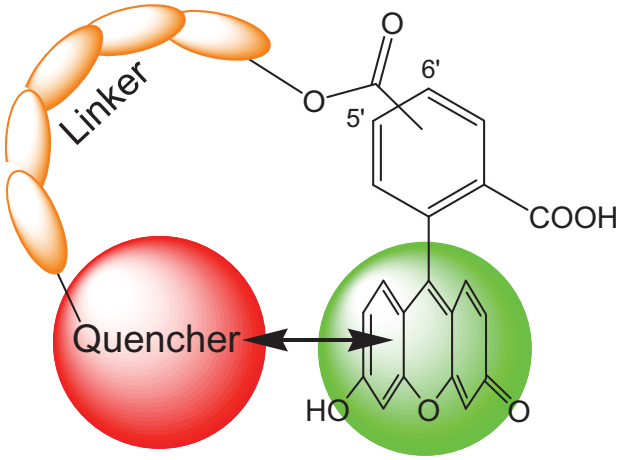
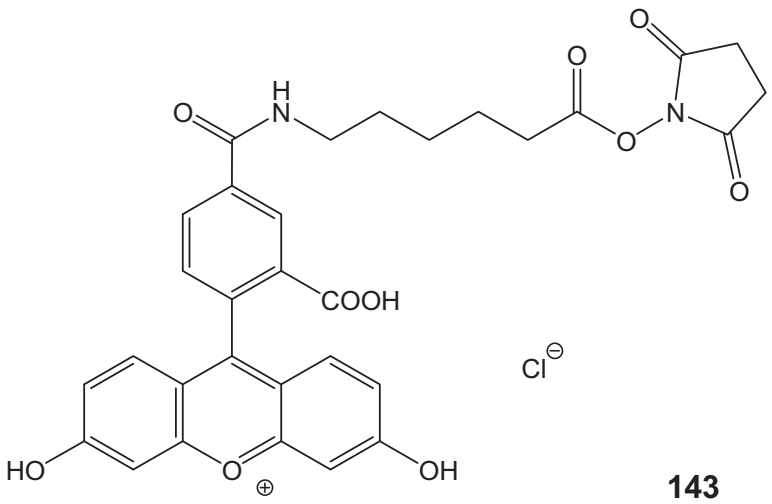


Abbildung 3.97: Modell eines Linker-verbrückten Bichromophors.

Als Linker bieten sich aufgrund ihrer Flexibilität und geringer Reaktivität Alkylketten an. Auch aktivierte Fluorophore mit Koppelstellen an angehängten Alkylketten sind kommerziell erhältlich (siehe Abbildung 3.98).
Eine Schwierigkeit bei der Umsetzung dieser Strategie liegt in der Wahl der richtigen Kettenlänge des Linkers. Ein zu kurzer Linker verhindert das Zurückbiegen des Quenchers zum Fluorophor. Eine zu lange Kette führt zu einem großen Abstand zwischen Quencher und Fluorophor und führt im Extremfall zu diffusionkontrollierter Quenchkinetik. Im Sinne eines Ball-Chain-Modells sollte die Kette im Idealfall so kurz wie möglich, aber so lang wie es für eine Wechselwirkung nötig ist sein.[112]

Im Rahmen dieser Arbeit werden verschiedene Bichromophore nach der Verknüpfungsstrategie synthetisiert. Als Fluorophorbausteine werden kommerziell erworbene Fluoresceine und Rhodamine verwendet. Diese Derivate sind in der 6'-Position mit einer C5-Alkylkette verlängert. Als Koppelstelle dient eine NHS-Esterfunktion.
Es handelt sich um den Fluoresceinfarbstoff (9-{2-Carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}-3,6-dihydroxyxanthylium)-chlorid (**143**)

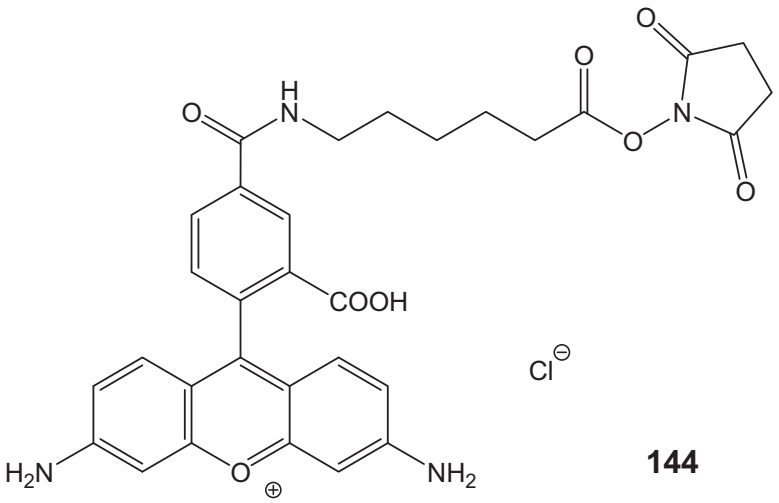


143

Abbildung 3.98: Struktur von DY495-X5-NHS-Ester (**143**).

Dieser Farbstoff wird von Dyomics unter der Bezeichnung DY495-X5-NHS-Ester (**143**) vertrieben. Der Name setzt sich aus einer Abkürzung des Herstellers (DY), der Wellenlänge des Absorptionsmaximums des Farbstoffs (495 nm), aus der Länge der eingefügten Alkylkette (X5) und der aktiven Gruppe (NHS-Ester) zusammen. Es handelt sich hierbei um das reine 6'-Carboxyisomer.

Als Rhodaminbaustein in den Bichromophorsynthesen dieser Arbeit nach der Verknüpfungsstrategie wurde (3,6-Diamino-9-{2-carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl-oxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}xanthylium)-chlorid (**144**) verwendet.



144

Abbildung 3.99: Struktur von DY505-X5-NHS Ester (**144**).

Dieser Farbstoff ist ein Derivat des Rhodamin 110 (**1**) und wird von Dyomics unter der Bezeichnung DY505-X5-NHS-Ester (**144**) vertrieben. Auch hierbei handelt es sich um das reine 6'-Carboxyisomer.

Für die Verknüpfung mit einem Fluoreszenzfarbstoff, der mit einer NHS-Esterfunktion aktiviert wurde, eignen sich hervorragend Linker mit freien Aminogruppen. Analog zu herkömmlichen Markierungsassays für Proteine erfolgt die Umsetzung mit einer organischen Base in Dimethylformamid.

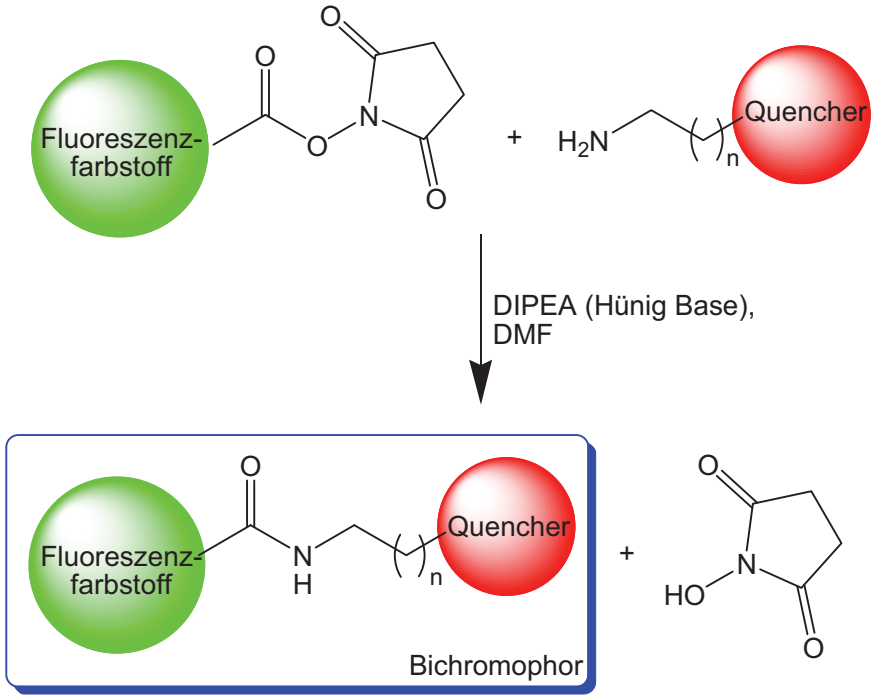


Abbildung 3.100: Allgemeines Syntheseschema für Bichromophore nach der Verknüpfungsstrategie.

Als Vorbild für die hier in dieser Arbeit vorgestellten Bichromophorsynthesen sind die Arbeiten von *Alterman et al.*[113] Als Base kommt Diisopropylethylamid zum Einsatz.

Die **C**yclo**o**cta**t**etraene (COT), **Dip**henyl**h**exatriene (DPH) und **A**zo**b**enzole (AB), die in dieser Arbeit bisher als potentielle Quencher synthetisiert wurden, enthalten keine Aminogruppe für eine mögliche Kopplung an die ausgewählten aktivierten Fluoreszenzfarbstoffe. In weiteren Syntheseschritten werden daher koppelfähige Quencherderivate synthetisiert, die anschließend mit DY495-X5-NHS Ester (**143**) bzw. DY505-X5-NHS Ester (**144**) zu Bichromophoren umgesetzt werden.

3.10.2 Synthese der Bichromophorbausteine

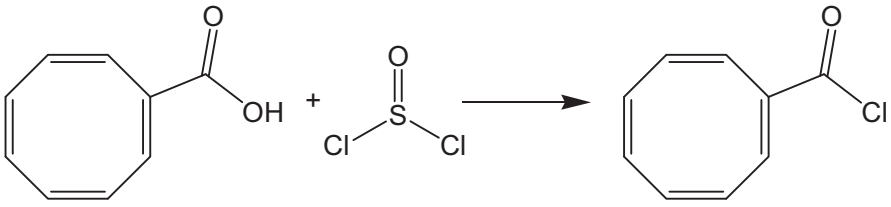
Zur Synthese von Bichromophore nach der Verknüpfungsstrategie werden Quencher mit freien Aminogruppen benötigt.

3.10.2.1 Cyclooctatetraenbausteine für Bichromophorsynthesen

Die Synthesen von Cyclooctatetraenbausteinen für die Bichromophorsynthesen basieren auf den bereits synthetisierten Cyclooctatetraenderivaten. Zur Einführung einer Aminogruppe wird versucht eine Diaminoalkylkette über eine Amidbindung an die Cyclooctatetraencarbonsäure **COT01** zu koppeln.

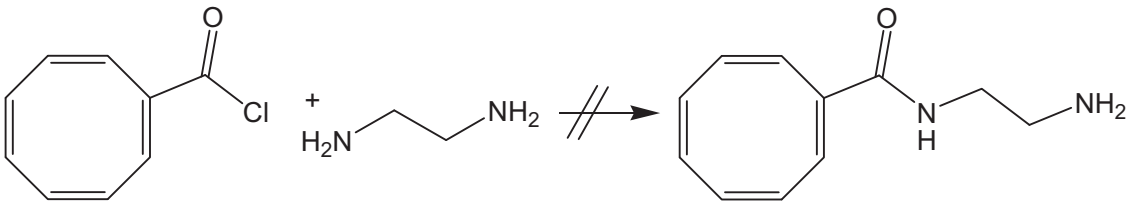
V89: Dazu wird zunächst die Carbonsäure **COT01** mit Thionylchlorid (**145**) zum Säurechlorid **COT04** umgesetzt.

V89



COT01 **145** **COT04**

Die Synthese erfolgt in Substanz. Es wird von quantitativem Stoffumsatz ausgegangen und das sehr reaktive Rohprodukt ohne weitere Analyse umgesetzt.
Das Säurechlorid **COT04** wird in Tetrachlorkohlenstoff gelöst und auf Ethylendiamin (**146**) getropft. Die Synthese stützt sich auf Versuche von Benzoylchlorid (**42**) mit Ethylendiamin (**146**).[114]

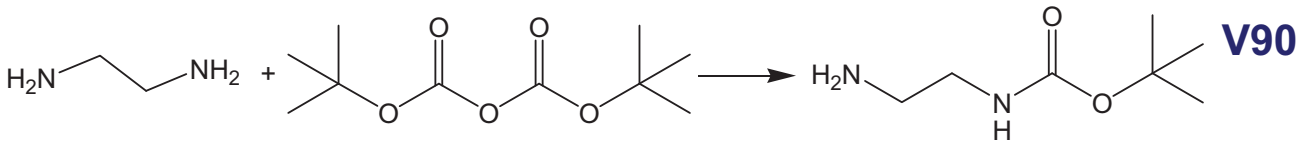


COT04 **146** **147**

Es ist eine heftige Reaktion zu beobachten. Jedoch gelang es nicht das gewünschte Produkt **147** zu isolieren.

Um Nebenreaktionen, wie Oxidationen der Aminogruppe, zu vermeiden und die säulenchromatographische Isolation zu erleichtern wird ein unpolareres Produkt angestrebt. Dazu wird Ethylendiamin (**146**) einseitig mit einer *tert*-**B**utyl**o**xy**c**arbonyl-gruppe (BOC) geschützt und anschließend mit der COT-Carbonsäure **COT01** umgesetzt.

V90: Zur Synthese des geschützten Ethylendiamins **148** wird Ethylendiamin **146** mit BOC_2O **149** umgesetzt. [115]

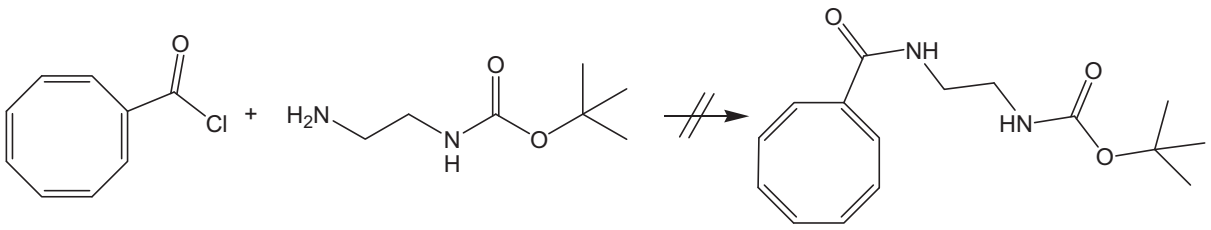


V90

146 **149** **148**

Die Reaktion verläuft mit einer Ausbeute von 97 %.

Eine Umsetzung mit dem Cyclooctatetraensäurechlorid **COT04** mit dem BOC-geschütztem Ethylendiamin **147** führte nicht zum gewünschten Produkt **150**.

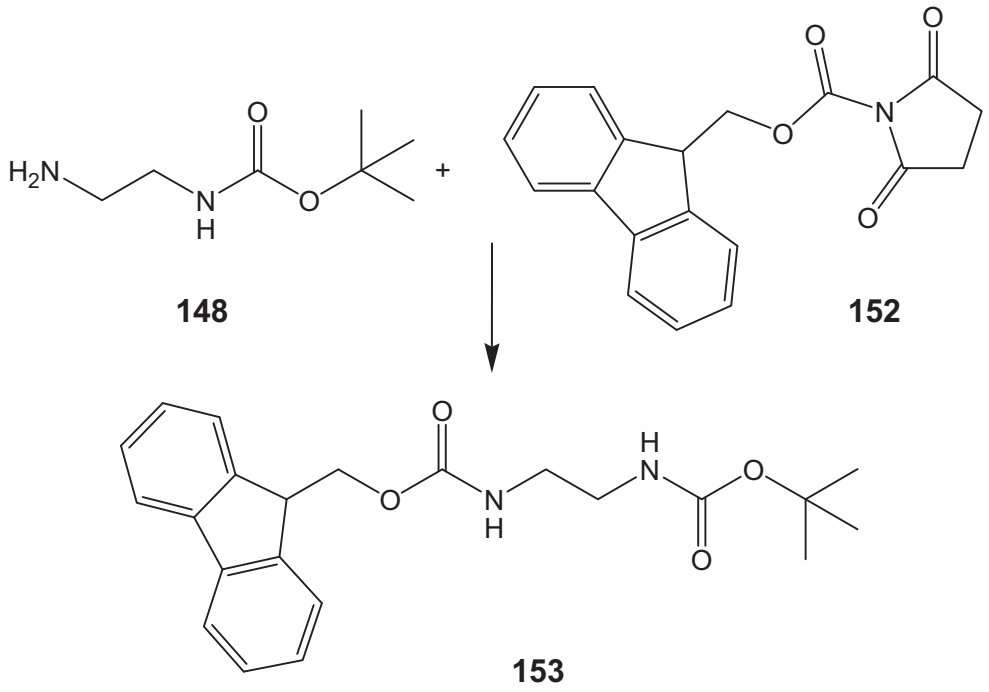


COT04 **148** **150**

Es wird vermutet, dass die Salzsäure, die unter den Reaktionsbedingungen aus der Hydrolyse des Säurechlorids **COT04** entsteht, zum Abspalten der Schutzgruppe führt. Es wird daher die BOC-Schutzgruppe durch die säurestabile **F**luorenyl**m**eth-**o**xy**c**arbonyl-Schutzgruppe (Fmoc) ersetzt. Dazu muss zunächst das Fmoc-geschützte Ethylendiamin **151** in zwei Stufen aus dem BOC-geschützten Ethylendiamin **148** synthetisiert werden.[116]

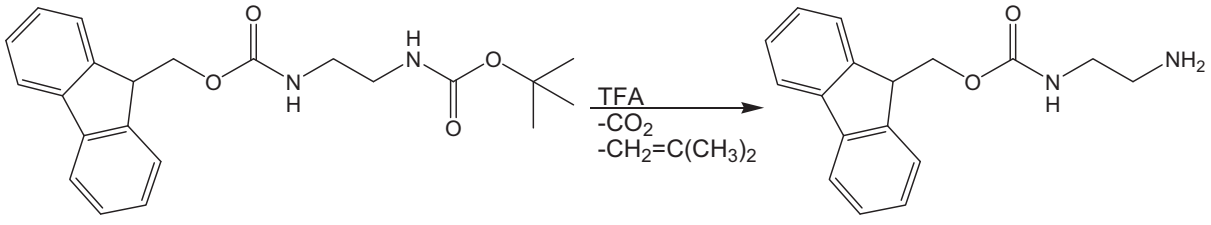
V91: In einem ersten Schritt wird das einseitig geschützte Ethylendiamin **148** mit der asymmetrisch als Succinimidester aktivierten Fmoc-Schutzgruppe **152** umgesetzt. Man erhält das bis-geschützte Ethylendiamin **153** in quantitativer Ausbeute.

V91



V92: In einem zweiten Schritt wird die BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgespalten.

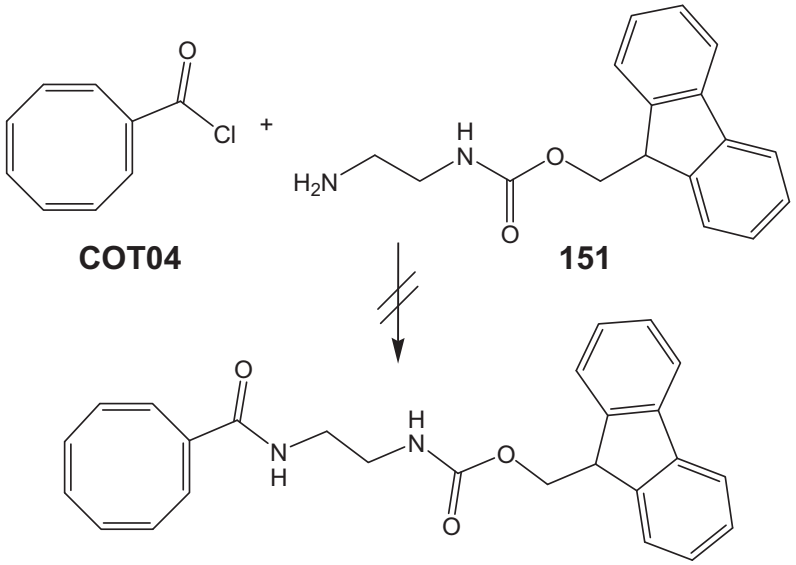
V92



153 **151**

Man erhält das Fmoc-geschützte Ethylendiamin **151**. Auch hier verläuft die Reaktion quantitativ.

Auch die Umsetzung mit dem Cyclooctatetraensäurechlorid **COT01** mit dem Fmoc-geschütztem Ethylendiamin **151** führte nicht zum gewünschten Produkt **154**.

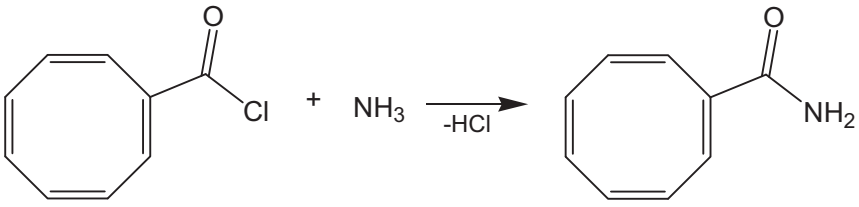


COT04 **151**

154

V93: Alternativ zu einem Alkyldiamin wird das COT-Säurechlorid **COT04** mit 25%iger Ammoniaklösung umgesetzt.[117]

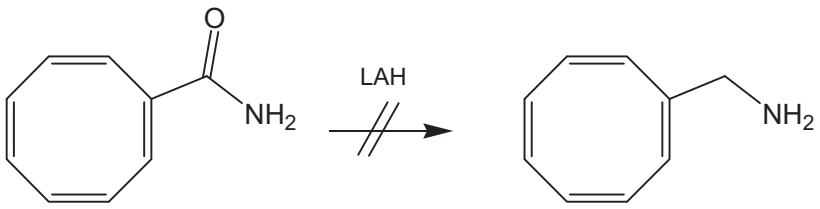
V93



COT04 **COT05**

Man erhält ein Cyclooctatetraencaboxamid **COT05** mit einer Ausbeute von 98 %.

Für die anschließende Kopplung an einen Rhodaminfarbstoff benötigt das Cyclooctatetraenderivat als Synthesebaustein eine primäre Aminogruppe. Zur Reduktion des COT-Carboxamid **COT05** zum primären Amin **155** wurde Lithiumaluminiumhydrid eingesetzt.



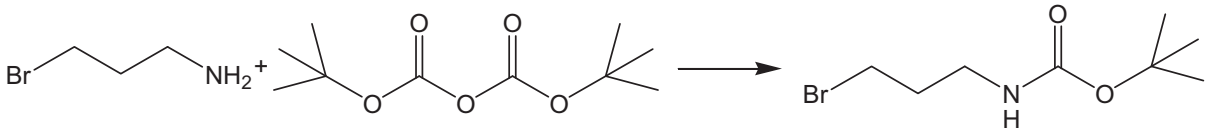
COT05 **155**

Es gelang jedoch nicht das gewünschte Produkt **155** zu isolieren.

Da die Versuche eine Aminogruppe an einem Linker über eine Amidbindung einzuführen nicht zu dem erwünschten Erfolg führten, wird als alternative Verknüpfungsmöglichkeit die Williamson Ethersynthese gewählt. Als Cyclooctatetraenbaustein dient der Alkohol **COT03**.

V94: Als Linker-Amino-Komponente wird 3-Brompropylamin (**156**) zunächst mit einer BOC-Schutzgruppe versehen.[118, 119] Die Schützung von 3-Brompropylamin (**156**) erfolgt ebenfalls mit BOC_2O **149**. Die Versuchsbedingungen richten sich nach den Synthese von **157** von *Brouwer et al.* und *Kuo et al*.[118, 120]

V94

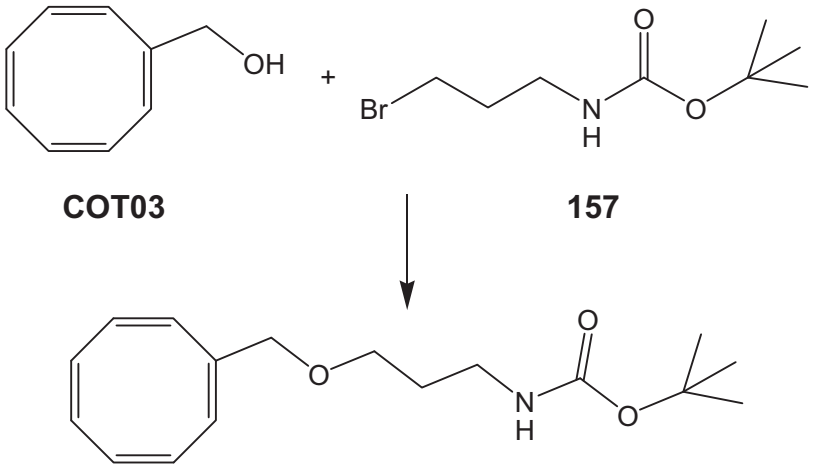


156 **149** **157**

Die Umsetzung zum entsprechenden Carbamat **157** erfolgt mit einer Ausbeute von 90 %.

V95: Der BOC-geschützte Linker **157** wird in einer Williamson Ethersynthese kovalent an dem COT-Alkohol **COT03** gebunden.

V95



COT03 **157**

COT06

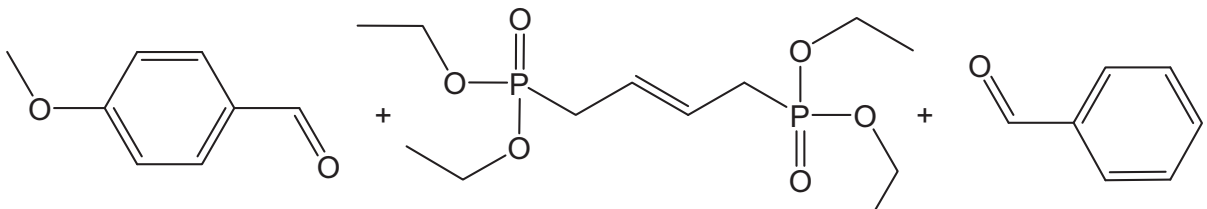
Es gelang eine geringe Menge eines Gemisches aus dem Alkohol **COT03** und dem erwünschten Produkt **COT06** zu isolieren. Die erhaltene Mischung zerfiel nach kurzer Zeit. Bei einer Wiederholung des Versuchs gelang es nicht den Linker-verlängerten COT-Baustein **COT06** zu erhalten.

Aufgrund der präparativen Schwierigkeiten wurde der Fokus der Synthesen auf die Quencherklassen Diphenylhexatriene und Azobenzole gerichtet.

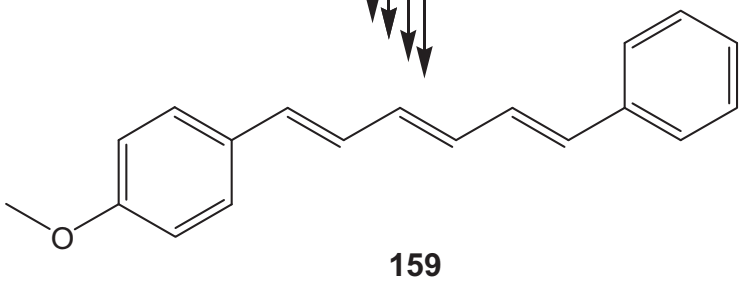
3.10.2.2 Diphenylhexatrienbausteine für Bichromophor-synthesen

Bei den Synthesen von **Di**p**h**enyl**h**exatrienderivaten (DPH), die bisher beschrieben wurden, sind stets symmetrische Verbindungen hergestellt worden. Um ein DPH einseitig über einen Linker an einen Fluoreszenzfarbstoff zu koppeln, benötigt man ein asymmetrisch substituiertes Derivat.

Es wurde daher versucht ein einseitig substituiertes DPH nach der bisherigen doppelten Wittig-Horner-Emmons Synthesevorschrift für symmetrische DPH herzustellen. Es wurde sich für je eine unsubstituierte und eine 4-methoxysubstituierte Endgruppe entschieden. In einem ersten Schritt wurde das Bisphosphonat **105** mit einer äquimolaren Menge Natriumhydrid einseitig deprotoniert und eine äquimolare Menge Anisaldehyd (**158**) zugegeben. Die Reaktionslösung 24 h bei RT gerührt, um die einseitige Umsetzung zu ermöglichen. In einem zweiten Schritt wurde erneut eine äquimolare Menge an Natriumhydrid zugegeben, um die nicht umgesetzte Seite des Phosphonatmittelbausteins **105** zu deprotonieren. Für die zweite Wittig-Horner-Emmons Reaktion wurde Benzaldehyd **110** zugetropft. Die Reaktion wurde analog den symmetrischen DPH-Synthesen aufgearbeitet. Es konnte jedoch kein Produkt **158** isoliert werden.



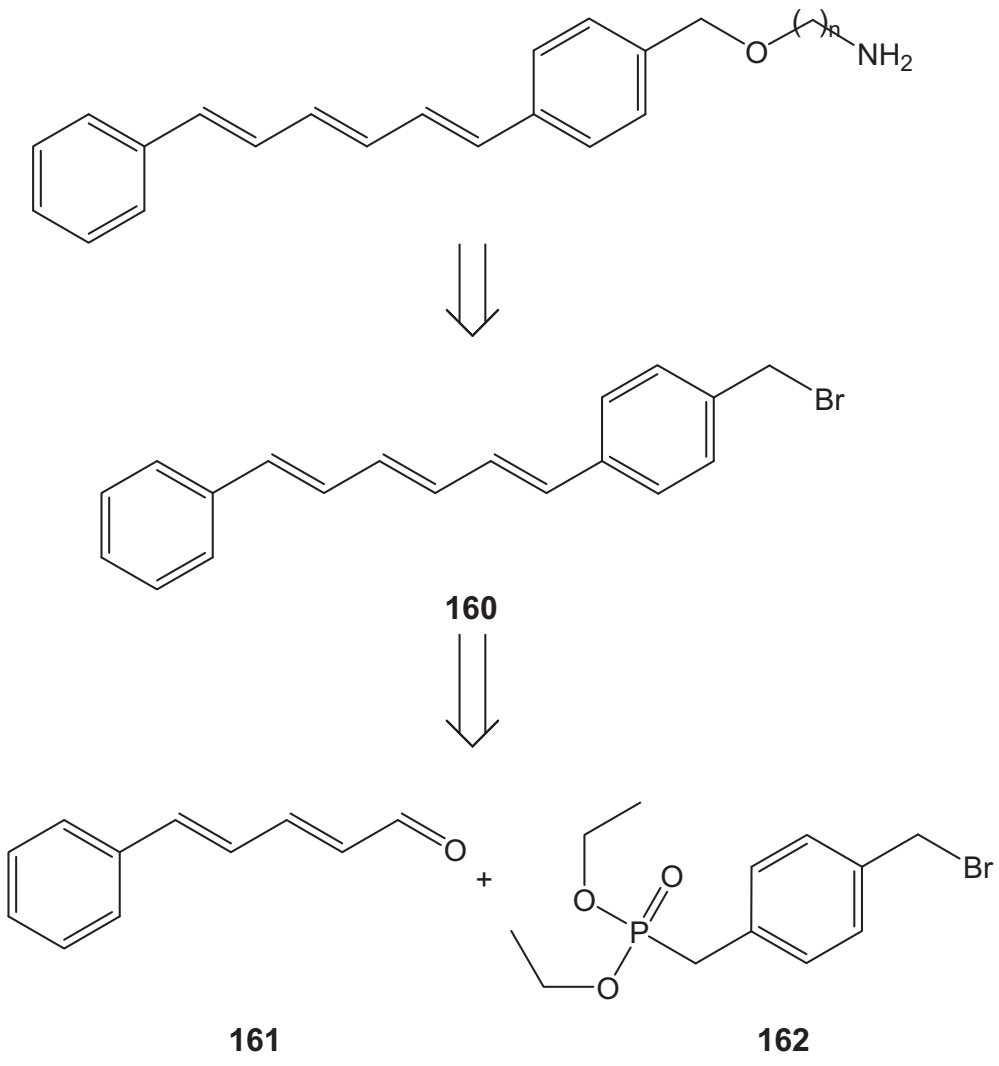
158 **105** **110**



159

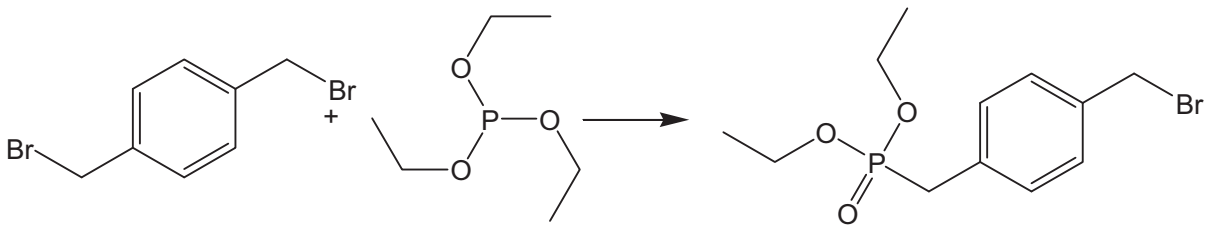
Da die Eintopfsynthese von einseitig substituierten DPH-derivaten nach den bisherigen Synthesevorschriften nicht zu den erwünschten Ergebnissen führt, wird der Fokus auf Synthesestrategien gelegt in denen das DPH in mehreren Stufen von einer Endgruppe zur zweiten aufgebaut wird.

Ziel dieser Synthese ist ein einseitig 4-brommethyl-substituierte DPH **160** aus 5-Phenylpenta-2,4-dienal **161** und dem entsprechende Phosphonat **162** aufzubauen. An dieses Bromid **160** soll dann, ähnlich wie bei der Synthesestrategie der COT-Bausteine, mittels einer Veretherung ein Linker mit einer Aminogruppe gekoppelt werden.



V96: Der Phosphonatbaustein **162** wird nach einer Vorschrift von *Garbay-Jaureguiberry et al.* aus Triethylphosphit (**108**) und α,α'-Dibrom-*p*-xylol (**163**) hergestellt.[121]

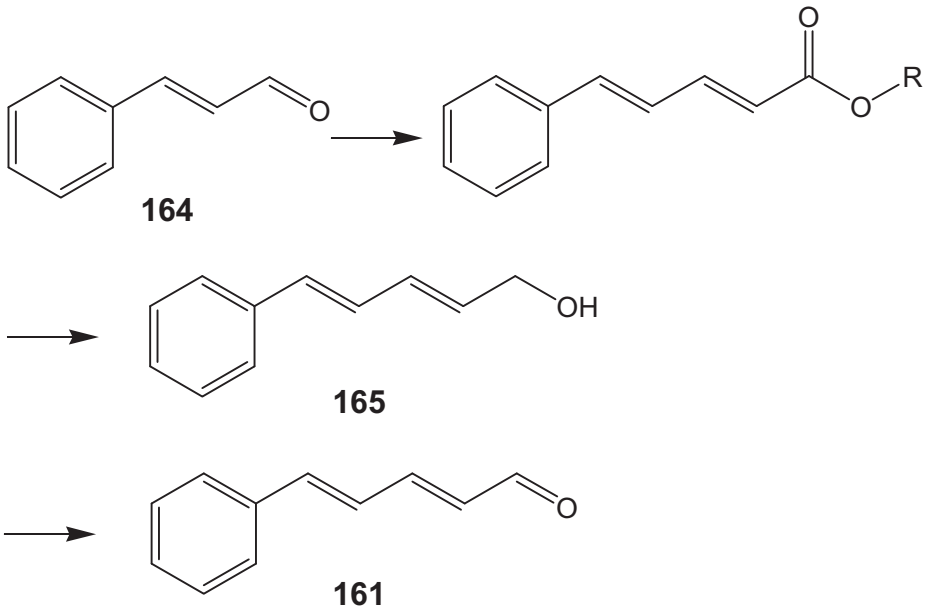
V96



163 **108** **162**

Die Umsetzung erfolgt mit einer Ausbeute von 29 %.

Der Aufbau von 5-Phenylpenta-2,4-dienal (**161**) soll analog den Arbeiten von *Ramage et al.* erfolgen.[122] Diese Syntheseroute beginnt mit der Verlängerung von Zimtaldehyd (**164**) um zwei Kohlenstoffatome mit einem Phosphoniumsalz eines Essigsäureesters über eine Wittig-Reaktion. Die Reduktion der Estergruppe zum Alkohol und anschließende Oxidation zum Aldehyd liefern 5-Phenylpenta-2,4-dienal (**161**).

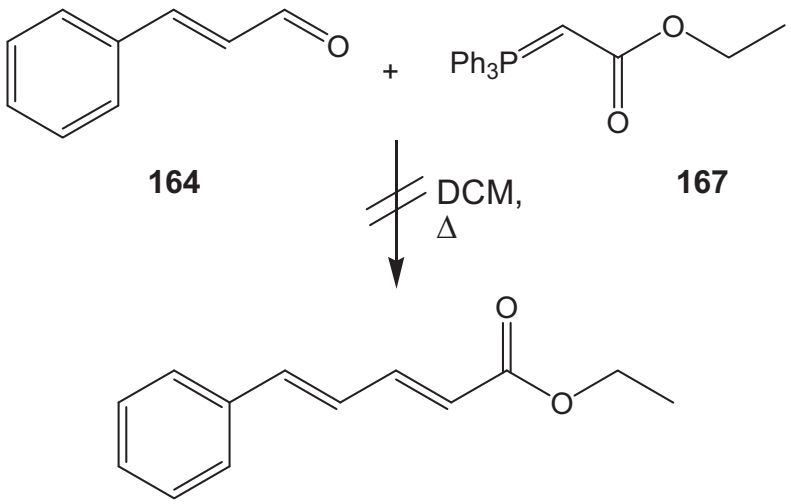


164 **165** **161**

Ramage et al. verwendeten das aus Triphenylphosphin (**98**) und Bromessigsäuremethylester gebildete Ylid (**166**) als Baustein zur Kettenverlängerung. In Carotinoidsynthesen des Arbeitskreises Martin wurde üblicherweise der entsprechende Ethylester **167** verwendet.[123] Die Reduktion des Ethylester gestaltet sich anschließend

leichter als die des Methylesters. In dieser Arbeit wird daher ebenfalls der Ethylester **167** als Baustein zur Kettenverlängerung ausgewählt.

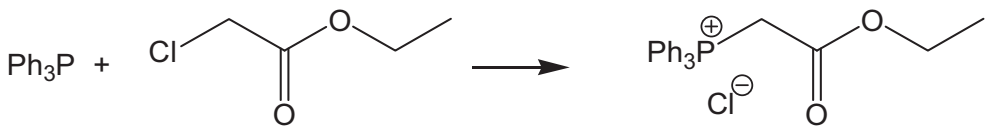
Das Ethyl-phosphoniumylid **167** wird mit Zimtaldehyd (**164**) in Toluol nach der Synthesevorschrift von *Ramage et al.* umgesetzt.[122]



164 **167** **168**

Der Verlauf der Reaktion wird mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Die Bedingungen richten sich nach Arbeiten von *Sabitha et. al.*[124]. Als Laufmittel wird Hexan/Ethylacetat im Verhältnis 95:5 verwendet. Nachdem die Reaktionslösung 6 h zum Rückfluss erhitzt wurde ist kein merklicher Umsatz zu beobachten. Nur eine leichte Gelbfärbung der Lösung weist auf eine mögliche Produktbildung des Ethylesters **168** hin. Die Synthese wird daher an dieser Stelle abgebrochen.
Daher wurde das entsprechende Phosphoniumsalz **169** hergestellt und versucht, dies in einer einstufigen Wittig-Reaktion an Zimtaldehyd (**164**) zu koppeln.

V97/98: Das Phosphoniumsalz **169** zur Verlängerung des Zimtaldehyds (**164**) wird aus Chloressisäureethylester (**170**) und Triphenylphosphin (**98**) hergestellt.[125]



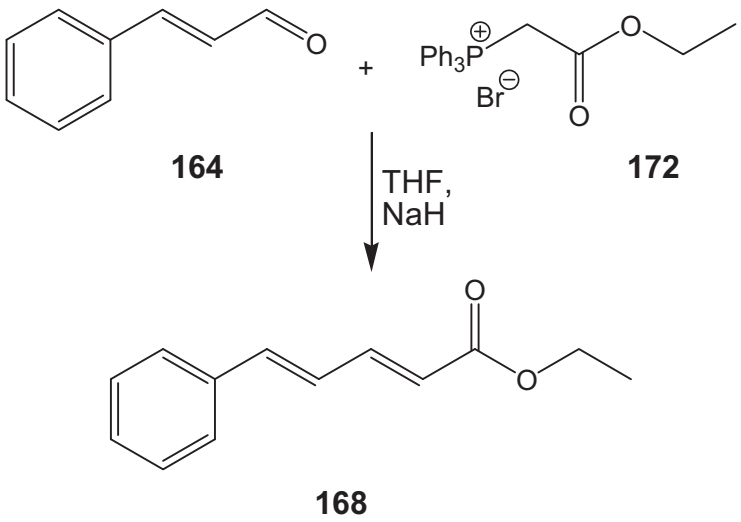
98 **170** **169**

V97
-98

Die Umsetzung erfolgt zunächst in Diethylether mit einer Ausbeute von 32 %. Um die Ausbeute zu steigern wurde das Lösungsmittel zu Ethylacetat gewechselt. So konnte die Reaktionstemperatur erhöht werden. Es wurde eine Ausbeute von 54 % erzielt. Analog ist auch eine Synthese mit Bromessigsäureethylester (**171**) zum entsprechenden Phosphoniumbromid **172** möglich.

V99: Die Wittig-Reaktion des Phosphoniumsalzes **172** mit Zimtaldehyd (**164**) wird zunächst unter den in dieser Arbeit bisher verwendeten Standardbedingungen für Wittig- und Wittig-Horner-Emmons-Reaktionen durchgeführt (Lösungsmittel: THF, Base: Natriumhydrid).

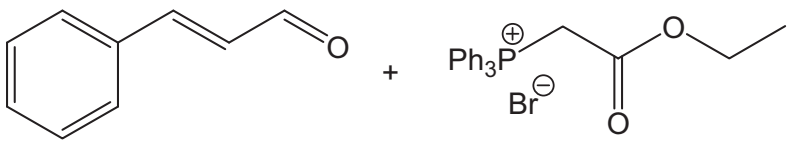
V99



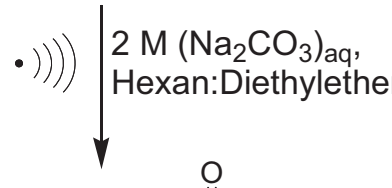
Man erhält den verlängerten Ester **168** in einer Ausbeute von 67 %.

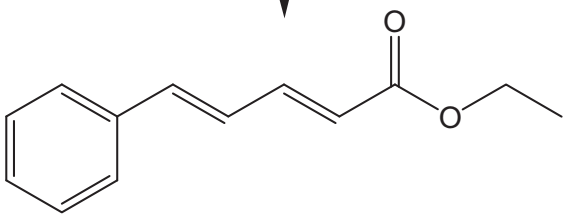
V100: Als Alternativsynthese wird eine Wittig-Olefinierung nach einer Vorschrift von *Wantabe et al.* durchgeführt.[126] Es handelt sich dabei um eine Reaktion in einem Zwei-Phasensystem unter Ultraschall.

V100



164 **172**



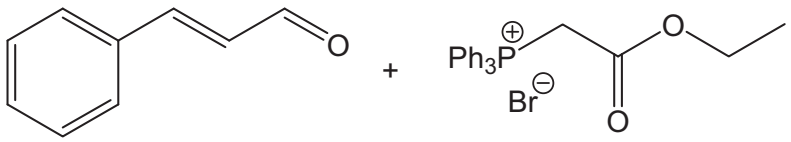


168

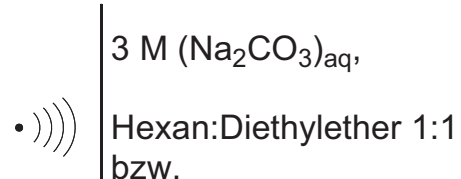
Die Umsetzung erfolgt mit einer Ausbeute von 79 %. Eine Ausbeute wird in der Literatur nicht angegeben.

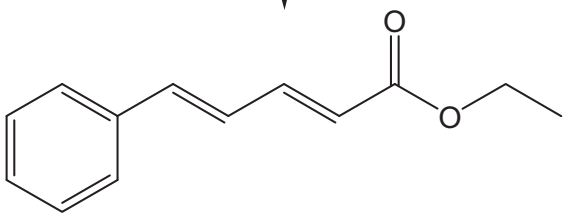
V101/102: Durch die Steigerung der Basenkonzentration auf 3 M Natriumcarbonatlösung und Variation der Lösungsmittelzusammensetzung gelingt es die Ausbeuten zu steigern.

V101 -102



164 **172**

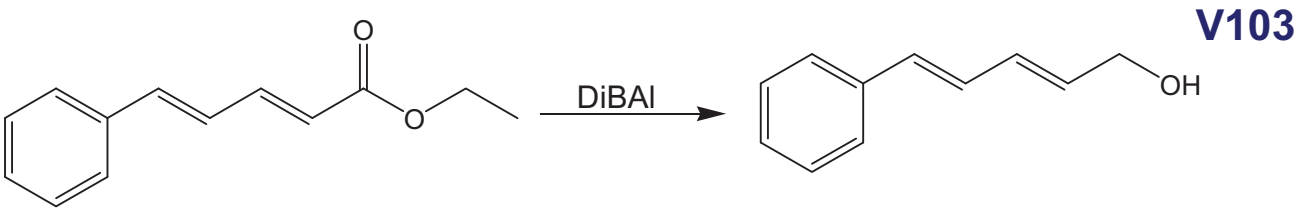




168

Man erhält Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (**168**) in Ausbeuten von 58 % (Hexan:Diethylether, 1:1) und 99 % (Hexan:Ethylacetat, 1:1) in Form eines *cis-/trans*-Isomerengemischs.

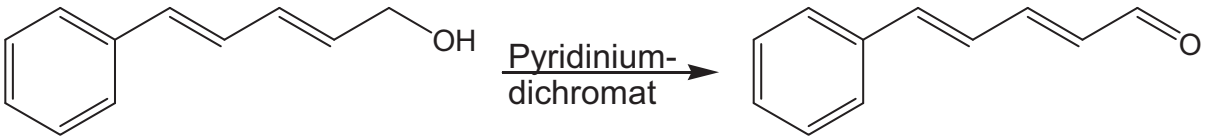
V103: Der Ester **168** wird durch die Umsetzung Diisobutylaluminiumhydrid zum Alkohol **165**.



168 **165**

Man erhält das Produkt **164** als Isomerengemisch in einer Ausbeute von 93 %.

Für die Oxidation zum entsprechenden Aldehyd **161** wird nach einer Vorschrift von *Ramage et al.* der Alkohol **165** mit Pyridiniumdichromat (**173**) umgesetzt.[122]

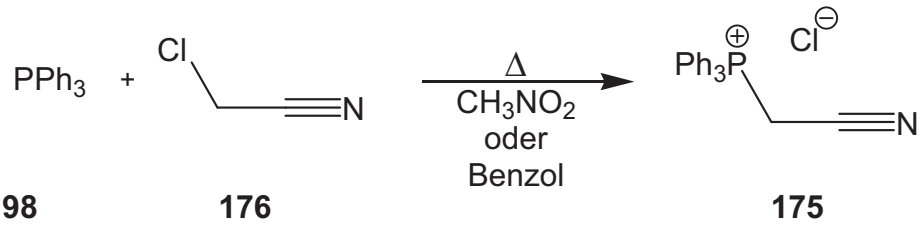


165 **161**

Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden. Es gelingt jedoch nicht das Produkt durch säulenchromatographische Reinigung von Edukten und Nebenprodukten zu trennen.
Alternativ wäre die Darstellung des Aldehyd **161** zum Alkohol **165** durch eine Dess-Martin- oder Swern-Oxidation denkbar. Es wird jedoch der Fokus auf eine alternative Syntheseroute gelegt, in der der Aldehyd **161** aus der Reduktion des entsprechenden Nitrils **174** dargestellt wird.

Analog der oben dargestellten Synthese wird im ersten Schritt Zimtaldehyd (**164**) mit einem Phosphoniumsalz um zwei Kohlenstoffatome verlängert. Zur Darstellung des Nitrils **174** wird (Cyanomethyl)triphenylphosphonium-chlorid (**175**) benötigt.

V104/105: Das Phosphoniumchlorid **175** wird durch die Alkylierung von Triphenylphosphin (**98**) mit Chloracetonitril (**176**) hergestellt.[127]

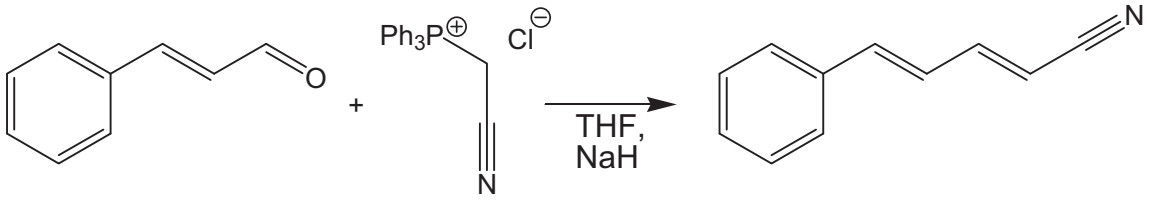


98 **176** **175**

V104 -105

Je nach Lösungsmittel erhält man das Phosphoniumsalz **175** in Ausbeuten von 63 % (Nitromethan) und 67 % (Benzol).

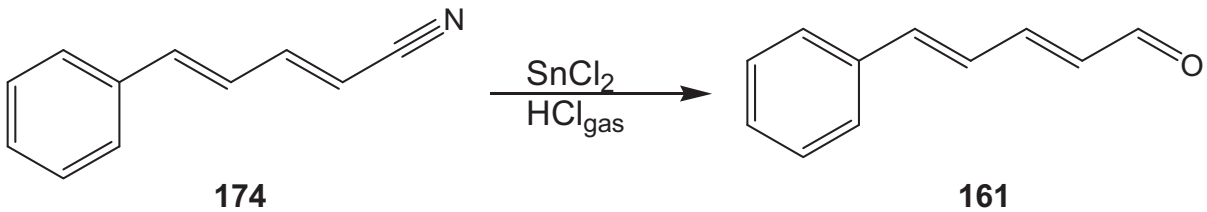
V106/107: Die Umsetzung vom Phosphoniumsalz **175** und Zimtaldehyd (**163**) erfolgt unter den in dieser Arbeit bisher verwendeten Standardbedingungen für Wittig- und Wittig-Horner-Emmons-Reaktionen (Lösungsmittel: THF, Base: Natriumhydrid).



164 **98** **174**

V106 -107

Die Reaktion verläuft unter atmosphärischen Bedingungen und bei Raumtemperatur (V106) in einer Ausbeute von 20 %. Unter Luftausschluss und einer Temperatur von 0 °C (V107) kann die Ausbeute an **174** auf 35 % gesteigert werden.
Die anschließende Reduktion des Nitrils **174** soll nach einer Synthesevorschrift von *Wittig und Kethur* erfolgen.[128] Dabei handelt es sich um eine Stephen-Aldehydsynthese mit wasserfreiem Zinnchlorid und Chlorwasserstoff in Diethylether.[129]



174 **161**

Wittig und Kethur gelang diese Umsetzung mit einer Ausbeute von 10 %. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Synthesen zur Darstellung eines einseitig koppelbaren DPH an diesem Syntheseschritt eingestellt und der Fokus auf die Quencherklasse der Azobenzole gelegt.

3.10.2.3 Azobenzolbausteine für Bichromophorsynthesen

Die Synthesen von Azobenzolbausteinen für die Bichromophorsynthesen basieren auf den bereits synthetisierten Azobenzolen. An die vorhandenen Azobenzole als Quenchereinheiten (rot) sollen Linker unterschiedlicher Kettenlängen (orangefarben) über Ester- so wie Etherbindungen gekoppelt werden.

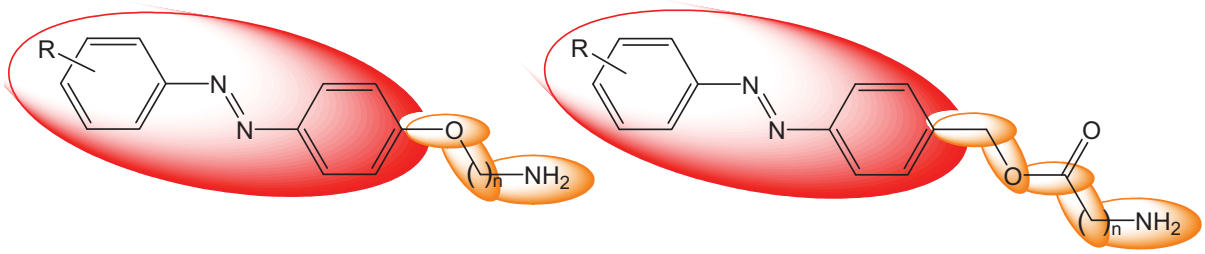


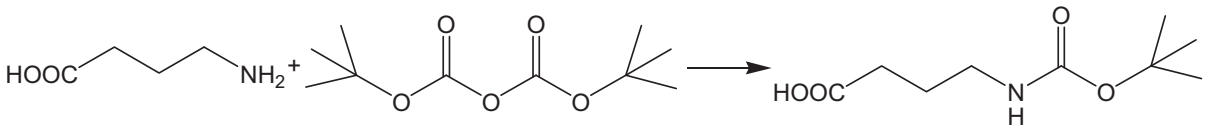
Abbildung 3.101: Darstellung von den Azobenzol-Linker Bausteinen für die Bichromophorsynthesen nach der Verknüpfungsstrategie. Die Quenchereinheiten sind rot unterlegt; die Linkereinheiten orange farben. Quencher- und Linkereinheiten sind links über eine Etherfunktion verknüpft; rechts über eine Esterfunktion.

3.10.2.3.1 Ester-verknüpfte Azobenzolbausteine

Der Ester-verknüpfte Azobenzolbaustein soll aus dem brommethyl-substituierten Azobenzol **AB15** und einer Aminosäure als Linker gewonnen werden.

V108: In einem ersten Schritt wird die als Linker ausgewählte γ-Aminobuttersäure (GABA, **177**) mit einer BOC-Schutzgruppe versehen.[130, 131]

V108

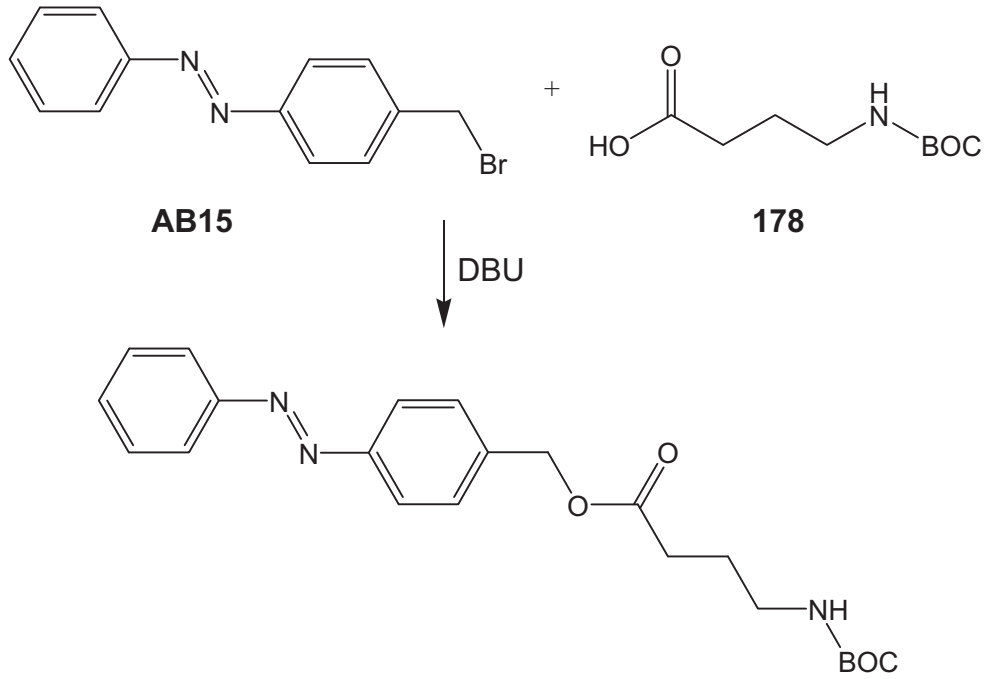


177 **149** **178**

Die Reaktion wird in Dioxan mit 0.5 N Natronlauge durchgeführt. Man erhält BOC-GABA **178** in einer Ausbeute von 70 %.

V109: Die anschließende Veresterung mit DBU an Azobenzol **AB15** liefert den BOC-geschützten Azobenzolbausteins **AB17**. Die Umsetzung erfolgt in Anlehnung an die Arbeiten von *Ono et al*.[23, 132]

V109

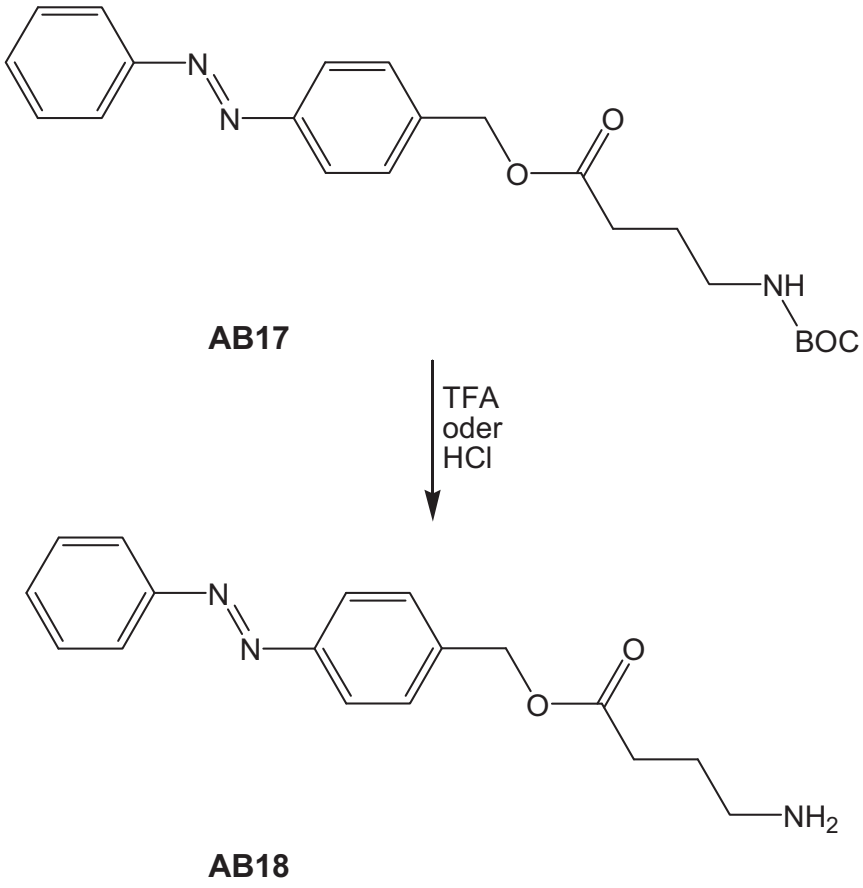


AB15 **178**

AB17

Die Ausbeute dieser Reaktion beträgt 90 %.

V110/111: Die BOC-Schutzgruppe des kettenverlängerten Azobenzols **AB17** kann mit Trifluoressigsäure oder Chlorwasserstoff abgespalten werden.



V110
-111

AB17

AB18

Der koppelfähige Azobenzol-Linker Baustein **AB18** wird in Ausbeuten von 65 % bzw. 52 % erhalten.

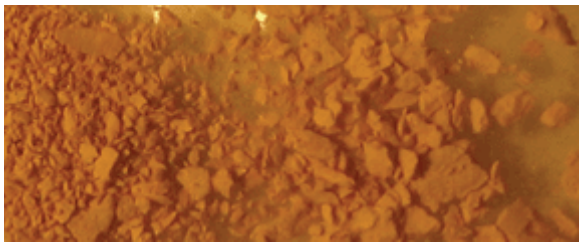
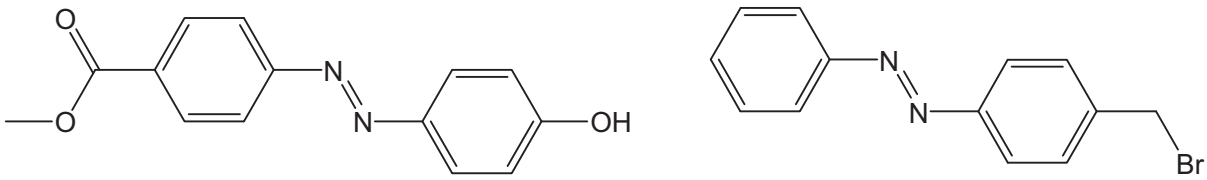


Abbildung 3.102: AB18 als orangebrauner Feststoff.

3.10.2.3.2 Ether-verknüpfte Azobenzolbausteine

Ether-verknüpfte Azobenzolbausteine können aus den hydroxy- oder brommethyl-substituierten Azobenzolen **AB07 bzw. AB15** und einem Linker gewonnen werden.

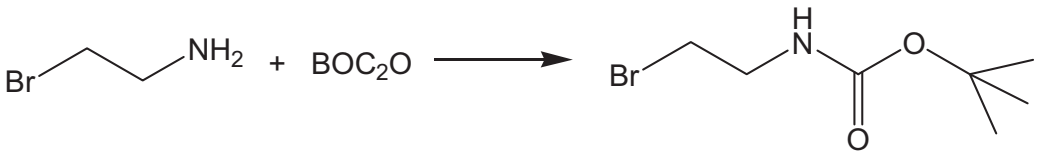


AB07 **AB15**

Abbildung 3.103: Azobenzole **AB07** (links) und **AB15** (rechts).

Für die Kopplung an die Hydroxygruppe von **AB07** werden α-Brom-ω-Amino-Kohlenstoffketten als Linker gewählt. 2-Bromethylamin (**179**) und 3-Brompropylamin (**156**) werden als C2- bzw. C3-Linker ausgesucht.
Vor der Umsetzung mit dem Azobenzol **AB07** sollen die Aminogruppen der Linker in einem ersten Schritt mit einer BOC-Schutzgruppe versehen werden. Die Synthese des BOC-geschützten 3-Brompropylamins wurde bereits in Kapitel 3.10.2.1 beschrieben (V94).

V112: Die Schützung der Aminogruppe von 2-Bromethylamin (**179**) wird nach einer Versuchsvorschrift von *Shoji et al.* durchgeführt.[133]



179 **149** **180** **V112**

Man erhält das Produkt **180** verunreinigt mit Spuren von BOC_2O (**149**) in einer Ausbeute von 43 %.

V113: Die Kopplung des BOC-geschützten 3-Bromproylamins **157** an das hydroxy-substituierte Azobenzol **AB07** erfolgt durch eine Williamson-Ethersynthese.

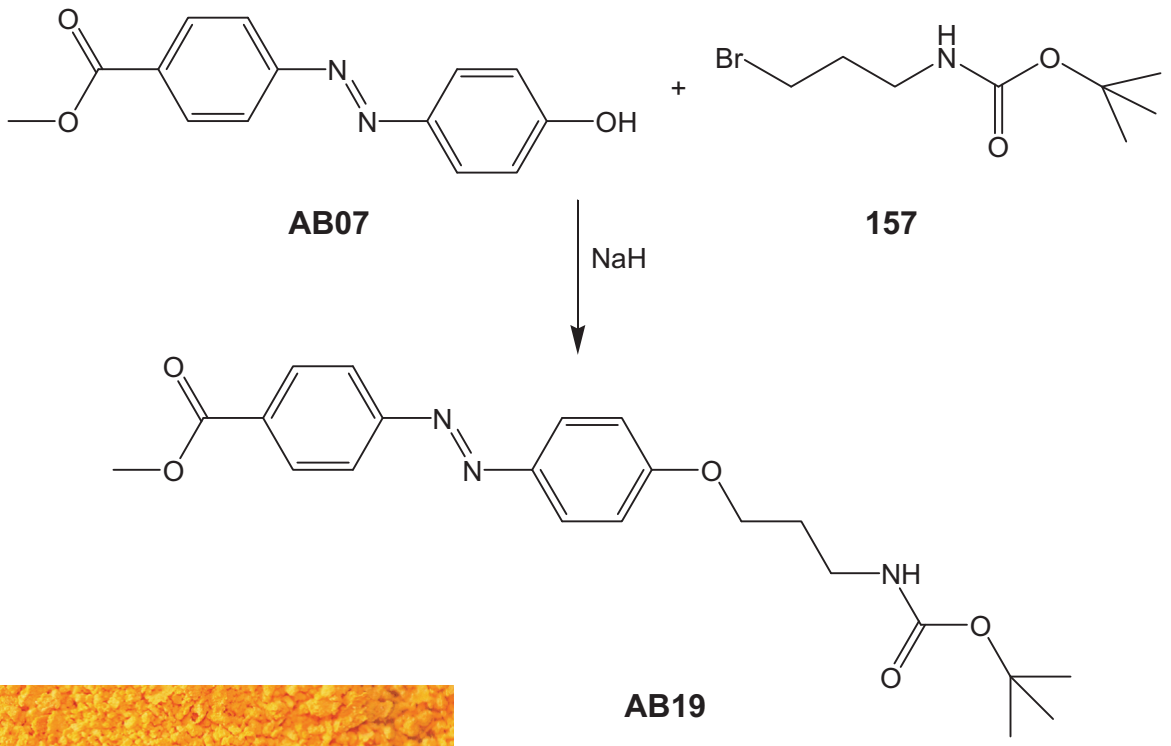


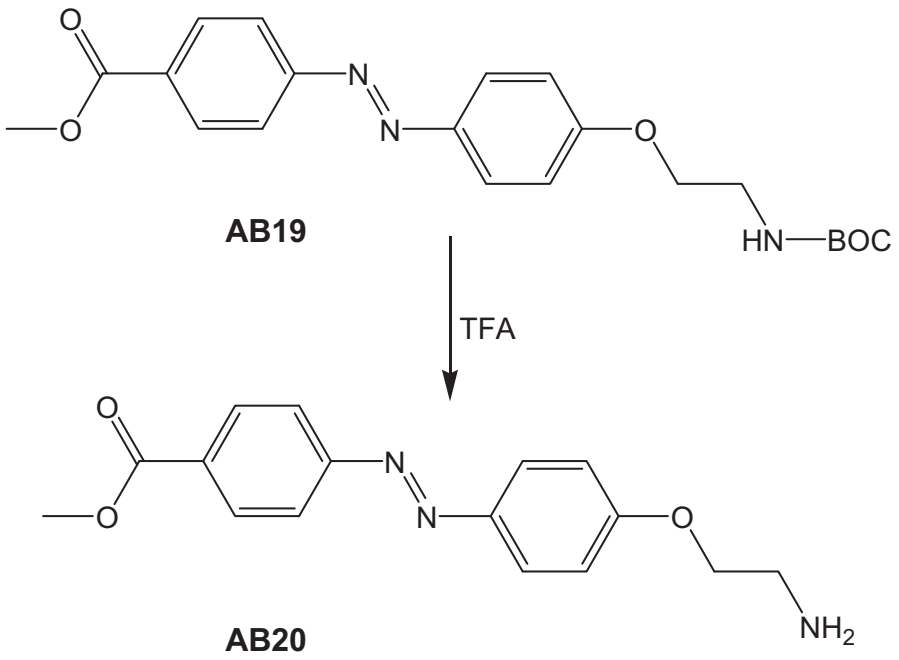


Abbildung 3.104: AB19 als orangefarbener Feststoff.

Nach säulenchromatographischer Reinigung erhält man das kettenverlängerte Azobenzol **AB19** in einer Ausbeute von 6 %.

V114: Das Azobenzol **AB19** wird durch die Umsetzung mit Trifluoressigsäure entschützt. Man erhält den koppelfähigen Azobenzol-Linker-Baustein **AB20** in einer Ausbeute von 52 %.

V114

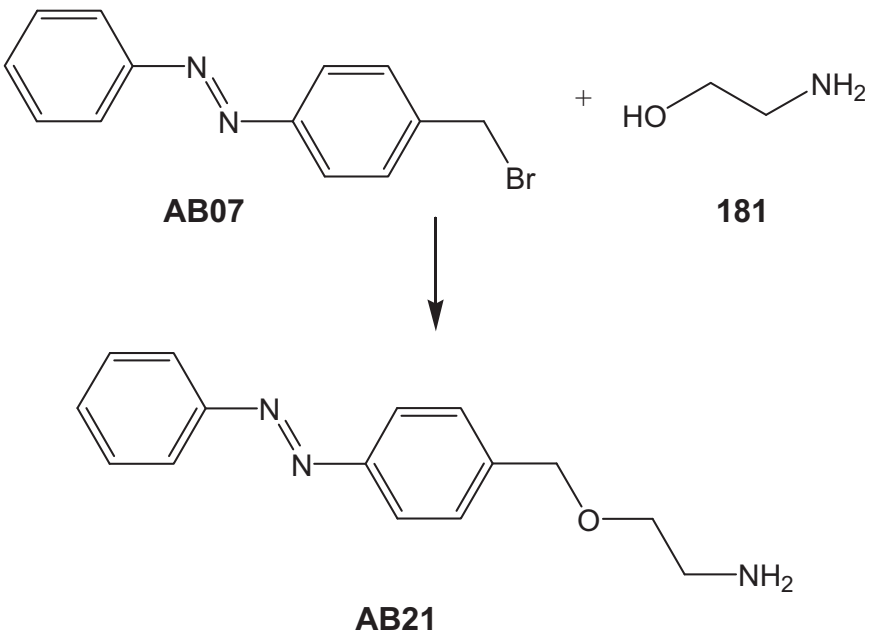


AB19 **AB20**

Für die Kopplung an die Bromidgruppe vom Azobenzol **AB07** wird 2-Aminoethanol (**181**) als Linker gewählt.

V115: Die Umsetzung richtet sich nach einer Vorschrift von *Zeng et al.* in dem Benzylchlorid (**182**) mit 2-Aminoethanol (**181**) verlängert wird.[134]

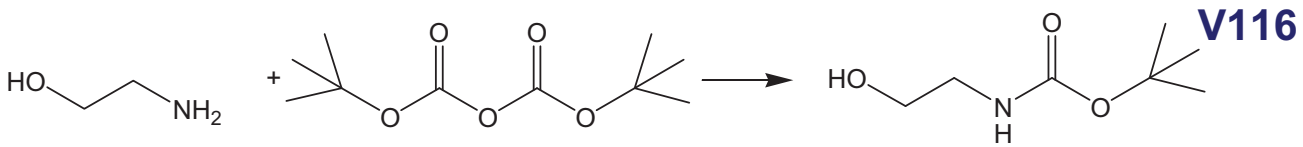
V115



AB07 **181** **AB21**

Durch diese Williamson-Ethersynthese mit Natriumhydrid in Tetrahydrofuran erhält man das Azobenzol **AB21** mit der endständigen Aminogruppe in einer Ausbeute von 41 %.

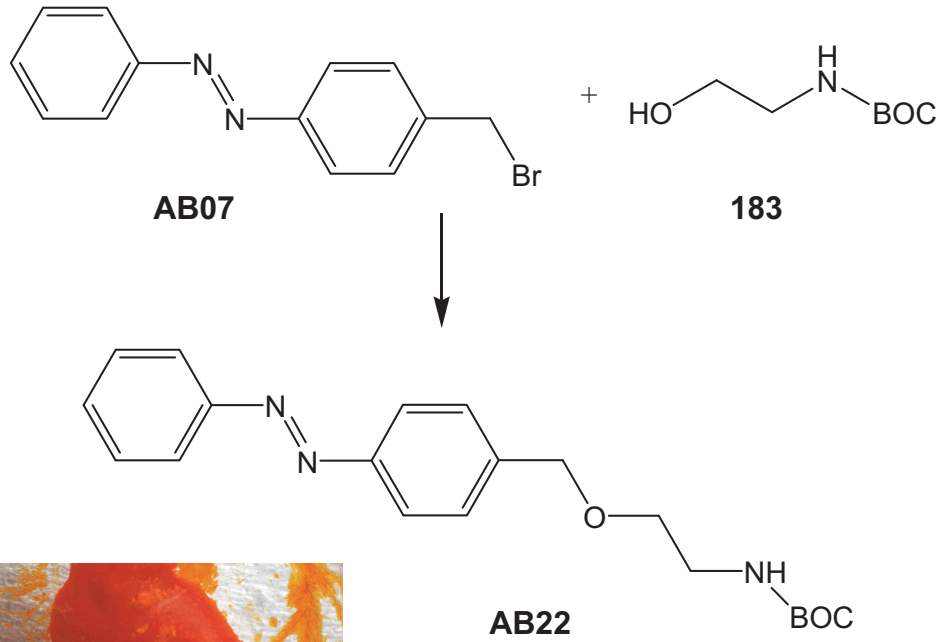
V116: Alternativ wird die Synthese des Azobenzols **AB21** mit dem BOC-geschützten 2-Aminoethanol **183** durchgeführt.



181 **149** **183**

Dieses erhält man aus 2-Aminoethanol (**181**) und Di-*tert*-butyldicarbonat (**149**) in Methylenchlorid bei Raumtemperatur in einer quantitativen Ausbeute.[135]

V117: Die Kopplung des hergestellten Kettenbausteins **183** an das Azobenzol **AB07** wird unter den gleichen Bedingungen wie für die ungeschützte Verbindung **AB21** durchgeführt.



AB07 **183**

AB22

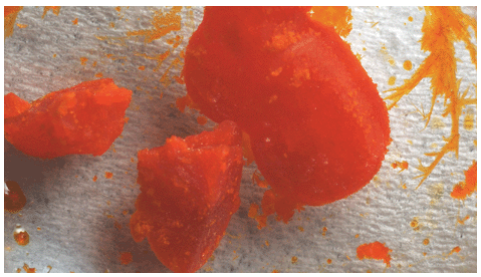
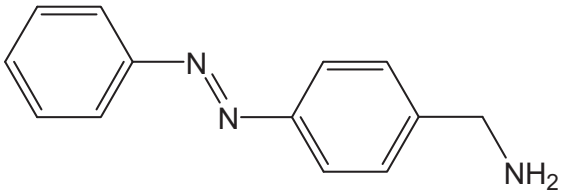


Abbildung 3.105: AB22 in Form orangefarbener Kristalle.

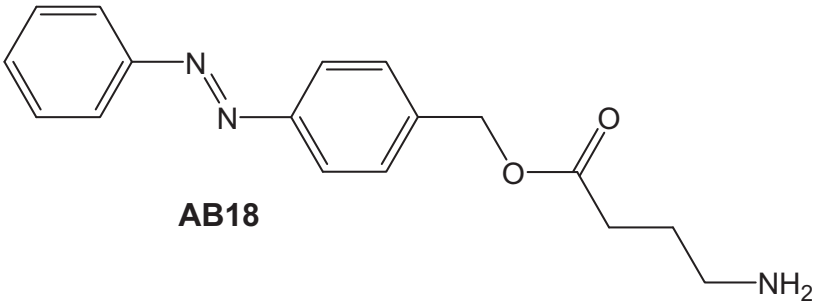
Das Rohprodukt **AB22** wird in einer Ausbeute von 90 % erhalten. Durch die säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel 60 wird ein Teil des Produkts hydrolysiert. Die Ausbeute des reinen Azobenzol-Linker-Baustein **AB22** verringert sich auf 23 %. Auf die Entschützung mit Trifluoressigsäure zum koppelfähigen **AB21** wird verzichtet, da bei der Direktsynthese **V115** eine höhere Ausbeute erzielt wurde.

3.10.2.3.3 Übersicht der synthetisierten koppelfähigen Azobenzol-Linker-Bausteine

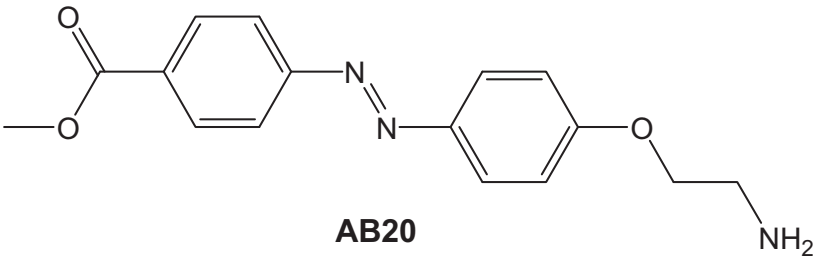
Im Folgenden sind die synthetisierten koppelfähigen Azobenzol-Linker-Bausteine für Bichromophorsynthesen nach der Verknüpfungsstrategie in einer Übersicht dargestellt. Das Azobenzol **AB11** stammt aus den in Kapitel 3.9.4.1 beschriebenen Azokupplungen. **AB18** ist ein über einen Ester verlängertes Azobenzol. Bei den Verbindungen **AB20** und **AB22** wurde ein Linker über einen Ether angehangen.



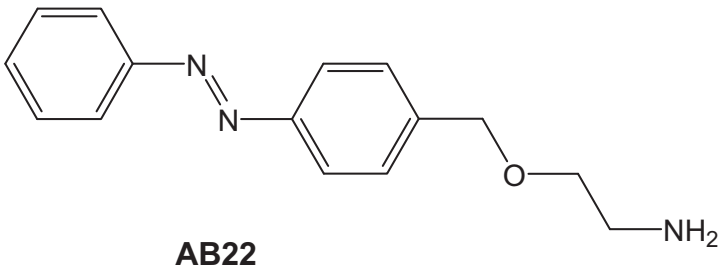
AB11



AB18



AB20



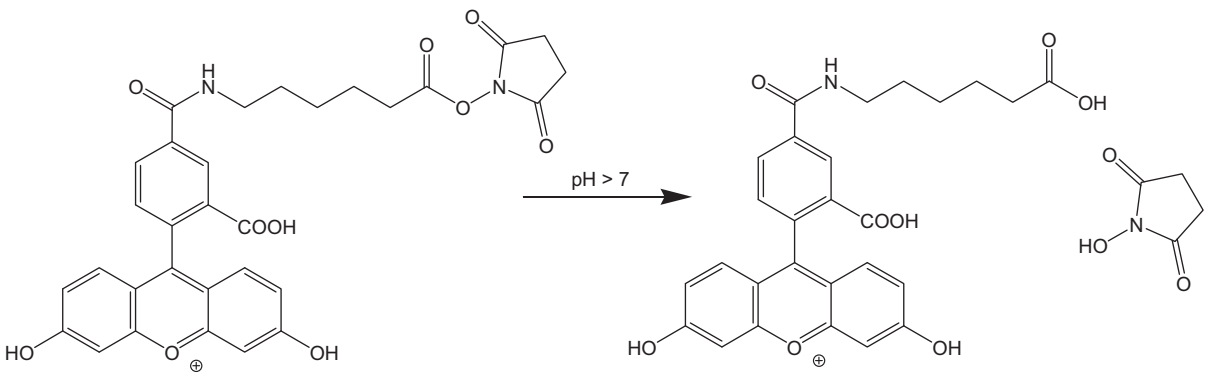
AB22

3.10.3 HPLC-Voruntersuchungen der Edukte für die Bichromophorsynthesen

Die Synthesen der Bichromophore werden aus Kostengründen stets mit sehr geringen Substanzmengen im submilligramm-Bereich durchgeführt. Die Reinigung der synthetisierten Bichromophore kann daher mittels HPLC erfolgen.
Um später die unterschiedlichen Fraktionen in einer Rohproduktprobe eines Bichromophors besser identifizieren zu können, wurden zunächst Probeläufe mit den Edukten (Fluorophor- bzw. Quencher-Linker-Bausteinen) durchgeführt, Kenntnisse über ihr Laufverhalten in der HPLC ermöglicht auch eine einfachere Herleitung der geeigneten Trennungsbedingungen der sogenannten Methodenentwicklung.
Als Laufmittel wird Methanol und mit Trifluoressigsäure auf pH = 3 angesäuertes Wasser verwendet; je nach Probe in Mischungsverhältnissen von 95:5 bis 70:30. Zu Beginn der Untersuchungen wurde als Säule eine YMC ODS-AQ (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm) verwendet. Dabei handelt es sich um ein RP18-Kieselgel mit endständigen Hydroxygruppen. Die Flussrate betrug meist 2.4 ml/min. Je nach Versuchsbedingungen wurden diese Bedingungen anschließend optimiert.
Um den Spektrenvergleich der einzelnen Komponenten übersichtlicher zu gestalten, werden im Folgenden den Spektren der Fluorophorbausteine die Farbe Grün, der Azobenzole die Farbe Rot und der Bichromophore die Farbe Blau zugewiesen.
Für die Fluorophorkomponenten wurden isomerenreine Rhodamine und Fluoresceine verwendet.

3.10.3.1 HPLC-Voruntersuchung: DY495-X5-NHS-Ester 143

Im Rahmen dieser Arbeit wurde DY495-X5-NHS-Ester **143** als Fluoresceinbaustein in den Bichromophorsynthesen verwendet.



143 **184**

Abbildung 3.106: Hydrolyseschema von DY495-X5-NHS-Ester **143**.

In Voruntersuchungen wird der Fluoresceinbaustein DY495-X5-NHS-Ester **143** auf sein Laufverhalten in der HPLC bei verschiedenen Laufmittelmischungen untersucht, um später diesen in den Rohproduktmischungen identifizieren zu können.
Zunächst wird das Verhalten vom DY495-X5-NHS-Ester **143** beim Laufmittelverhältnis 95 % Methanol und 5 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) untersucht. Detektion der UV-Absorption erfolgt bei 254 nm. Die Fluoreszenz wird bei 470 nm angeregt und bei 500 nm detektiert.

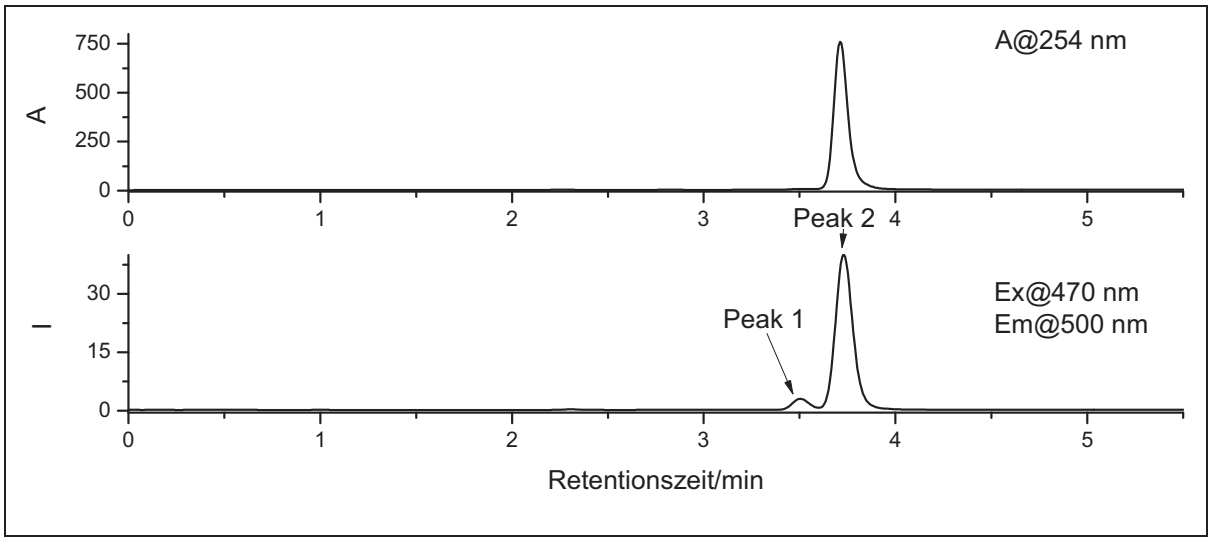


Abbildung 3.107: Laufspur von DY495-X5-NHS-Ester **143** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Unter diesen Bedingungen weist der Fluoresceinbaustein DY495-X5-NHS-Ester **143** zwei Signale mit Retentionszeiten von 3.5 min bzw. 3.7 min auf. Die aufgezeichneten DAD-Spektren dieser Signale sehen wie folgt aus:

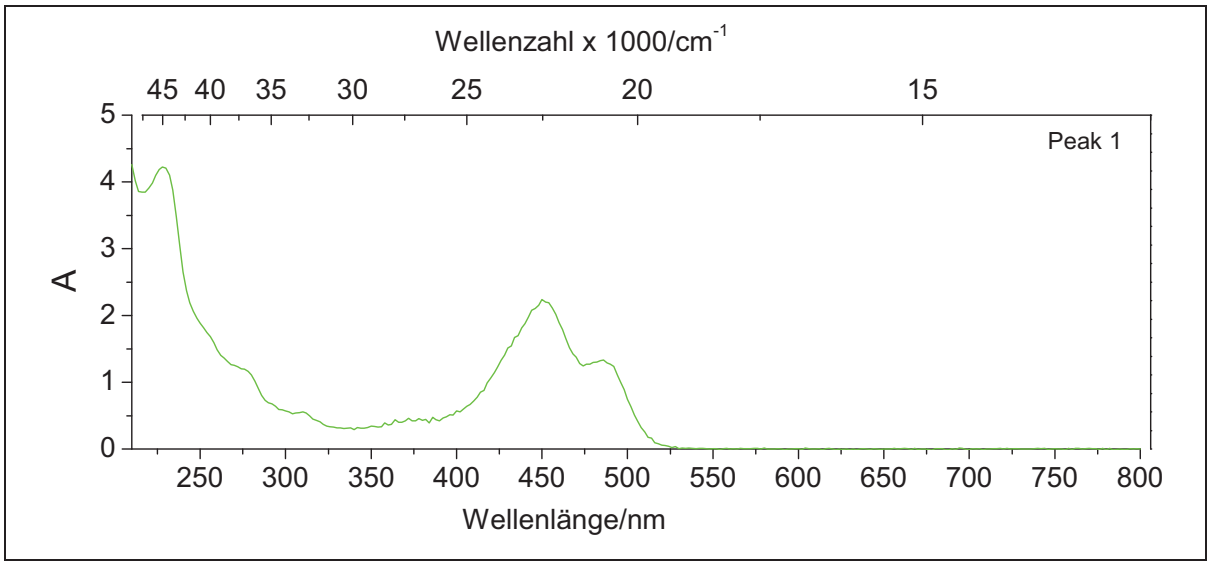


Abbildung 3.108: UV-Vis-Spektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 1 in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 228, 450, 486 nm.

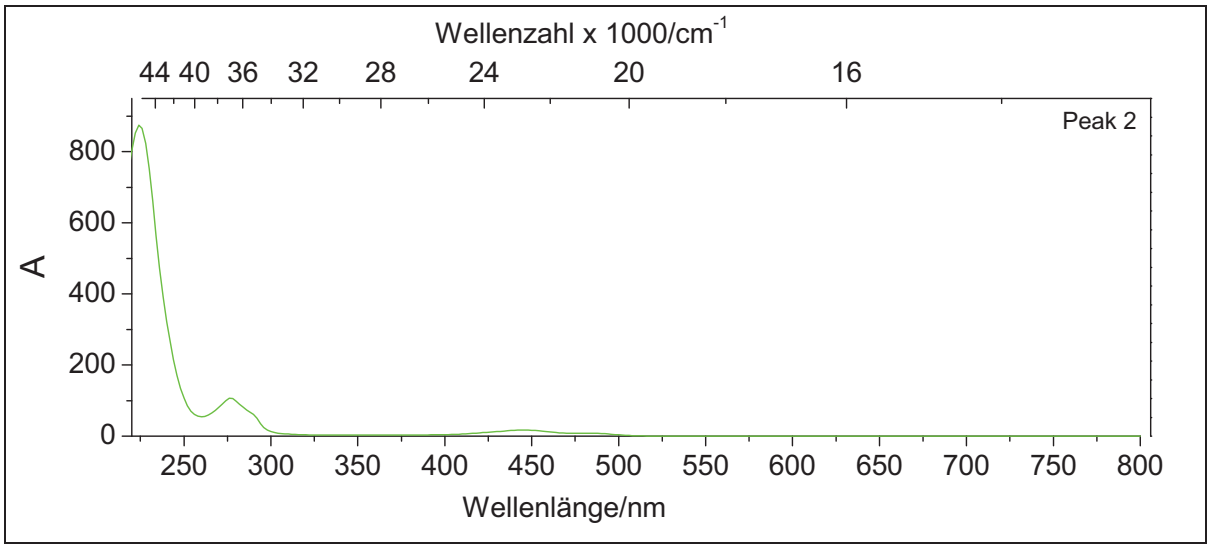


Abbildung 3.109: UV-Vis-Spektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 2 in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.7 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 224, 276, 446, 482 nm.

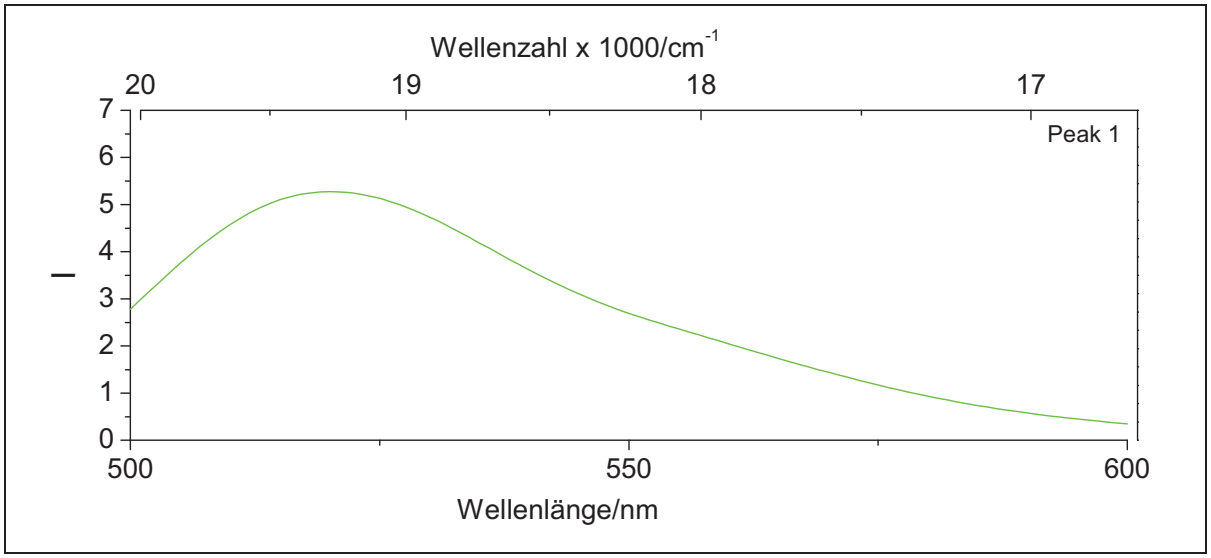


Abbildung 3.110: Fluoreszenzspektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 1 in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@470 nm) = 520 nm.

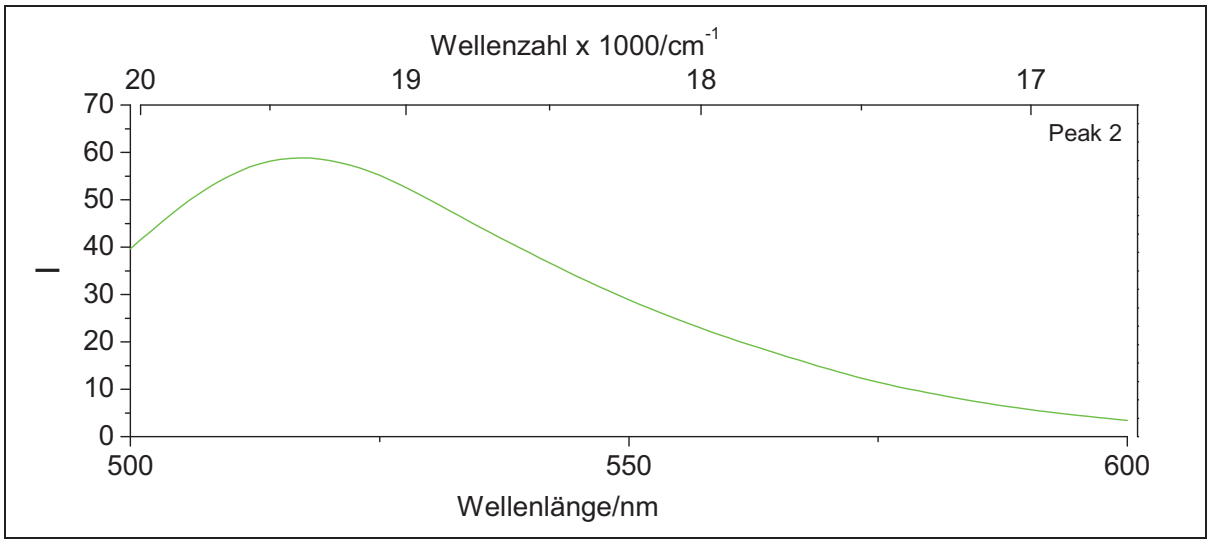


Abbildung 3.111: Fluoreszenzspektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 2 in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.7 min**.; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@470 nm) = 517 nm.

Um zu untersuchen, warum bereits im Edukt zwei Signale aufgetreten sind, wird die Probe der methanolischen DY495-X5-NHS-Ester-Lösung **143** noch einmal auf die HPLC gegeben. Dieses Mal wird der Anteil Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) von 5 % auf 30 % erhöht.

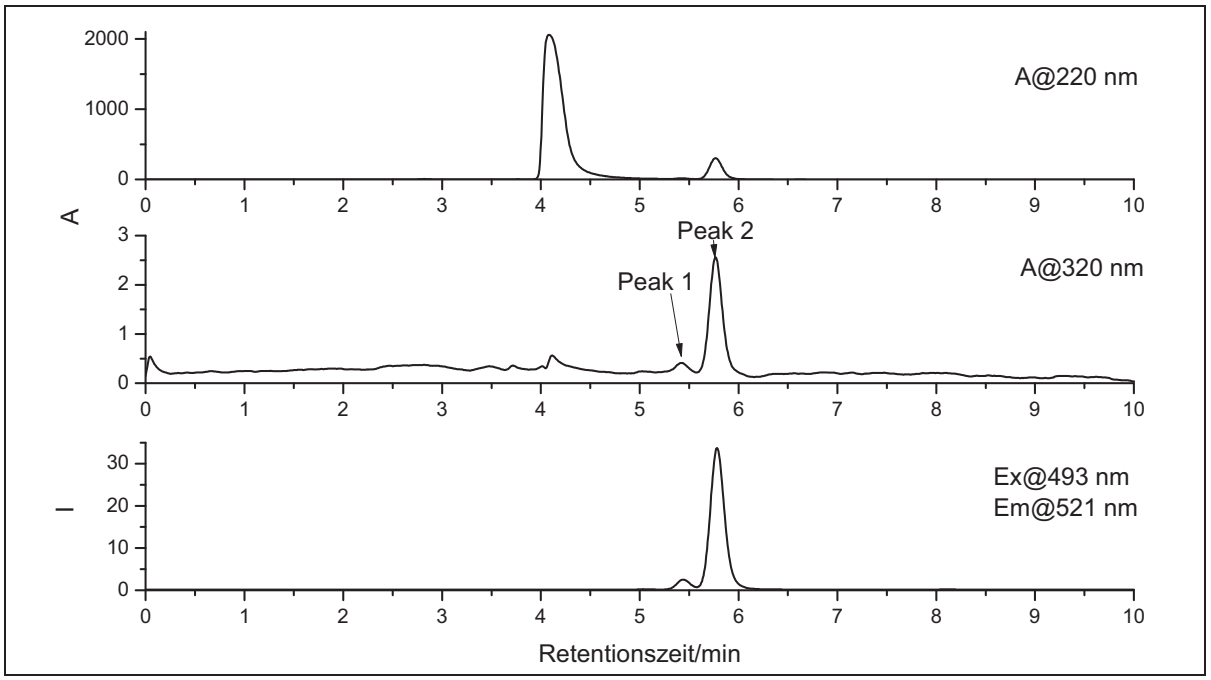


Abbildung 3.112: Laufspur von DY495-X5-NHS-Ester **143** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Hier wurde die Absorption bei 220 und 320 nm und die Fluoreszenz bei 521 nm nach einer Anregung bei 493 nm gemessen. Bei dem starken Absorptionssignal bei 220 nm nach 4.1 min handelt es sich um das Methanol der Lösungsmittelfront. Die Signale mit Retentionszeiten von 5.4 min bzw. 5.7 min weisen die unten stehenden Spektren auf.

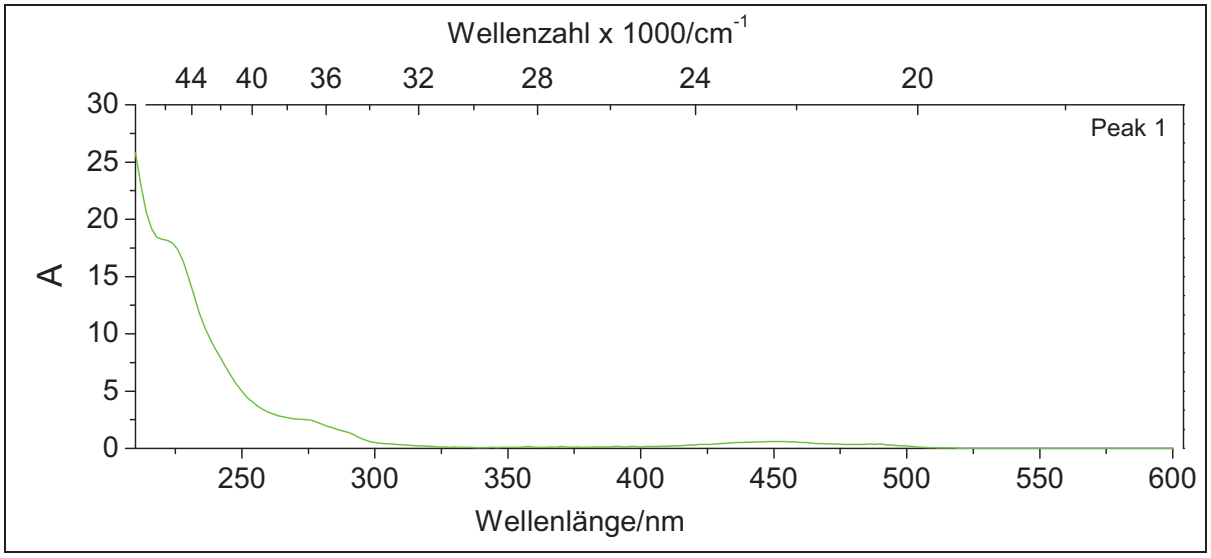


Abbildung 3.113: UV-Vis-Spektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 1 in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.4 min**.; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 448, 486 nm.

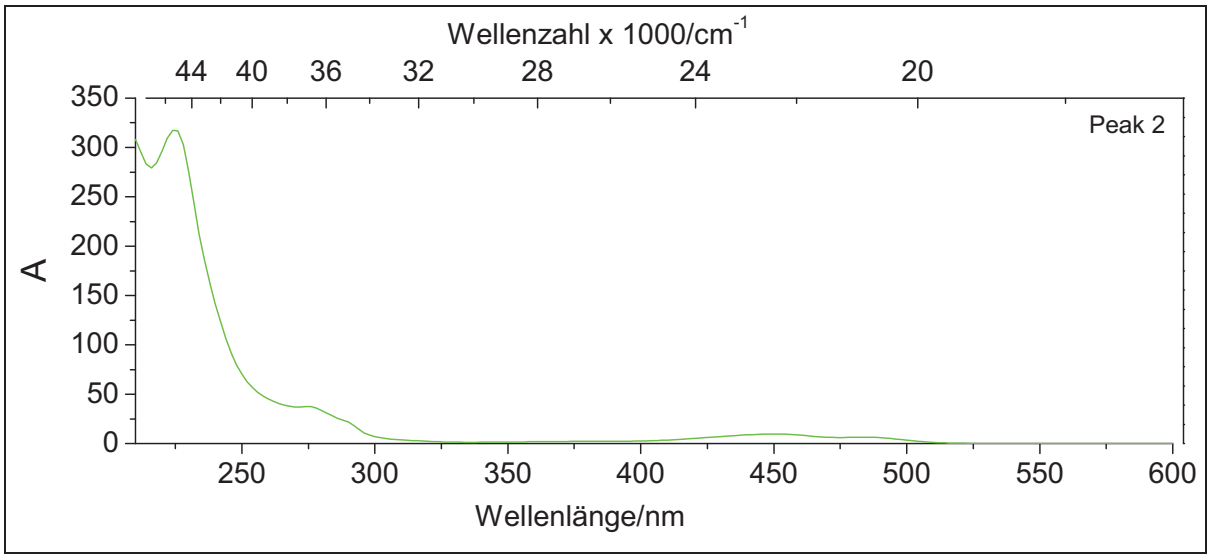


Abbildung 3.114: UV-Vis-Spektrum von DY495-X5-NHS-Ester **143** Peak 2 in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.7 min**.; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 224, 274, 450, 484 nm.

Zum Vergleich der einzelnen Signale der HPLC-Messungen von DY495-X5-NHS-Ester **143** werden deren UV-Vis-Spektren normiert und in einem Graph dargestellt.

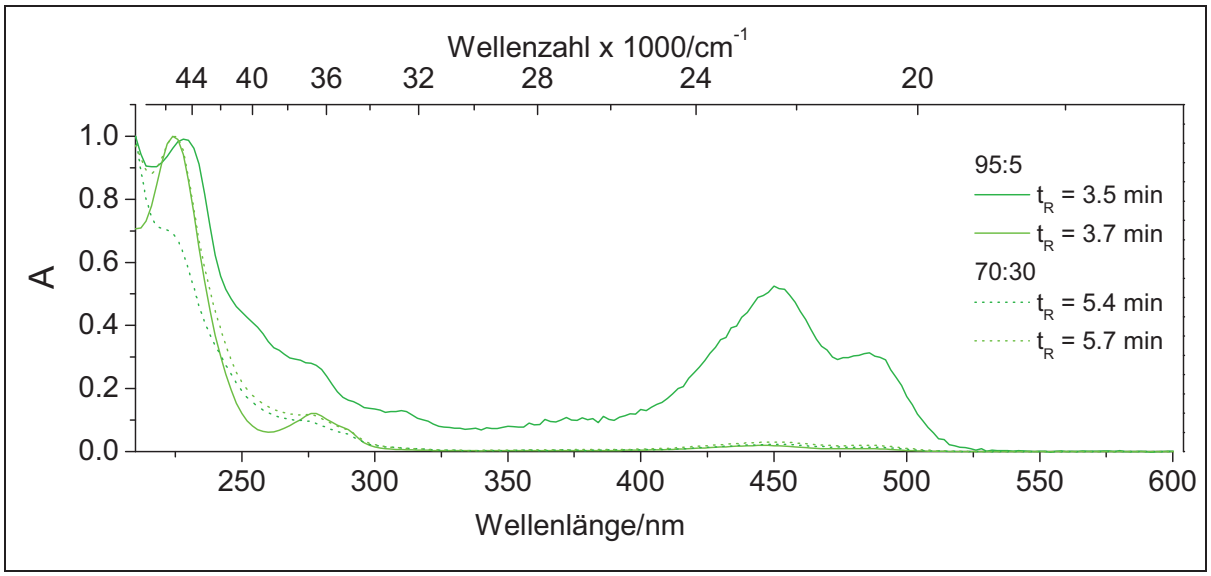


Abbildung 3.115: Normierte UV-Vis-Spektren der einzelnen HPLC-Fraktionen von DY495-X5-NHS-Ester **143** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Aus der HPLC-Eduktkontrollen der Probe des Fluoresceinfarbstoff DY495-X5-NHS Ester **143** ergeben sich die obigen Spektren. Sowohl die Messung bei einem Laufmittelgemisch von 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) als auch bei einem Verhältnis von 70 %:30 % ergaben zwei Signale. Ein schwaches nach 3.5 min bzw. 5.4 min und ein starkes nach 3.7 min bzw. 5.7 min. Da sich die UV-Vis- und Fluoreszenzspektren ähneln handelt sich um verschiedene Fluoresceinderivate. Jedoch weisen in diesen Messungen keine zwei Signale ein identisches Spektrum auf. Dies lässt darauf schließen, dass die zwei Substanzen in den verschiedenen Laufmittelmischungen in unterschiedlichen Formen vorliegen. Es stellt sich die Frage nach der Natur der zwei Derivate.

Da es bekannt ist, dass das UV-Absorptionsverhalten von Fluorescein stark pH-abhängig ist, liegt die Vermutung nahe, dass es sich eher um unterschiedliche Protonierungszustände zweier Fluoresceinderivate handelt. Da sich jedoch hier der PH-Wert während eines Laufs nicht ändert und die Protonierung/Deprotonierung zudem

schnell für eine Auftrennung mittels HPLC ist, ist die obige Vermutung auszuschließen.

Bei der Synthese solcher Fluoresceine entstehen gleichzeitig 5- und 6-Carboxyisomere (siehe Kapitel 3.10.1.2). Obwohl laut Angaben des Herstellers es sich um ein isomerenreines Produkt handelt, besteht der Verdacht einer Verunreinigung durch das unerwünschte 6-Carboxyisomer. Da die zwei Fraktionen je nach Trennungsbedingungen in einem Verhältnis von ca. 1:150 bzw. 1:15 vorliegen, ist diese Vermutung widerlegt.

Eine weitere Möglichkeit wäre das Hydrolyseprodukt DY495-X5-COOH **184**. Ein höherer Wasseranteil und ein steigender pH-Wert, sowie die Zeit zwischen der ersten (95:5) und zweiten (70:30) HPLC-Untersuchung würden zur Zunahme der Hydrolyse führen. Die kleinere Fraktion nach 3.5 min bzw. 3.7 min käme hierfür in Frage, da ihr Anteil in der späteren Messung stark zugenommen hat.

Normiert man auf den Peak bei ca. 450 nm für die Spektren aus der ersten HPLC-Untersuchung, so erkennt man, dass sich die Spektren der zwei Fraktionen sich im Bereich größer 325 nm durch einen kleinen Shift um 4 nm unterscheiden. Im Bereich unterhalb 325 nm, unterscheiden sie sich hingegen stark.

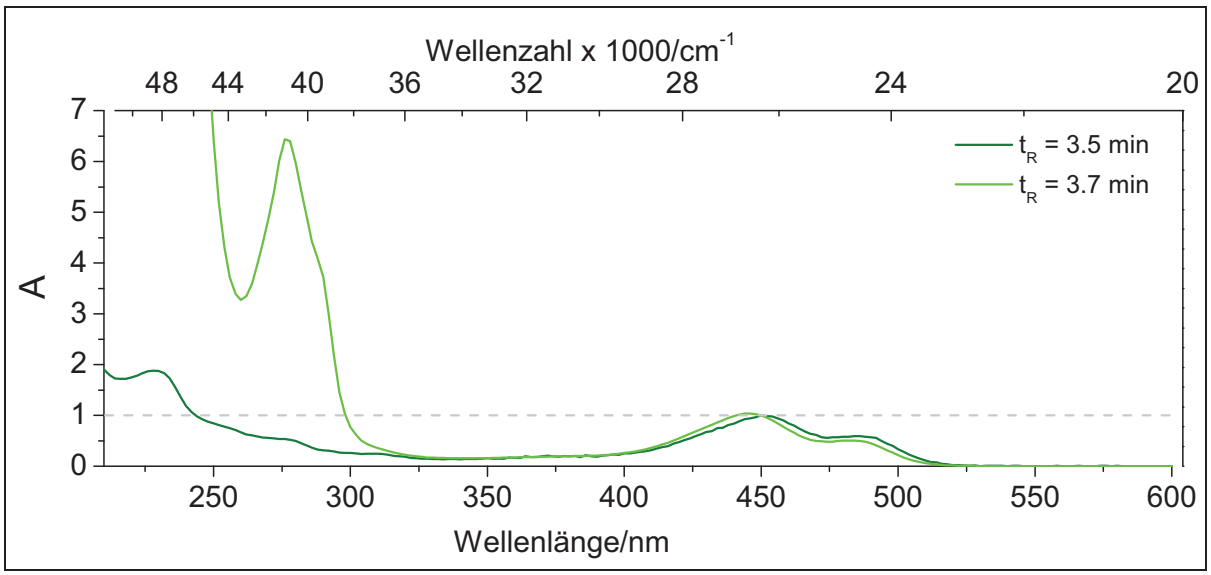


Abbildung 3.116: Normierte UV-Vis-Spektren der HPLC-Fraktionen von DY495-X5-NHS-Ester **143** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3).

Dies bestätigt unsere Hypothese. Die zusätzlichen Banden unterhalb von 3.25 nm in der Fraktion nach 3.7 min sind auf den nπ*-Übergang der Carbonylgruppen des *N*-

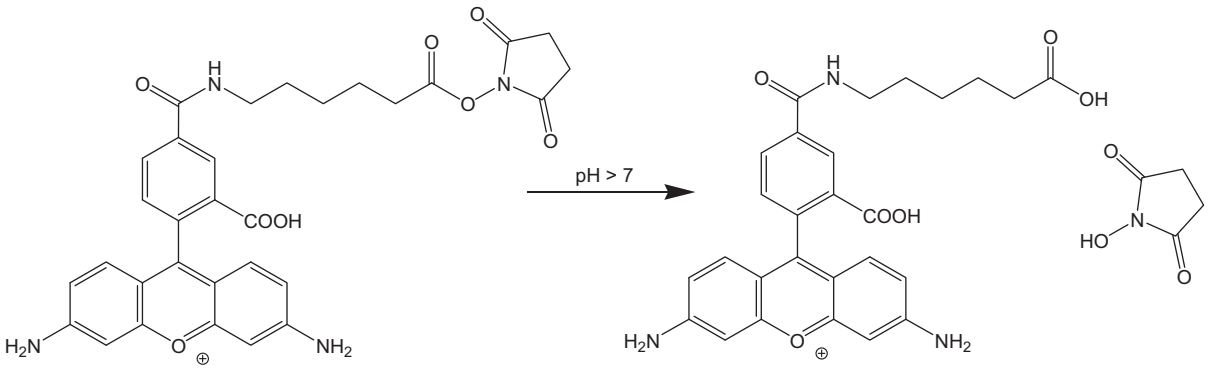
Succiniimidesters **143** der unhydrolysierten Form zurückzuführen. Entsprechend fehlen diese Banden im UV-Vis-Spektrum der Fraktion nach 3.5 min.

Ein weiterer Beleg für die obige Hypothese sind die späteren Rohproduktuntersuchungen. Da die Bichromophorsynthesen nach der Verknüpfungsstrategie unter basischen Bedingungen stattfinden, die eine mögliche Hydrolyse fördern, würde man hier ebenfalls einen höheren Anteil an Hydrolyseprodukt **184** in den Rohproduktlösungen erwarten.

Bei der folgenden Untersuchungen mit DY495-X5-NHS-Ester **143** ist also zu beachten, dass die Hydrolyse des NHS-Esters **143** mit steigendem pH-Wert und Wasserspuren mit der gewünschten Kopplung zum Bichromophor über eine Amidbindung konkurriert. Dies hat zur Folge, dass je nach Reaktions- und Aufarbeitungsbedingungen sowohl nicht umgesetzter DY495-X5-NHS-Ester **143** als auch der hydrolysierte DY495-X5 Baustein **184** in der Reaktionsmischung vorliegen kann. In den folgenden Beschreibungen der HPLC-Untersuchungen der Bichromophore wird nur vom DY495-NHS-Ester **143** Signal gesprochen und nicht zwischen dem Ester **143** und der hydrolysierten Säure **184** unterschieden.

3.10.3.2 HPLC-Voruntersuchung: DY505-X5-NHS Ester 144

Im Rahmen dieser Arbeit wurde DY505-X5-NHS-Ester **144** als Rhodaminbaustein in den Bichromophorsynthesen verwendet.



144 **185**

Abbildung 3.117: Hydrolyseschema von DY505-X5-NHS Ester **144**.

DY505-X5-NHS-Ester **144** ist ein Derivat des Rhodamins 110 (**1**). Dieses wurde, ähnlich dem DY495-X5-NHS-Ester **144**, über eine Amidbindung an eine 6-Amino-hexansäure (**185**) geknüpft, welche wiederum als *N*-Succinimidester aktiviert wurde. Auch bei der Untersuchung des DY505-X5-NHS-Esters **144** sollte man, wie schon in Kapitel 3.10.3.1 für DY495-X5-NHS-Ester **143** beschrieben, eine mögliche Hydrolyse des aktivierten Esters **144** in Betracht ziehen.

Der Rhodaminbaustein DY505-X5-NHS-Ester **144** wird auf sein Laufverhalten in der HPLC bei verschiedenen Laufmittelmischungen untersucht, um diesen später in den Rohproduktmischungen identifizieren zu können. Als Laufmittel wird Methanol und Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) im Verhältnis 70:30 mit einer YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm) verwendet. Die Flussrate beträgt 0.5 ml/min. Die Fluoreszenz wird bei 270 nm angeregt und bei 520 nm detektiert.

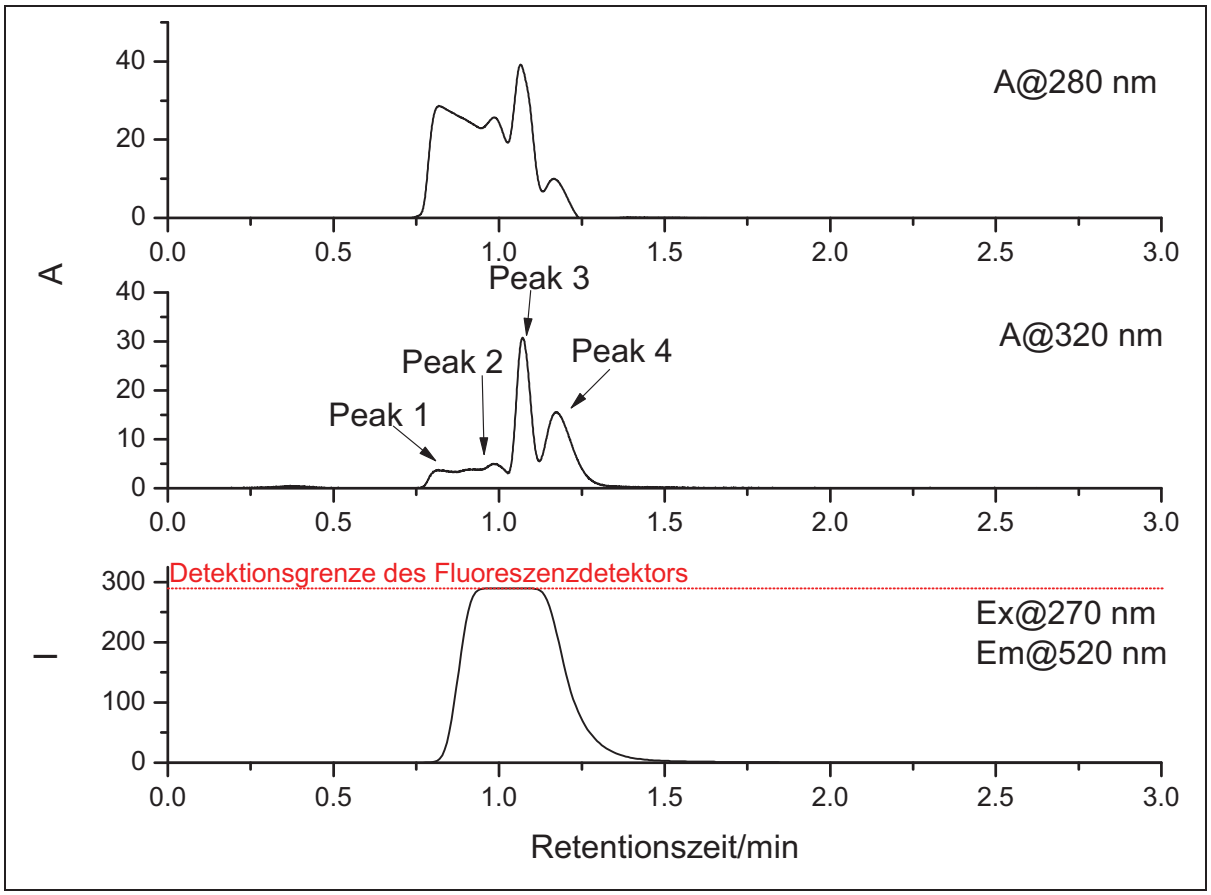


Abbildung 3.118: Laufspur von DY505-X5-NHS-Ester **144** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm).

Trotz moderatem UV-Absorptionssignal, ist die emittierte Fluoreszenz der Fraktionen zu intensiv für den Detektor, so dass es zu einer Sättigung des Signals kommt.
Unter diesen Bedingungen weist der Rhodaminbaustein DY505-X5-NHS Ester **144** Signale mit Retentionszeiten von 0.8, 1.0, 1.1 bzw. 1.2 min auf. Eine Veränderung der Laufmittelverhältnisse, Laufmittel, sowie der Flussraten führte nicht zu einer höheren Auflösung dieser Signale.

Die aufgezeichneten UV-Spektren dieser Signale sehen wie folgt aus:

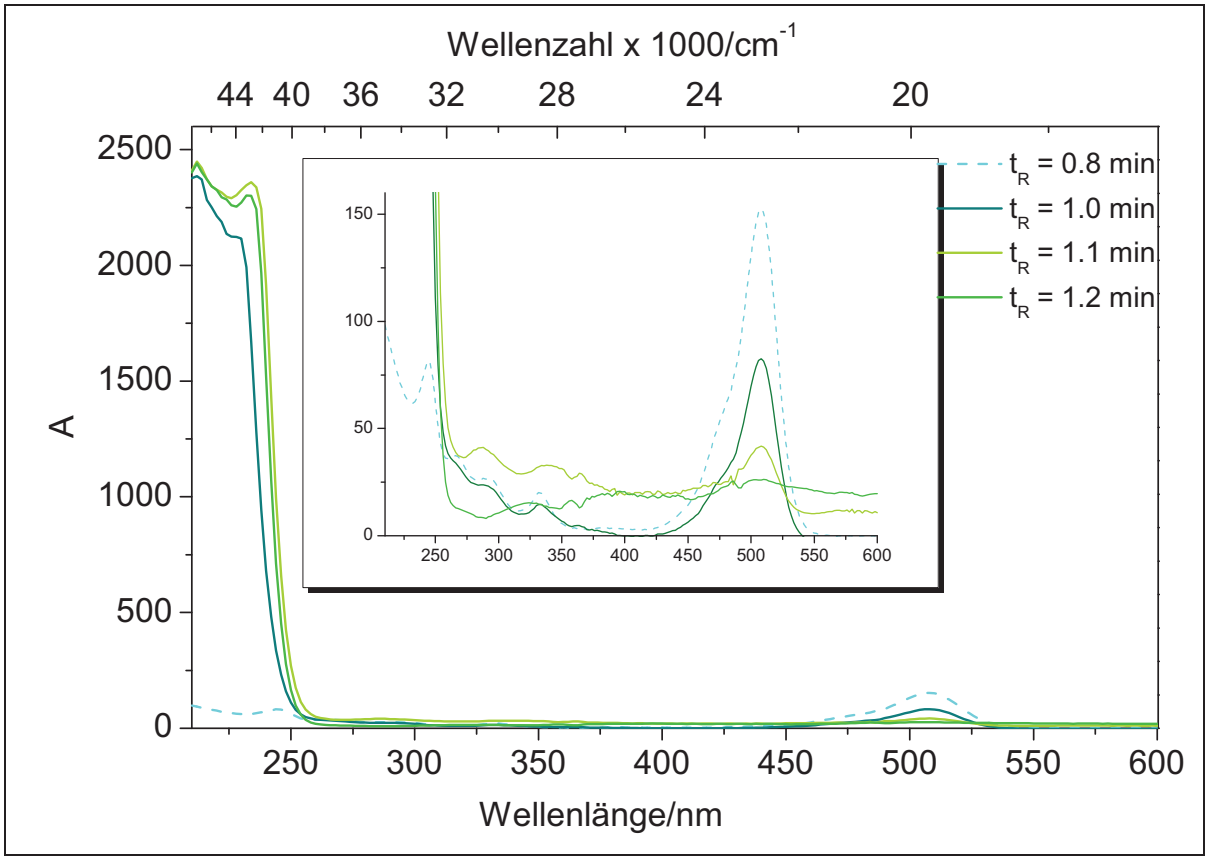


Abbildung 3.119: UV-Vis-Spektrum von DY505-X5-NHS-Ester **144** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm).

Die detektierten UV-Spektren weisen strukturelle Ähnlichkeiten auf. So findet man starke Absorptionsbanden um 230 nm und weitere bei 508 nm. Diese Banden sind den C=O-Gruppen des N-Succinimidesters (230 nm) und der Xanthenyleinheit (508 nm) zuzuschreiben. Aus der fehlenden Absorptionsbande bei 230 nm der Fraktion mit einer Retentionszeit von 0.8 min folgt, dass es sich um die hydrolysierte Form des DY505-X5-NHS-Esters **144** handelt. Die UV-Spektren der Signale nach

1.0, 1.1 und 1.2 min unterscheiden sich in der Intensität der 320 nm-Bande. Dies bedeutet, dass in diesen Fraktionen Modifkationen der Xanthenyleinheit vorliegen.
Aufgrund der Signalsättigung der Fluoreszenz sind nur die Spektren am Anfang und Ende des Signals auswertbar. Vergleicht man diese Fluoreszenzspektren des hydrolysierten **186** und unhydrolysierte NHS-Esters **144**, so sieht man dass der Einfluss der Succinimidylgruppe gering ist. Lediglich ein geringer hypsochromer Shift um 4 nm, von 537 auf 533 nm, ist zu beobachten.

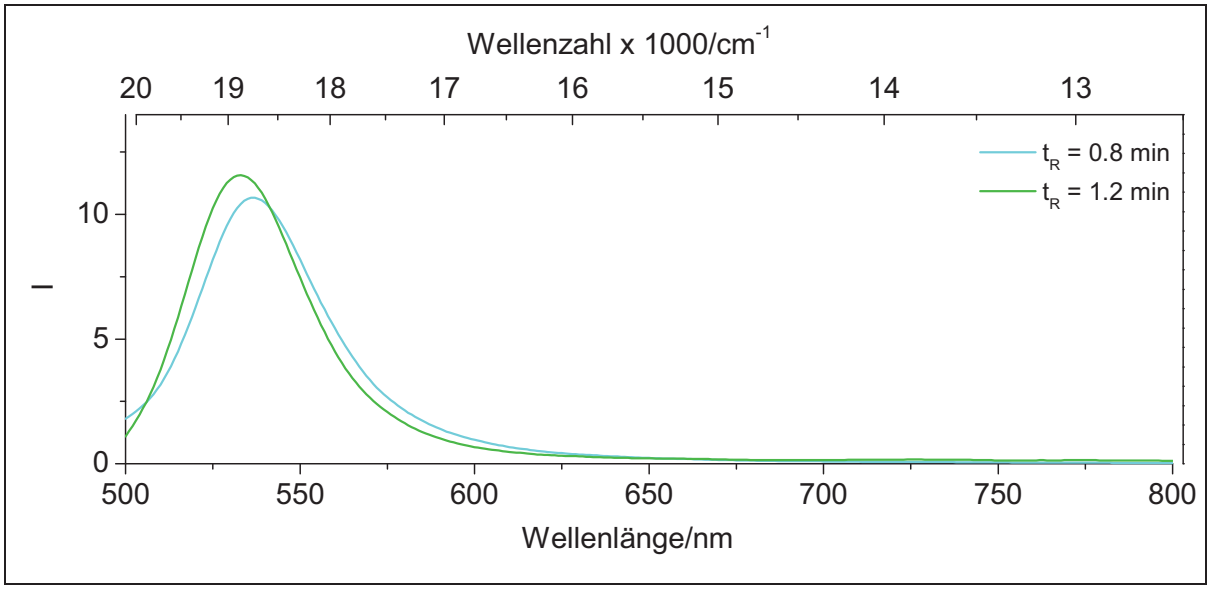
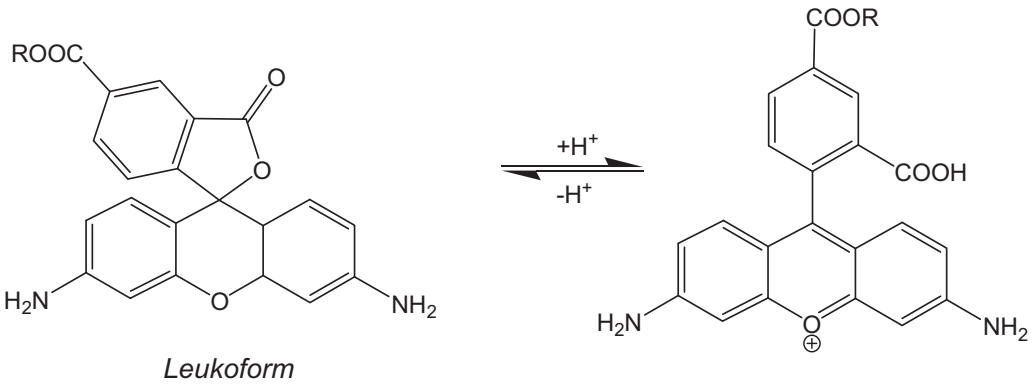


Abbildung 3.120: Fluoreszenzspektrum von DY505-X5-NHS-Ester **144** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm).

Auffallend ist, dass die Signale je eine Bande bei 505 nm aufweisen, das Signal nach 1.2 min jedoch nicht. Die fehlende Banden im VIS-Bereichder Fraktion nach 1.2 min lässt eine farblose Verbindung vermuten.
Hierbei könnte es sich daher um die Leukoform des Farbstoffs handeln (siehe Abbildung 3.121. Ein ausreichend hohen pH-Wert führt zu einem intramolekularen Ringschluss. Dieser unterbricht das konjugierte π-System des Xanthenylchromophors. Man erhält die daher farblose Leukoform.



Leukoform

Abbildung 3.121: pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen der farbigen und Leukoform eines Rhodamin 110-Derivats.

Die weiteren Signale sind vermutlich auf Nebenprodukte und nicht abgetrennte Zwischenprodukte der mehrstufigen Synthese des aktivierten Rhodaminfarbstoffs zuzuordnen (siehe Abbildung 3.122).

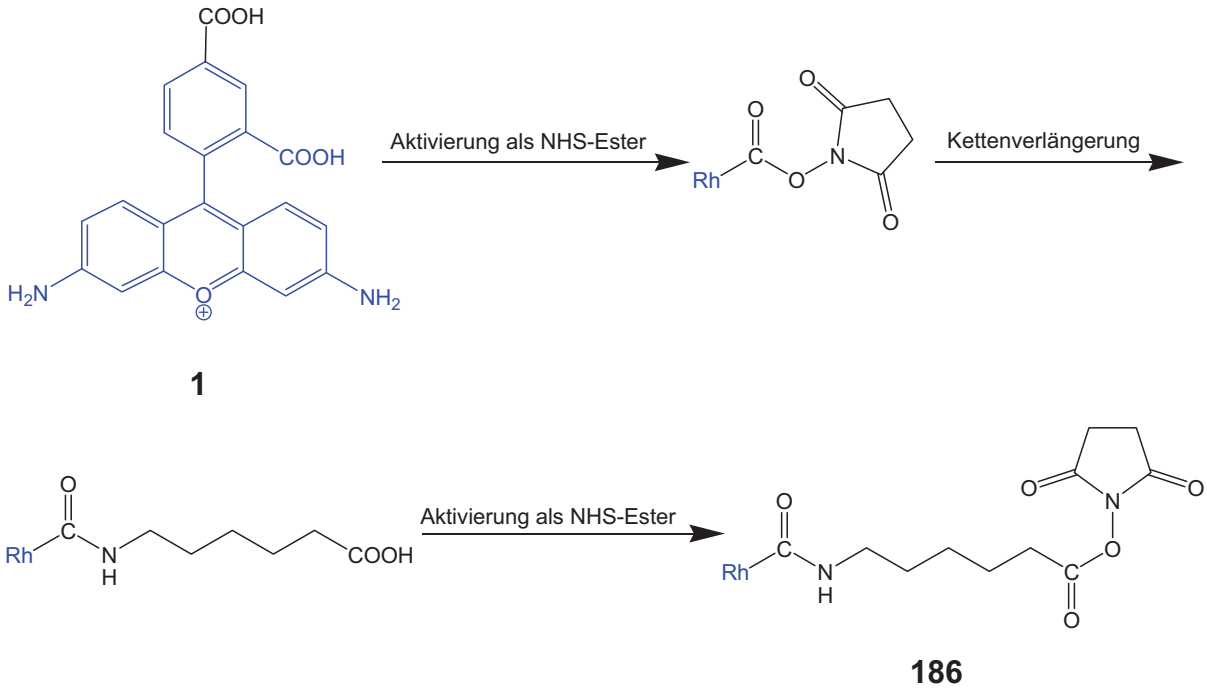


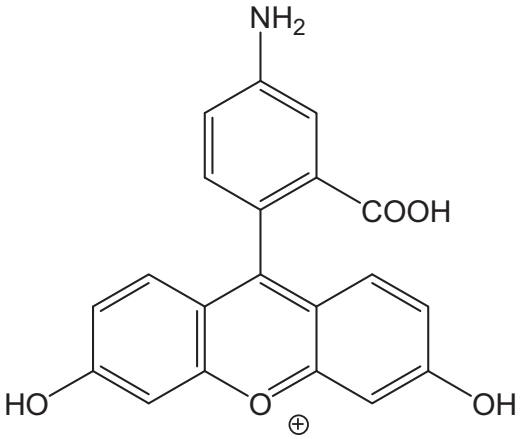
Abbildung 3.122: Allgemeines Syntheseschema eines kettenverlängerten, aktivierten Rhodamin 110 **186**.

Sowohl nicht kettenverlängerte Farbstoff **1** sowie sein aktivierter NHS-Ester **186** wären denkbar.

3.10.3.3 HPLC-Voruntersuchung: 6-Aminofluorescein (187)

6-Aminofluorescein (**169**) wird im Rahmen dieser Arbeit als Fluorophoreinheit in Bichromophoren verwendet. Sein Laufverhalten in der HPLC wird untersucht. Dazu wird eine methanolische Probenlösung angesetzt.

Zunächst wird das Verhalten vom 6-Aminofluorescein bei einem Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) untersucht. Die Flussrate beträgt 0.5 ml/min.



187

Abbildung 3.123: Struktur von 6-Aminofluorescein (**187**).

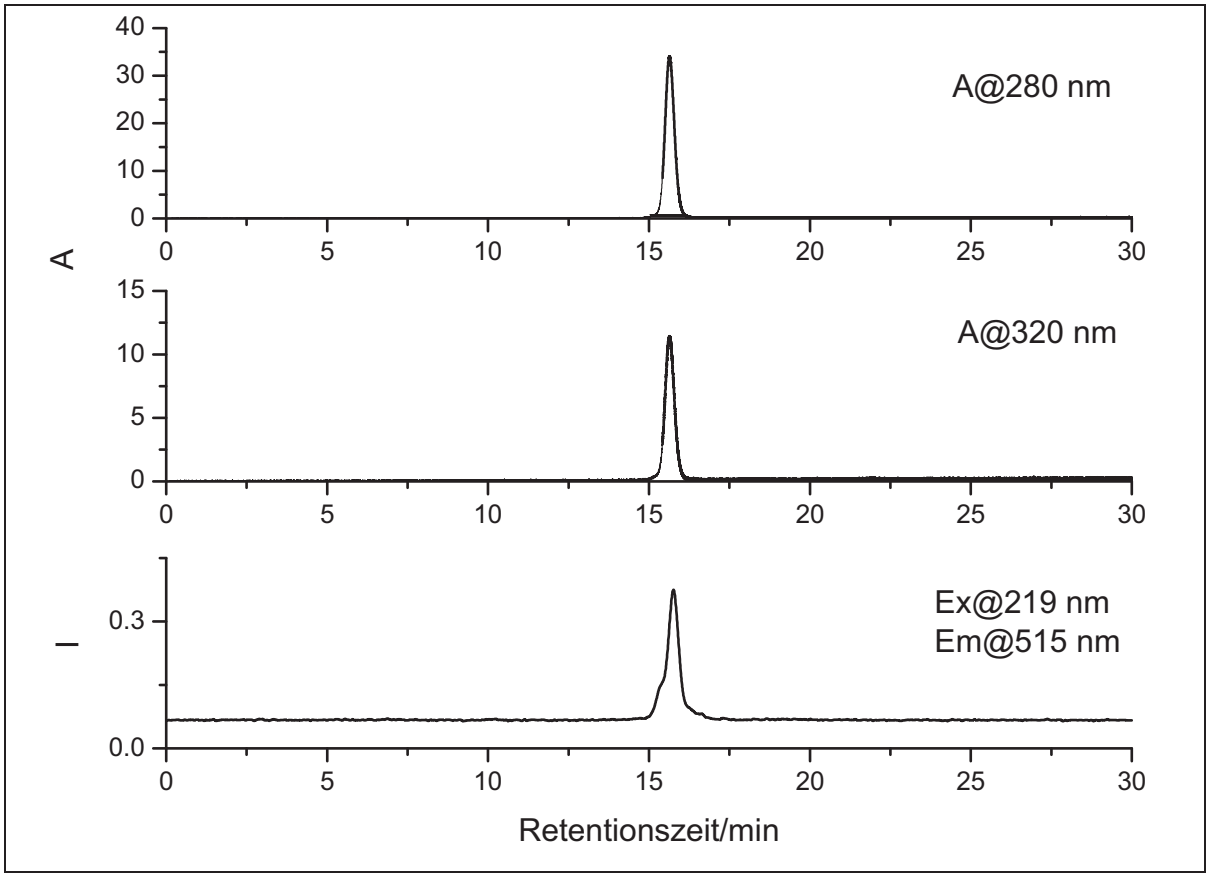


Abbildung 3.124: Laufspur von 6-Aminofluorescein (**187**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 15.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Unter diesen Bedingungen hat 6-Aminofluorescein (**187**) eine Retentionszeit von 15.6 min.

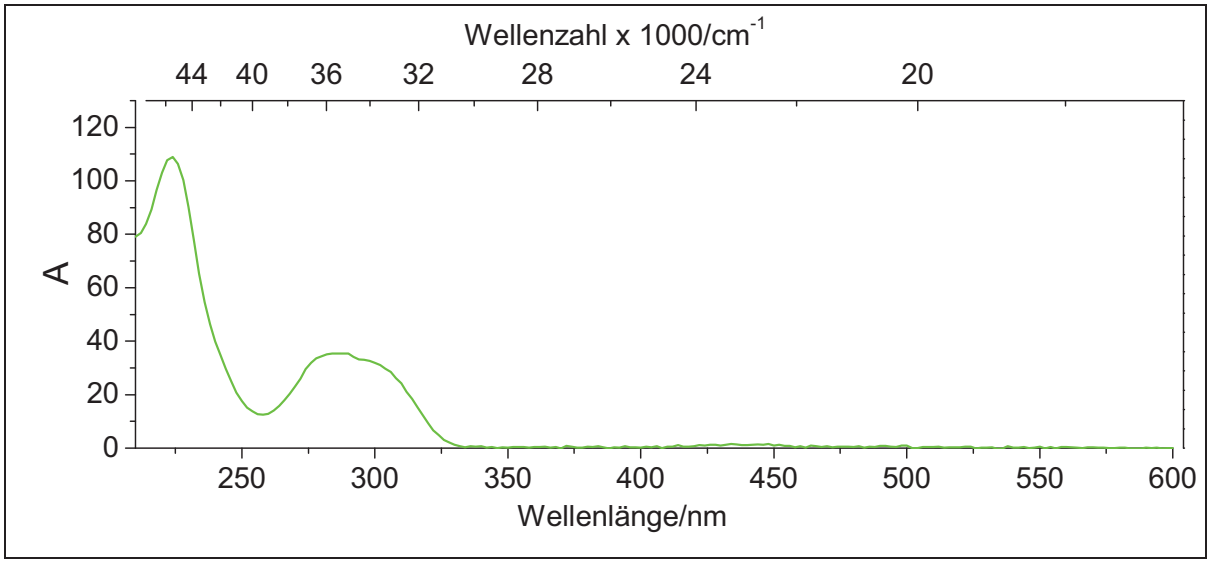


Abbildung 3.125: UV-Vis-Spektrum von 6-Aminofluorescein (**187**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; **t_R = 15.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 224, 286, 448 nm.

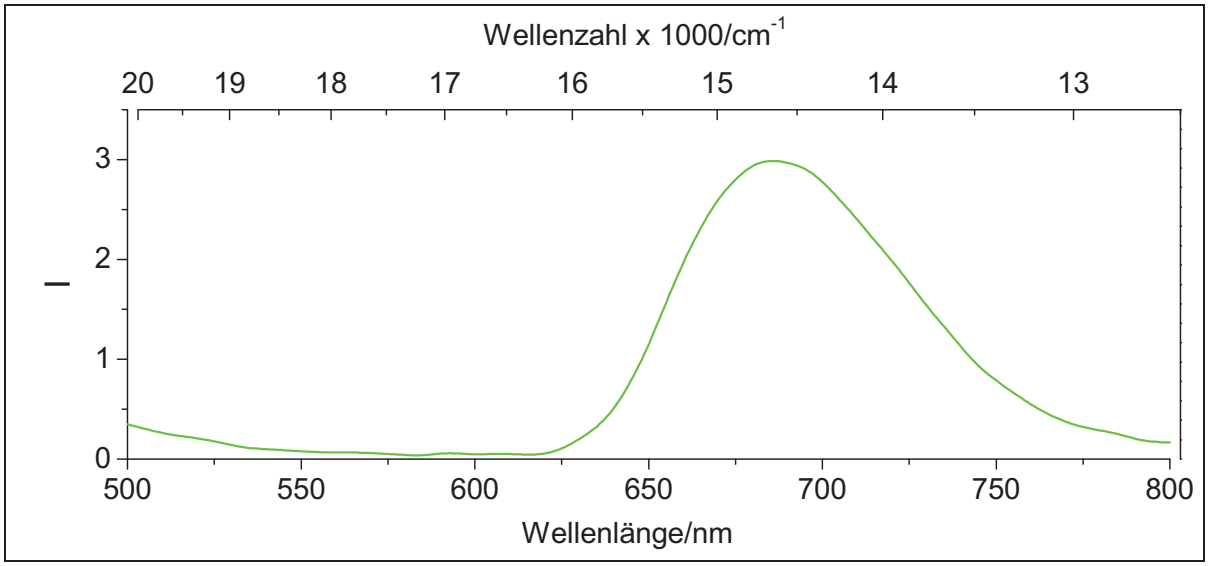
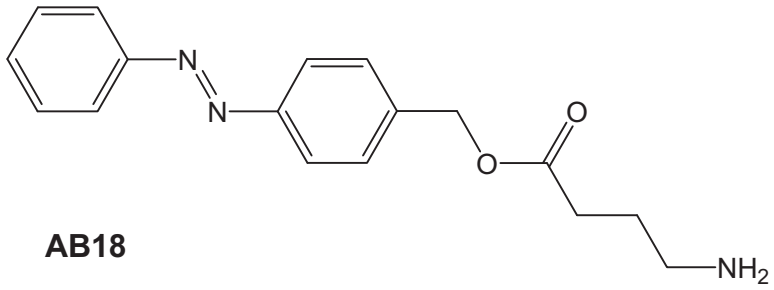


Abbildung 3.126: Fluoreszenzspektrum von 6-Aminofluorescein (**187**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; **t_R = 15.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@219 nm) = 686 nm.

3.10.3.4 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB18



AB18

Abbildung 3.127: Struktur von **AB18.**

Das Azobenzol **AB18** wird auf sein Laufverhalten in der HPLC untersucht, um später dieses in der Rohproduktmischung des Bichromophors **BC01** identifizieren zu können. Aufgrund seiner Löslichkeit wird ein Laufmittelverhältnis von 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3) gewählt. Die Flussrate beträgt 2.4 ml/min.

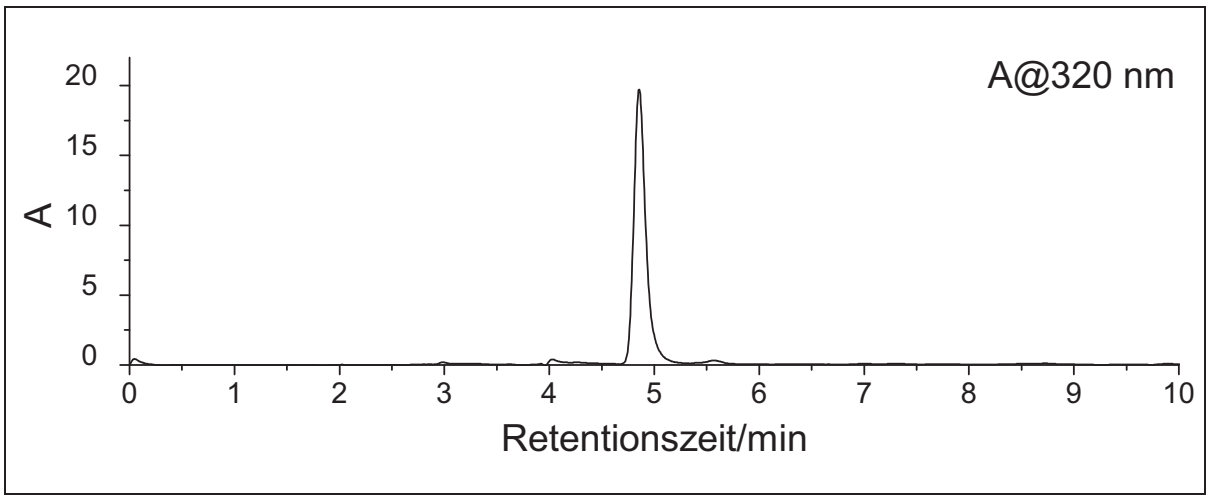


Abbildung 3.128: Laufspur von **AB18** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; 320 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Unter diesen Bedingungen weist das Azobenzol **AB18** eine Retentionszeit von 4.8 min auf. Es ergibt sich das folgende Spektrum.

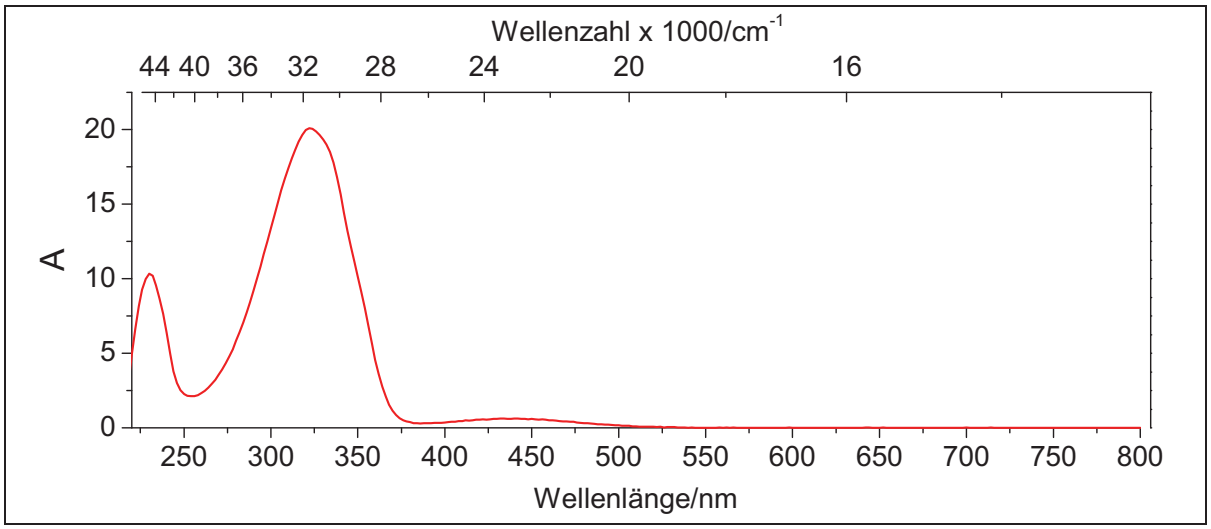


Abbildung 3.129: UV-Vis-Spektrum von **AB18** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.8 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 230, 322, 442 nm.

3.10.3.5 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB20

Das Azobenzol **AB20** wird auf sein Laufverhalten in der HPLC untersucht, um später dieses in der Rohproduktmischungen der Bichromophore **BC02** und **BC03** identifizieren zu können. Es wird ein Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) gewählt. Die Flussrate beträgt 2.4 ml/min.

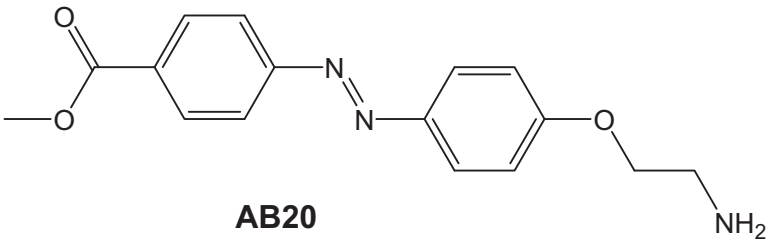


Abbildung 3.130: Struktur von **AB20.**

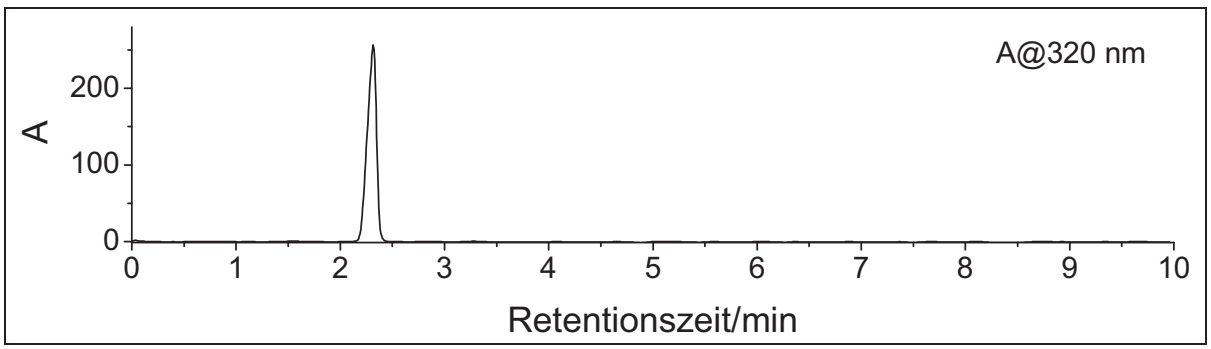


Abbildung 3.131: Laufspur von **AB20** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; 320 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Das Azobenzol **AB20** hat unter diesen Bedingungen eine Retentionszeit von 2.3 min.

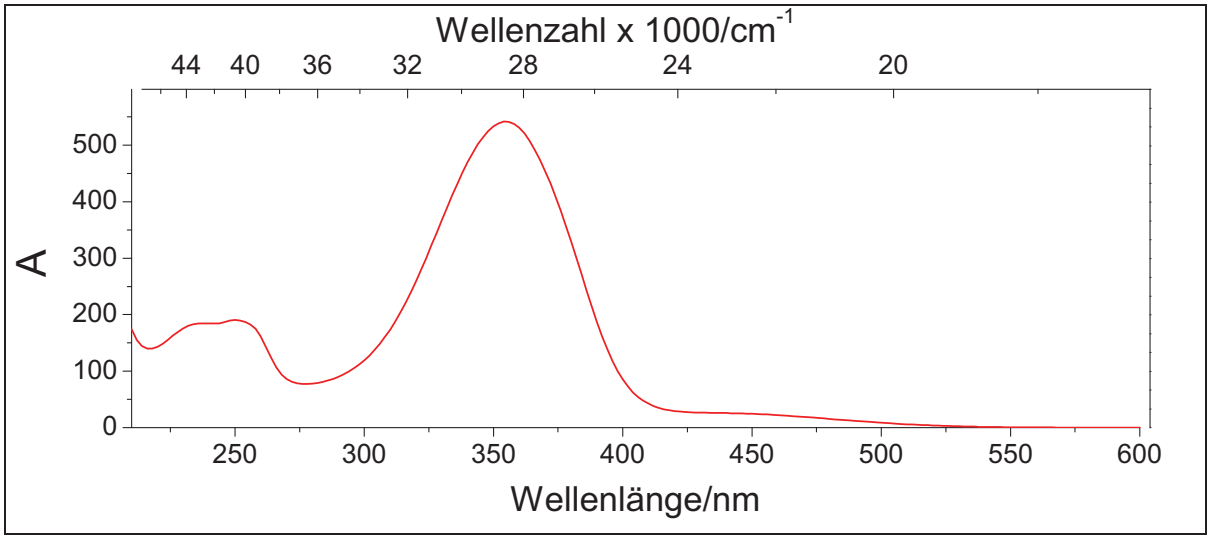
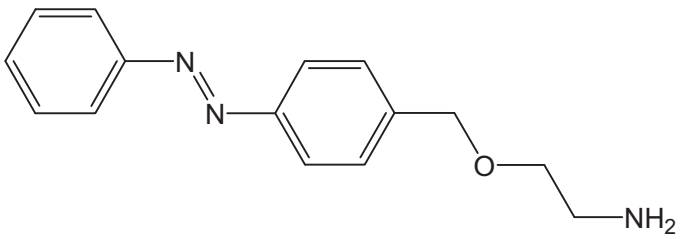


Abbildung 3.132: UV-Vis-Spektrum von **AB20** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; t_R **= 2.3 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 238, 250, 354 nm.

3.10.3.6 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB21



AB21

Abbildung 3.133: Struktur von **AB21.**

Das Laufverhalten des Azobenzols **AB21** auf der HPLC wurde zunächst bei einem Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) untersucht (**A**). Die Flussrate beträgt 2.4 ml/min. Es wurden 5 µl einer methanolischen Stammlösung unbekannter Konzentration aufgetragen.

Unter diesen Bedingungen war eine Retentionszeit von 2.1 min zu beobachten. Die Signalform ist jedoch nicht symmetrisch. Eine Reinheitsanalyse des Signals über einen Vergleich der registrierten UV-Vis-Spektren im Verlauf des Signals mit Hilfe der HPLC Software zeigt, dass es sich um einen sauberen Substanzpeak handelt. Um Fehler auszuschließen wurde eine 10 µl Probe der gleichen Stammlösung bei

einem Laufmittelverhältnis mit erhöhtem Wasseranteil, 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3), injiziert (**B**).

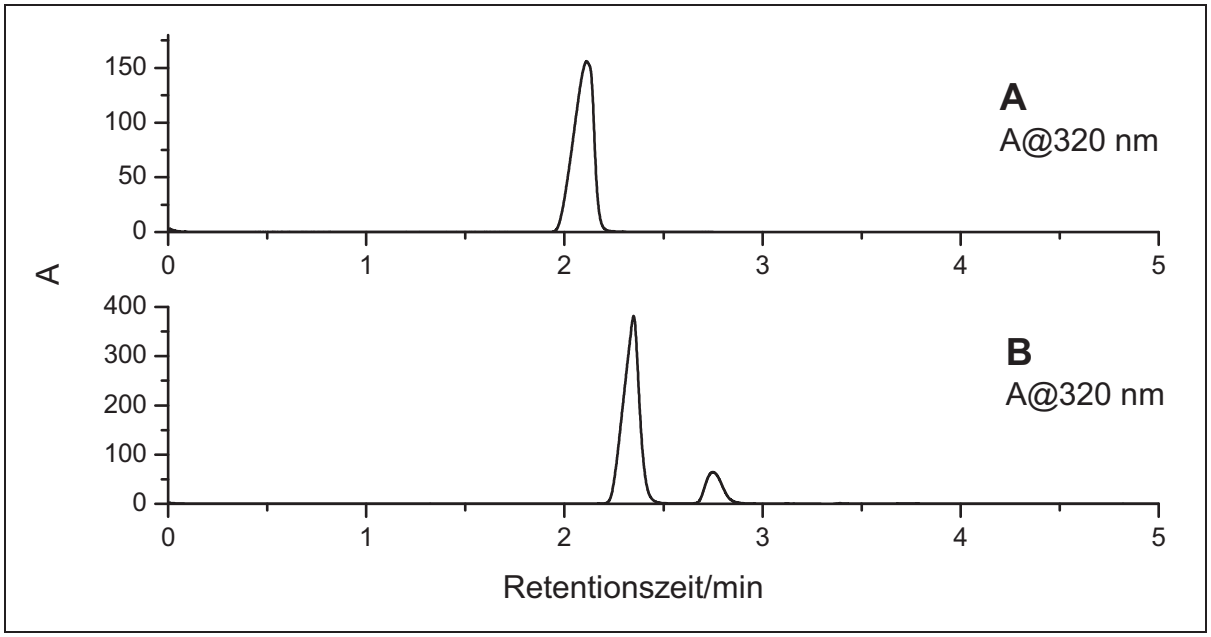


Abbildung 3.134: Laufspur von **AB21** in **A** 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) bzw. **B** 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; 320 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei diesem Lauf lassen sich nun zwei Signale mit identischem UV-Vis-Spektrum nach 2.3 min bzw. 2.8 min detektieren. Auch diese Signale sind nach einer HPLC-Softwareanalyse rein.

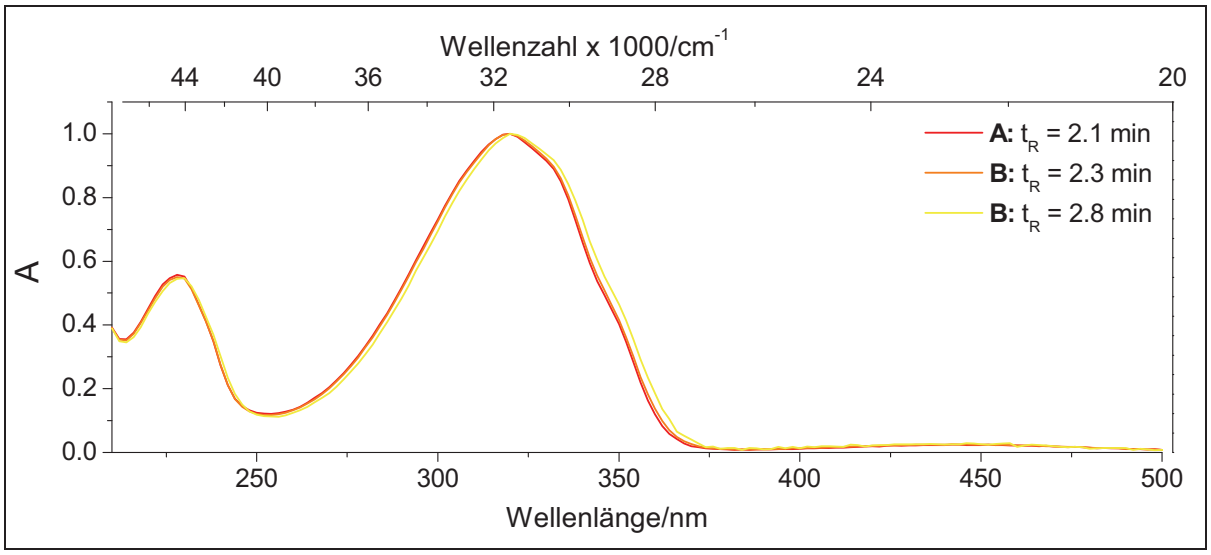
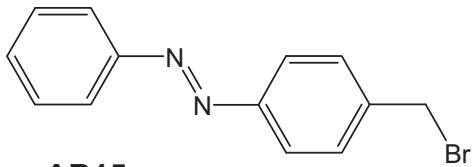


Abbildung 3.135: UV-Vis-Spektren von **AB21** in **A** 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) bzw. **B** 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).



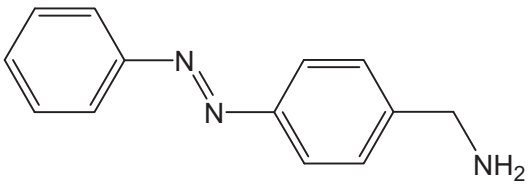
AB15

Abbildung 3.136: Struktur von **AB15.**

Das Azobenzol **AB21** weist ein ähnliches UV-Spektrum wie sein Edukt **AB15** auf. Da für diese Voruntersuchung eine Rohproduktfraktion verwendet wurde, handelt es sich im zweiten Lauf B vermutlich bei dem schwächeren Signal nach 2.8 min um nicht umgesetztes Edukt **AB15**.

3.10.3.7 HPLC-Voruntersuchung: Azobenzol AB11

Das Azobenzol **AB11** wird auf sein Laufverhalten in der HPLC untersucht, um später dieses in der Rohproduktmischung des Bichromophors **BC04** identifizieren zu können. Es wird ein Laufmittelverhältnis von 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3) gewählt. Als Säule wird eine YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm) verwendet. Die Flussrate beträgt 1.0 ml/min.



AB11

Abbildung 3.137: Struktur von **AB11.**

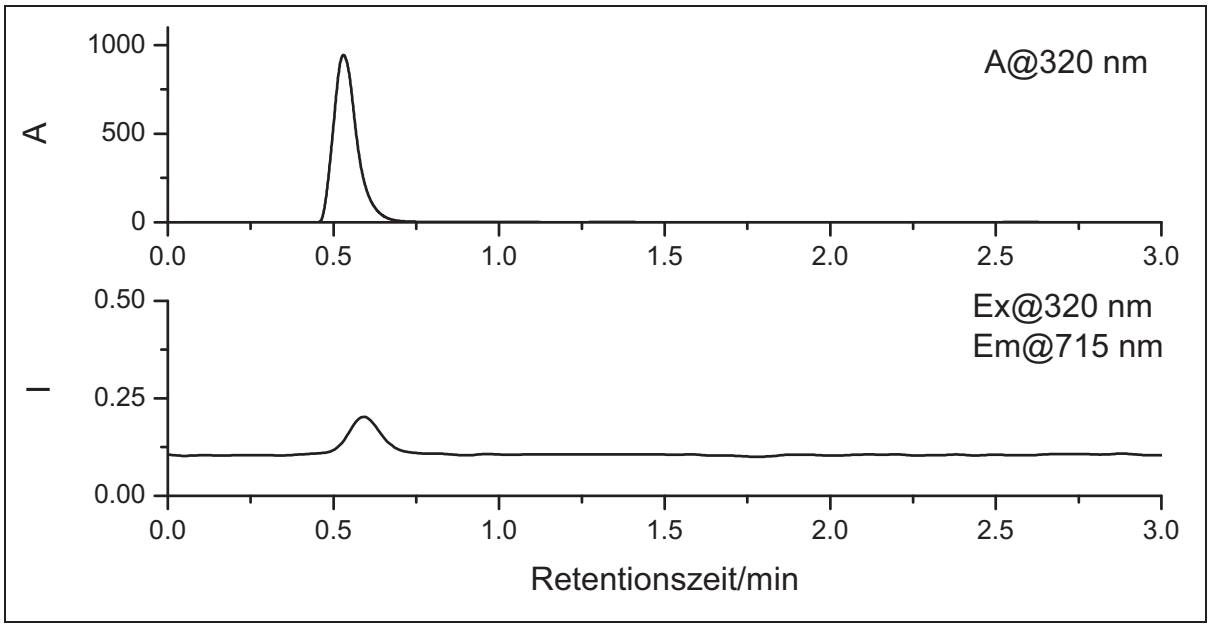


Abbildung 3.138: Laufspur von **AB11** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm).

Unter diesen Bedingungen weist das Azobenzol **AB11** eine Retentionszeit von 0.5 min auf. Es ergeben sich die folgenden Spektren.

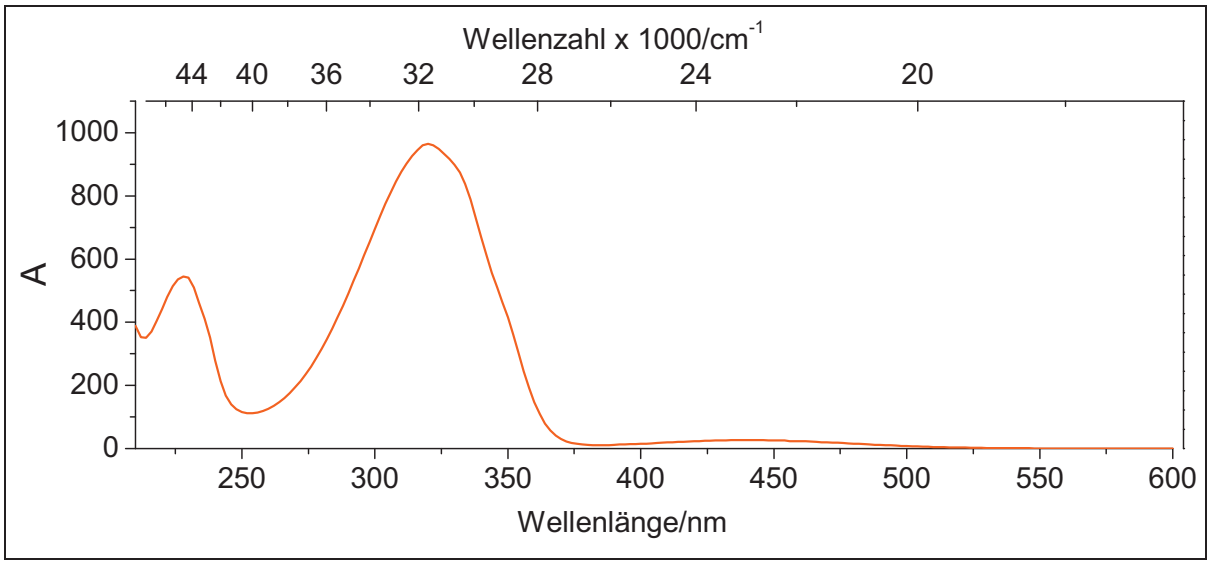


Abbildung 3.139: UV-Vis-Spektrum von **AB11** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0ml/min; t_R **= 0.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm); λ_{max} = 228, 320, 442 nm.

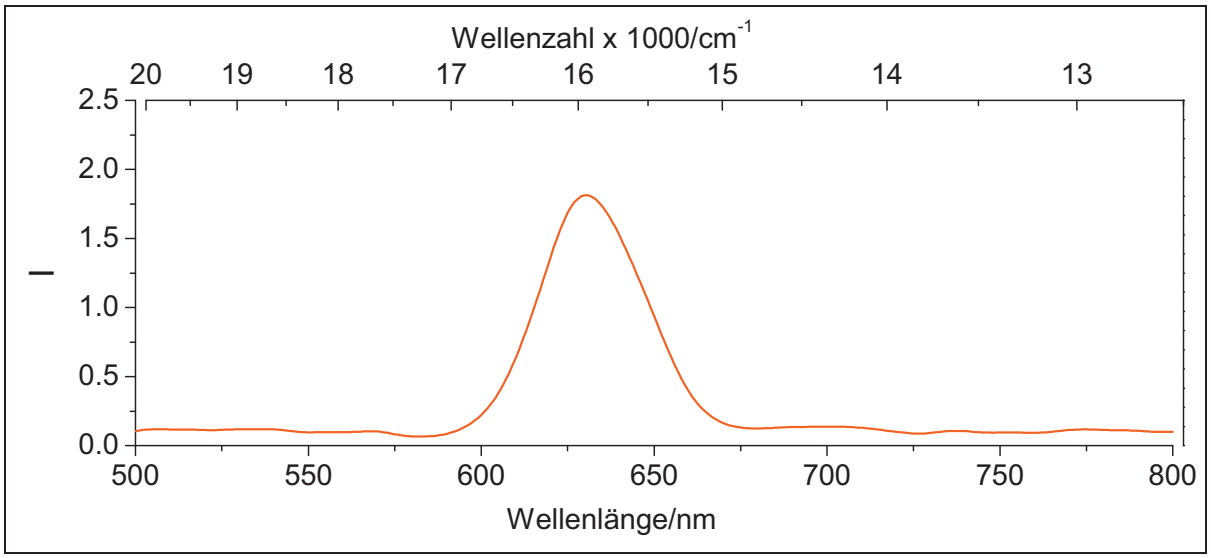


Abbildung 3.140: Fluoreszenzspektrum von **AB11** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 0.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (50 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@320 nm) = 630 nm.

3.10.3.8 HPLC-Voruntersuchung: Nitrosobenzol (141)

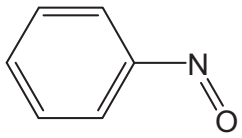


Abbildung 3.141: Struktur von Nitrosobenzol (**141**).

Das HPLC Verhalten von Nitrosobenzol (**141**) wird untersucht, um es später in der Roh produktmischung identifizieren zu können. Als Laufmittelmischung wurde 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH =3) gewählt.

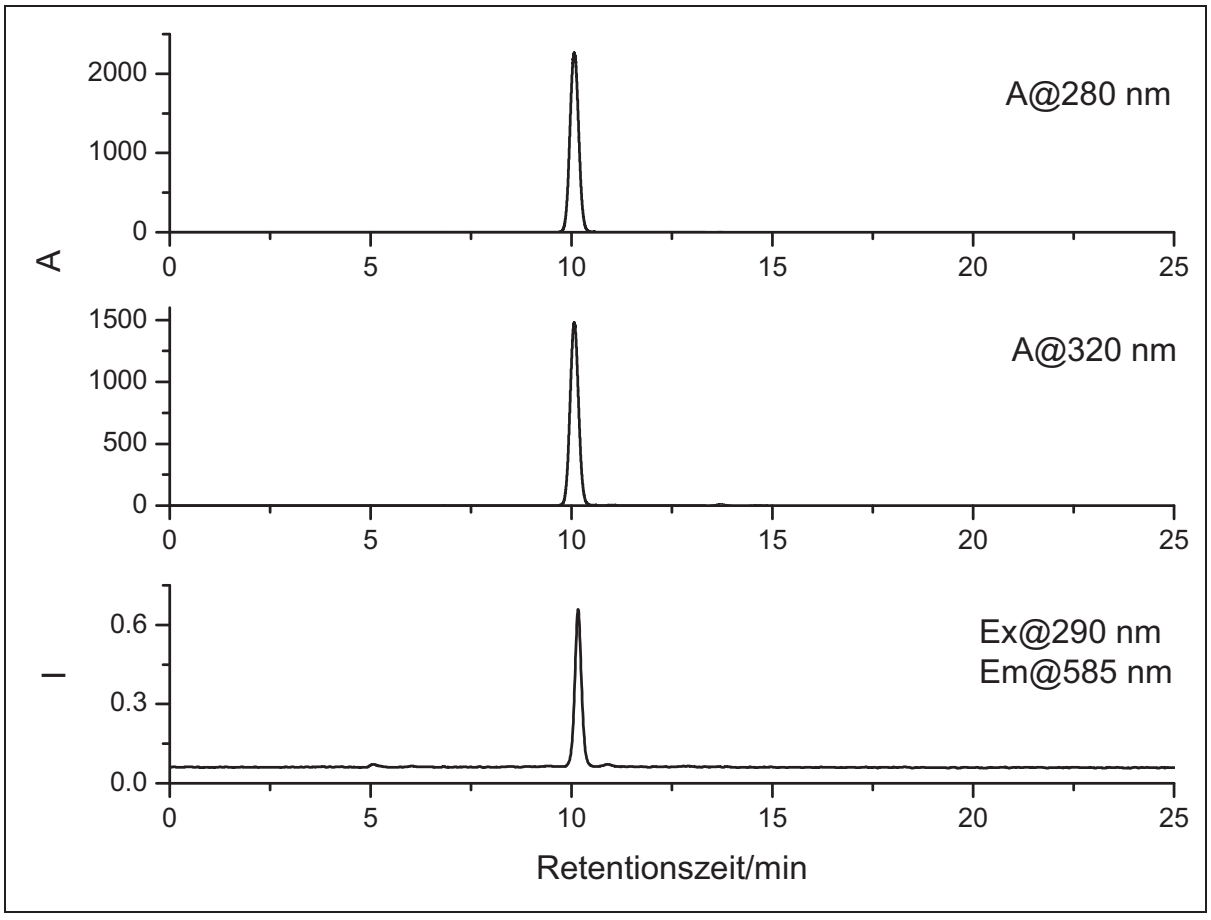


Abbildung 3.142: Laufspur von Nitrosobenzol (**141**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

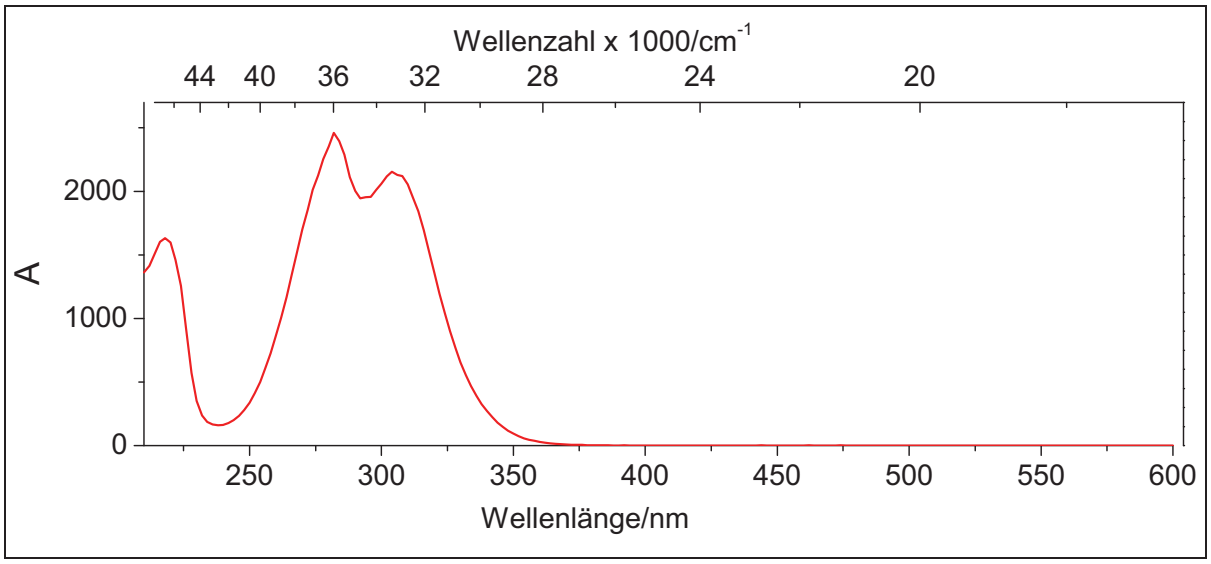


Abbildung 3.143: UV-Vis-Spektrum von Nitrosobenzol (**141**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 10.1 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm); λ_{max} = 218, 282, 304 nm.

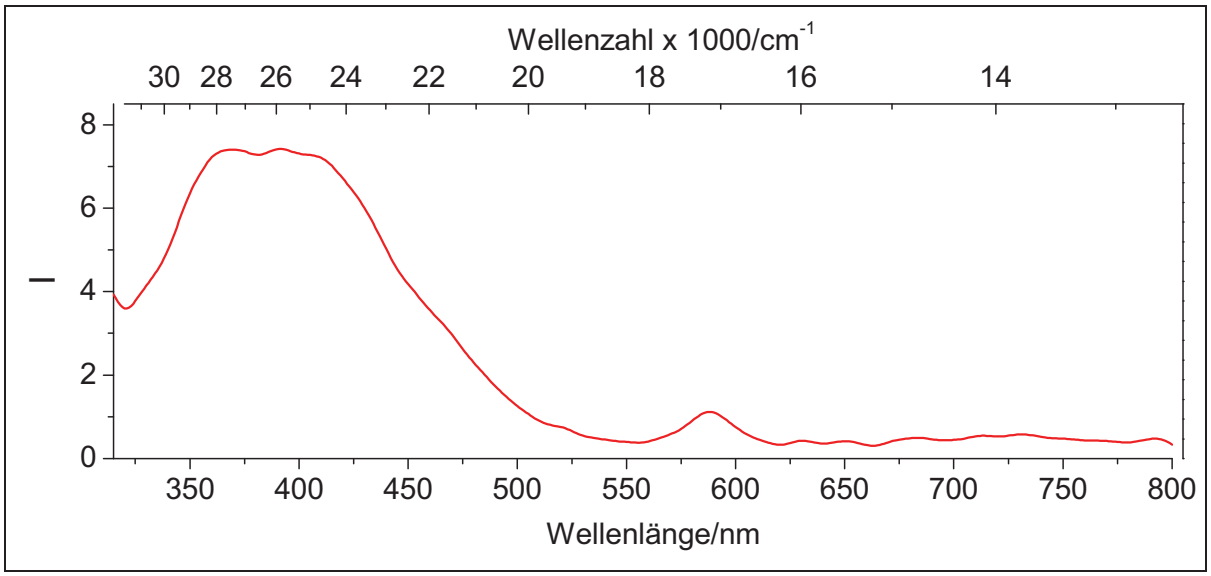


Abbildung 3.144: Fluoreszenzspektrum von Nitrosobenzol (**141**) in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 10.1 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@470 nm) = 370, 391, 588 nm.

3.10.4 Bichromophorsynthesen

In Kapitel 3.10.1 wurden die Aufbaustrategien für Bichromophore vorgestellt.

- **Modifikationsstrategie:** Ein Teil eines Fluorophormoleküls, in diesem Fall der einzelne Phenylring der Fluorescein- bzw. Rhodaminkomponenten, wird durch chemische Modifikationen in eine Quenchereinheit, hier ein Azobenzol, umgewandelt. Dies geschieht ohne den fluoreszierenden Xanthenchromophor strukturell zu ändern (siehe Kapitel 3.10.1.1).
- **Verknüpfungsstrategie:** Die kovalente Verknüpfung von Quencher und Fluorophor über einen Linker (siehe Kapitel 3.10.1.2).

Im folgenden Kapitel 3.10.4.1 wird die Synthese des Bichromophors **BC05** nach der Modifikationsstrategie behandelt werden Anschließend werden die Bichromophorsynthesen nach der Verknüpfungsstrategie besprochen. Zunächst werden die Bichromophore vom Fluoresceintyp vorgestellt (Kapitel 3.10.4.2), gefolgt von den Bichromophoren des Rhodamintyps (Kapitel 3.10.4.3).

3.10.4.1 Modifikationssynthesen der Bichromophore vom Fluoresceintyp

3.10.4.1.1 Bichromophor BC05

V118: Der Bichromophor **BC05** wird nach der Modifikationsstrategie hergestellt.

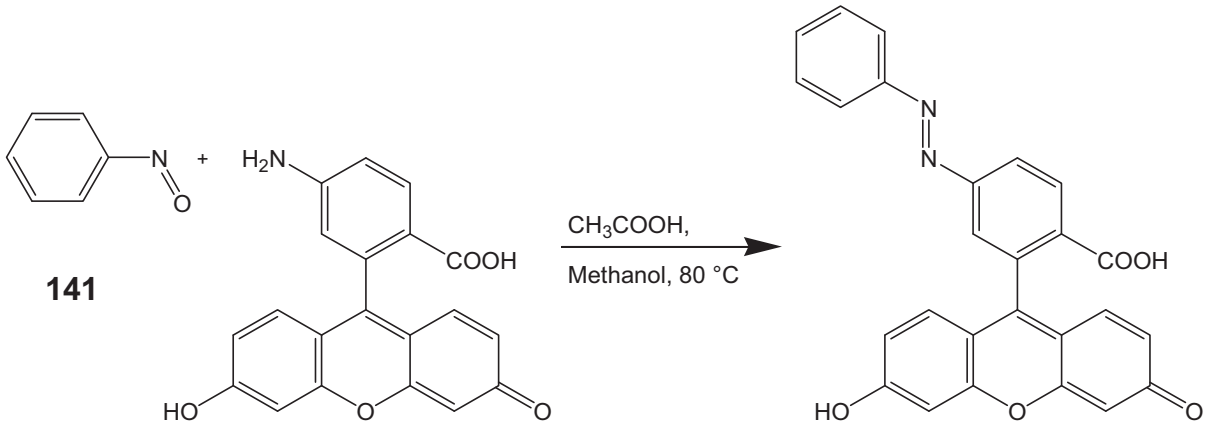


Abbildung 3.145: Syntheseschema des Bichromophors **BC05** nach der Modifikationsstrategie.

Hierzu werden 6-Aminofluorescein (**187**) und Nitrosobenzol (**141**) in eine Mischung aus Eisessig und Methanol gegeben. Da das Fluoresceinderivat **187** in Eisessig nur schwer löslich ist, erhält man eine Suspension. Diese wird auf 80 °C erhitzt und der sich bildende Bichromophor **BC05** geht dabei in Lösung. Man erhält eine tiefrote Lösung, deren Zusammensetzung mittels HPLC untersucht wird.

Reinigung: Für die Reinigung von **BC05** wird aufgrund der größeren Substanzmenge zunächst auf klassische Reinigungsverfahren zurückgegriffen.
Um Eisessig und Teile des 6-Aminofluoresceins (**187**) zu entfernen, wird die Rohproduktlösung des Bichromophors **BC05** auf eine Filtersäule mit Kieselgel 60 (0.04 - 0.063 mm, Fluka) aufgetragen. Da 6-Aminofluorescein (**187**) in Ethylacetat löslich ist, wird das Rohprodukt **BC05** mit viel Ethylacetat gewaschen und anschließend mit Methanol heruntergespült. Die eingeengte Methanolfraktion wird über YMC-ODS-AQ Kieselgel mit einer Laufmittelmischung aus 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA

(pH = 3) gesäult. Die Zusammensetzung der gesammelten Fraktionen wird mittels HPLC bestimmt.

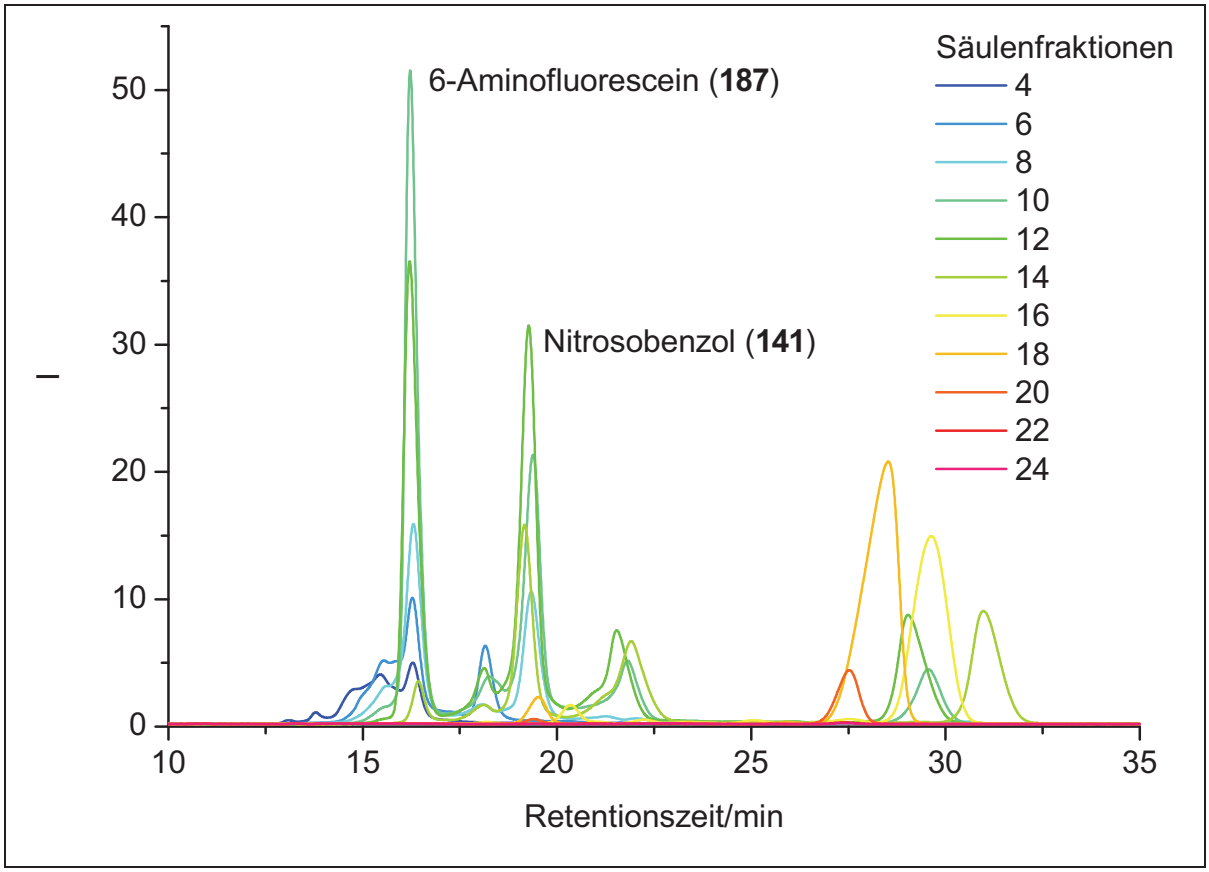


Abbildung 3.146: Fluoreszenzlaufspuren des gesäulten Rohproduktes **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 0.5 ml/min; Ex@360 nm, Em@550 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Betrachtet man diese Laufspuren der Fluoreszenzsignale so erkennt man, dass die gesammelten Fraktionen zunächst 6-Aminofluorescein (**187**) und Nitrosobenzol (**141**) enthalten. Durch die Flussgeschwindigkeit von 0.5 ml/min verdoppeln sich in etwa die Retentionszeiten im Vergleich zu den Voruntersuchungen. Ab etwa Fraktion 16 enthalten die Fraktionen fast keine Edukte mehr und bestehen fast ausschließlich aus neu gebildeten Komponenten. Die Schwankungen in den Retentionszeiten der Signale um 30 min sind auf ein unvollständiges Einspülen der verwendeten HPLC-Säule zurückzuführen.

Die erhaltenen Fraktionen 16-24 werden vereint und die unter vermindertem Druck aufkonzentriert.

Da es immer noch um eine größere Substanzmenge handelt, wird für die Methodenentwicklung und anschließende Reinigung an der HPLC eine präparative Säule verwendet; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

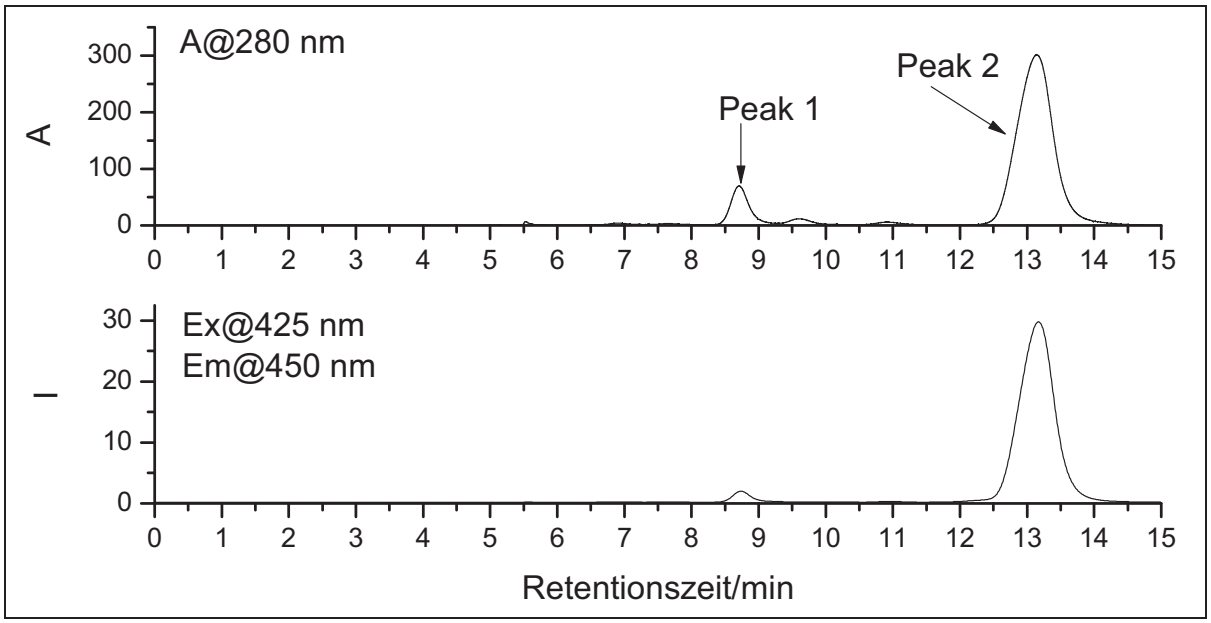


Abbildung 3.147: Laufspur vom Rohprodukt **BC05** nach der säulenchromatischen Reinigung; 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5 ml/min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

Reinigung: Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wurde mittels HPLC aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt. Die so erhaltene Lösung wird im Vakuum einer Membranpumpe aufkonzentriert.

Reinheitskontrolle: Die zwei gesammelten Fraktionen werden zur Reinheitskontrolle auf die HPLC gegeben (siehe Abbildung 3.148).

Beide gesammelten Fraktionen, Fraktion A bzw. Fraktion B, (von 8.0 bis 9.0 min bzw. 12.0 bis 14.0 min) geben auf der HPLC zwei Signale mit Retentionszeiten von 8.3/8.6 min bzw. 12.6 min.

Die Schwankungen der Retentionszeiten sind auf die Verwendung einer neu angesetzten Wasser/TFA-Mischung zurück zuführen. Da die Säule zu diesem Zeitpunkt noch nicht lang genug mit diesem Laufmittel eingespült wurde, ist die Signalform nicht spiegelsymmetrisch. Diese Signale sind laut UV-Analyse der HPLC-Software substanzrein.

Da zwei zu unterschiedlichen Laufzeiten gesammelte Fraktionen bei einer erneuten HPLC-Analyse zwei identische Substanzsignale aufweisen, handelt es sich um zwei ineinander überführbare Formen einer Verbindung. Vermutlich liegen hier die *cis/trans*-Isomere des Bichromophors **BC05** vor, sowie es bereits bei anderen Synthesen beobachtet werden konnte (siehe z. B. Kapitel 3.10.4.2.1).

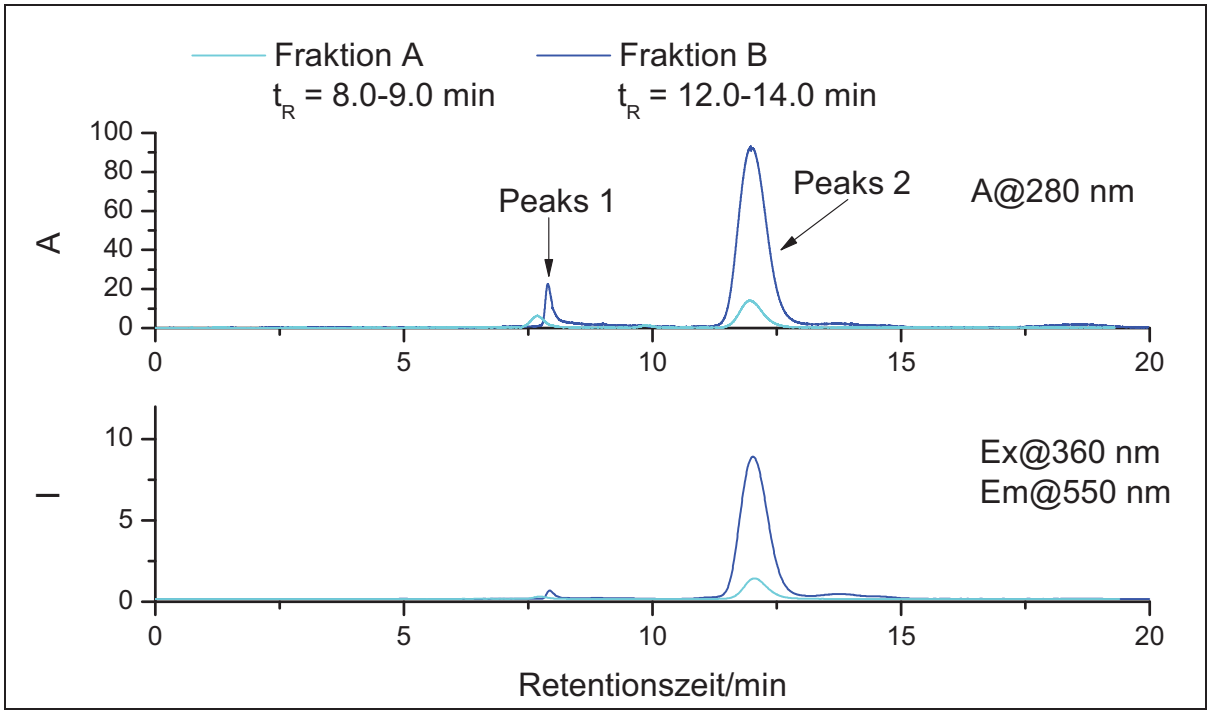


Abbildung 3.148: Laufspuren von **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5 ml/min; ——Fraktion A gesammelt von 8.0 bis 9.0 min, ——Fraktion B gesammelt von 12.0 bis 14.0 min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

Auch die UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektren belegen, dass die Fraktionen A und B die gleiche Zusammensetzung haben.

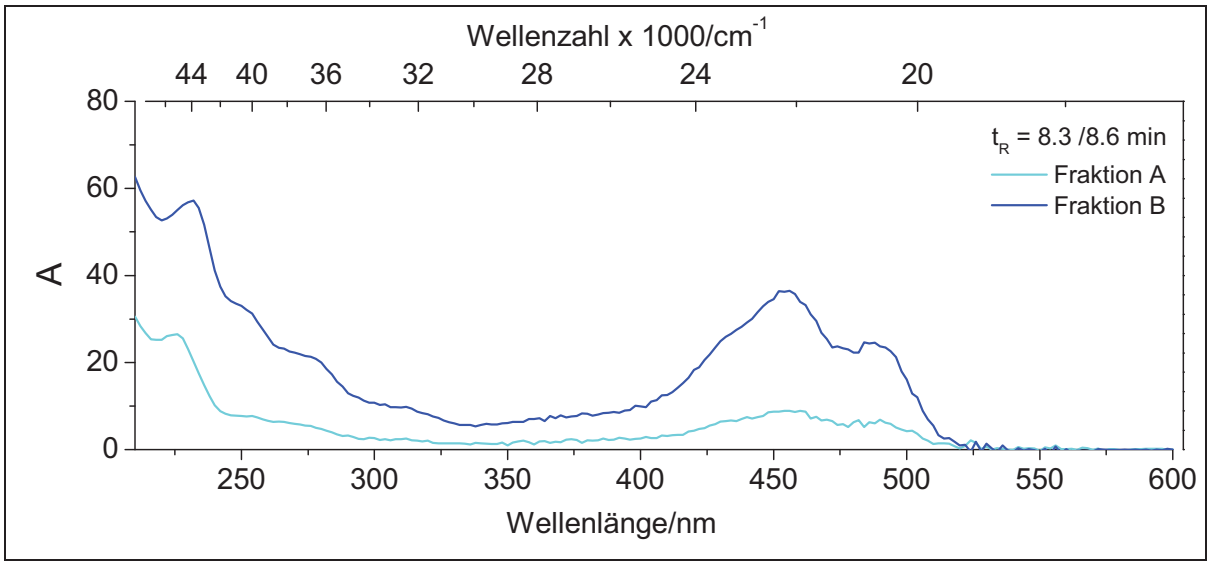


Abbildung 3.149: UV-Vis-Spektren von **BC05** aus Fraktion A bzw. Fraktion B in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; t_R = 8.3 /8.6 min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm), λ_{max}(Fraktion A) = 226, 456, 482 nm bzw. λ_{max}(Fraktion B) = 232, 456, 484 nm.

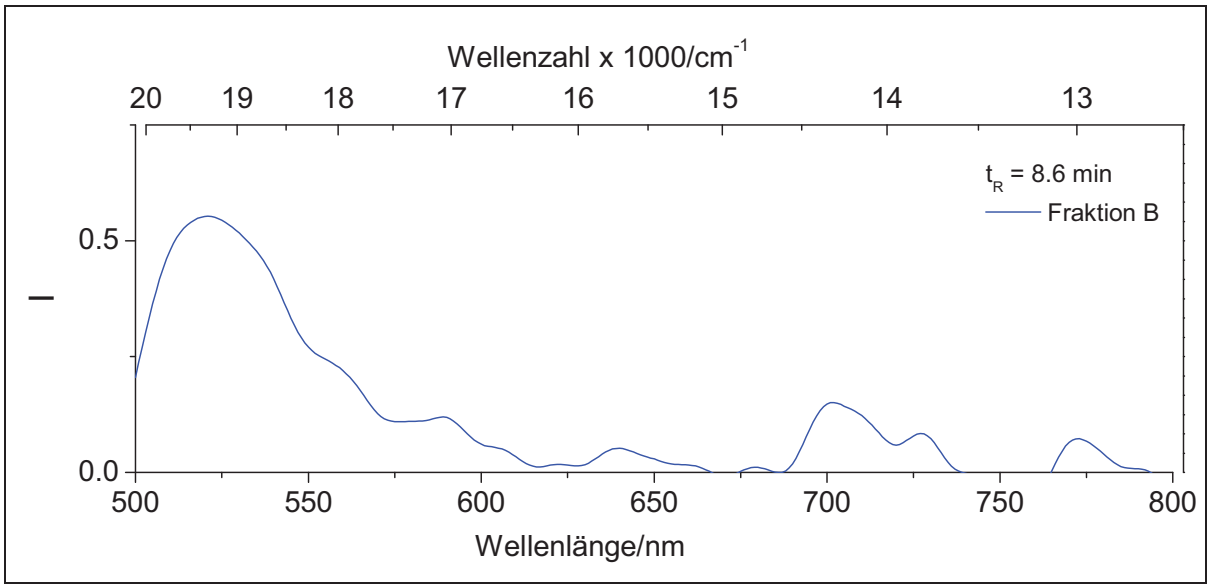


Abbildung 3.150: Fluoreszenzspektrum von **BC05** Fraktion B in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; t_R = 8.6 min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 521 nm.

Die Auflösung des Fluoreszenzsignals nach 8.3 min von Fraktion A ist für eine spektrometrische Auswertung zu gering.

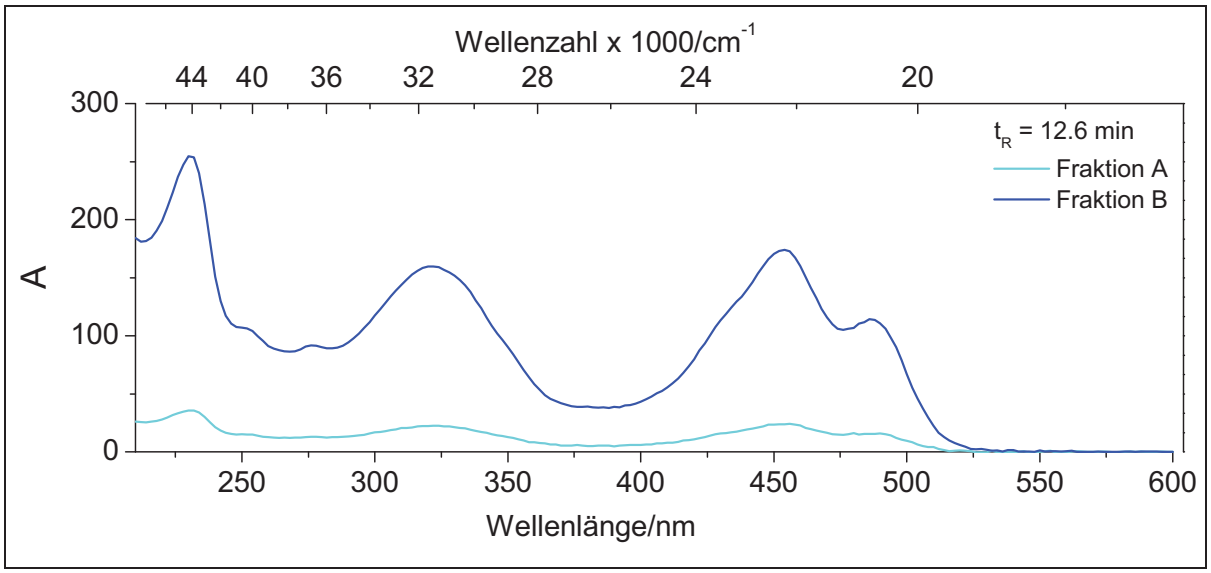


Abbildung 3.151: UV-Vis-Spektrum von **BC05** aus Fraktion A bzw. Fraktion B in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; t_R = 12.6 min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm); λ_{max}(Fraktion A) = 230, 322, 456, 490 nm, λ_{max}(Fraktion B) = 230, 320, 454, 486 nm.

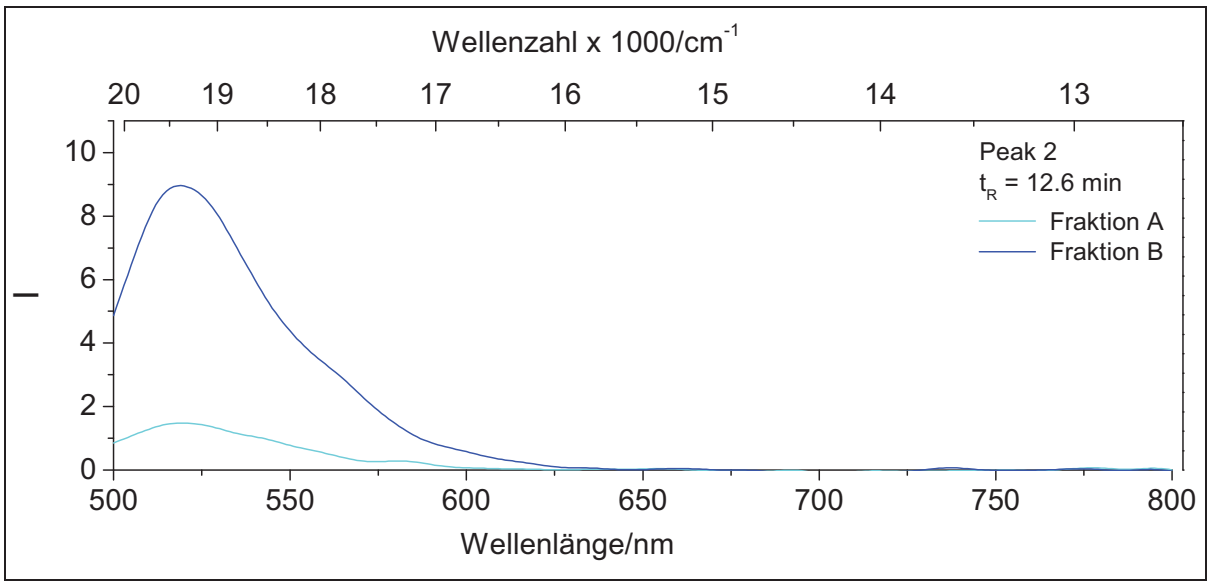


Abbildung 3.152: Fluoreszenzspektrum von **BC05** aus Fraktion A und Fraktion B in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; t_R = 12.6 min; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 519 nm.

Das Verhältnis der Substanzsignale lässt darauf schließen, dass es sich bei dem Signal nach 8.3/8.6 min um das *cis*-Isomer bzw. nach 12.6 min um das *trans*-Isomer des Bichromophors **BC05** handelt.

Auch die starke Absorptionsbande bei 320 nm in dem Signal nach 12.6 min, welche auf den ππ*-Übergang zurück zu führen ist, zeigt, dass es sich um das *trans*-Isomer handelt. Im nicht planaren *cis*-Isomer hingegen kommt es zu einer Wechselwirkung von π- und n-Orbitalen. Dies führt zu einer Schwächung dieses ππ*-Übergangs und erhöht die Intensität der nπ*-Bande[22, 136].

3.10.4.2 Verknüpfungssynthesen der Bichromophore vom Fluoresceintyp

3.10.4.2.1 Bichromophor BC01

V119: Der Bichromophor **BC01** wird nach der Verknüpfungsstrategie hergestellt (siehe Kapitel 3.10.2.1). Dazu werden der DY495-X5-NHS-Ester **143** und das Azobenzol **AB18** in aminfreiem DMF gelöst und mit abs. Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wird eine Woche bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält eine orangefarbene Rohproduktlösung.

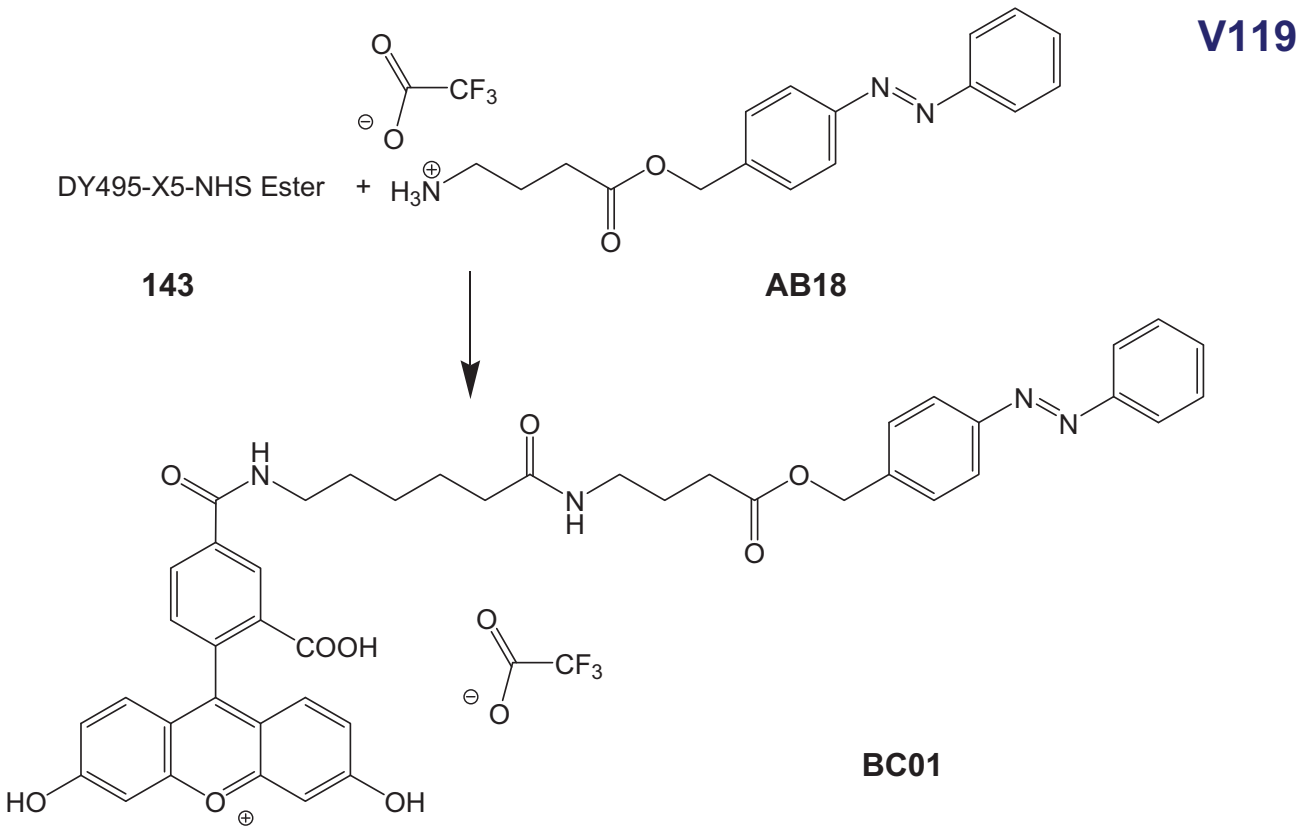


Abbildung 3.153: Syntheseschema zur Darstellung des Bichromophors **BC01** nach der Verknüpfungsstrategie.

Methodenentwicklung: Es wurden mehrere HPLC-Läufe des Rohproduktes **BC01** mit Methanol und mit Trifluoressigsäure auf pH = 3 angesäuertes Wasser als Lauf-

mittel in verschiedenen Verhältnissen durchgeführt. Zunächst wurde das Laufverhalten bei einem Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser /Trifluoressigsäure (pH = 3) untersucht (Abbildung 3.154).

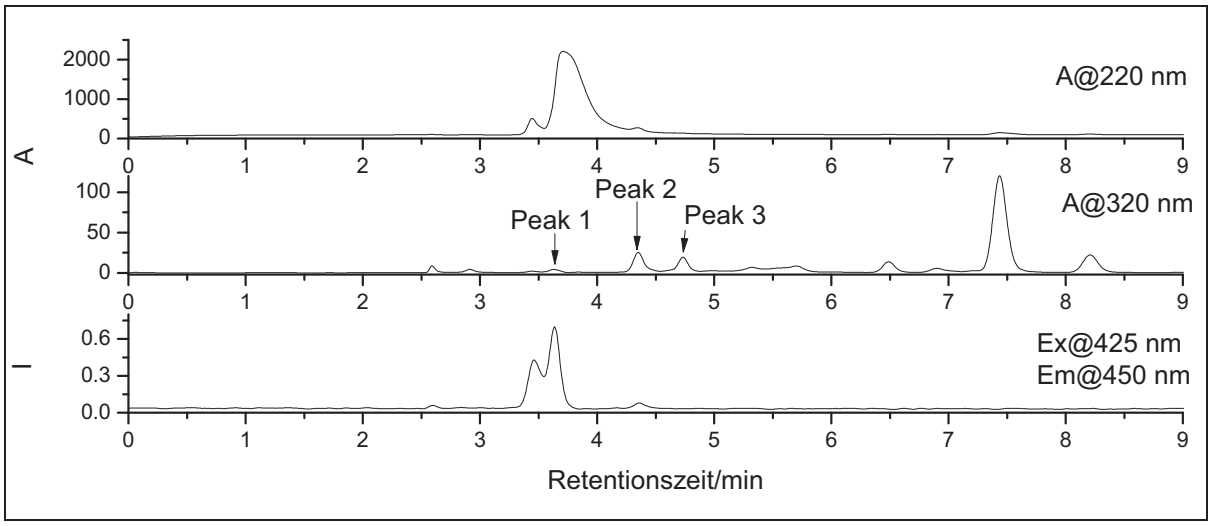


Abbildung 3.154: Laufspur vom Rohprodukt **BC01** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Ein Studie der normierten UV-Vis-Spektren der Signale (Abbildung 3.155) und ein Vergleich mit den zuvor durchgeführten Vergleichsproben (Kapitel 3.10.3) der Edukte ermöglicht die Zuordnung.

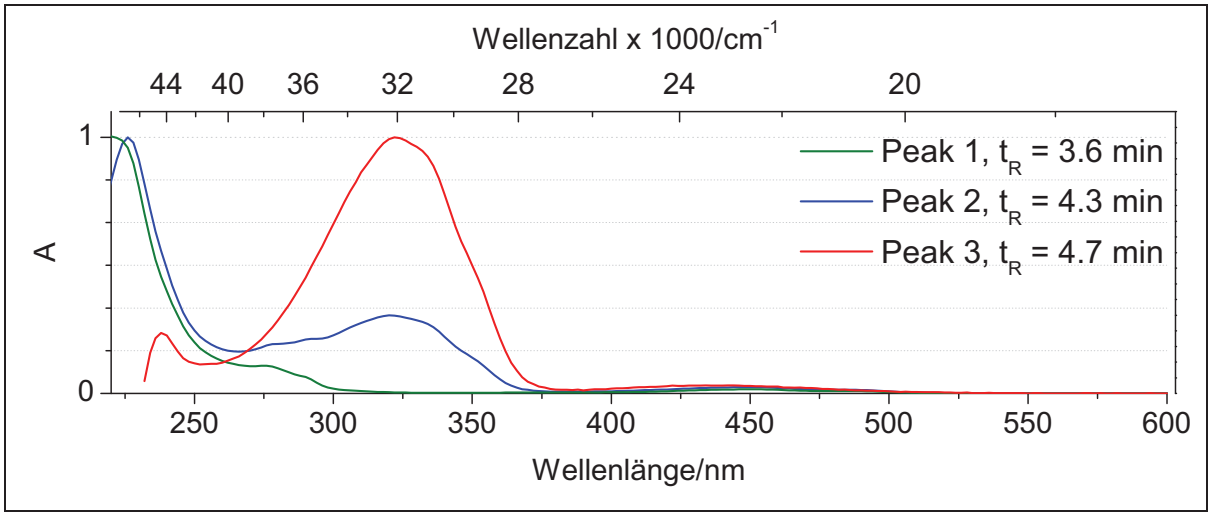


Abbildung 3.155: UV-Vis-Spektren bei verschiedenen Retentionszeiten in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei einem Laufmittelverhältnis von 95:5 hat der Bichromophor **BC01** eine Retentionszeit von 4.3 min. Da in der Rohproduktmischung im Verhältnis zum Fluorescein-

baustein **184** (t_R = 3.5 bzw. 3.7 min) nur wenig Bichromophor **BC01** vorliegt, muss eine größere Probenmenge auf die Säule gegeben werden, um das Produkt detektieren zu können. Dies resultiert in einer Verbreiterung der Eduktfraktion, welche dann mit der Produktfraktion überlappt (siehe Abbildung 3.154, Spur@220 nm). Nach 4.7 min folgt kurz darauf eine Azobenzolfraktion (siehe Abbildung 3.154, Spur@320 nm). Auch eine geringere Flussrate führte nicht zu einer besseren Signalauflösung.
Daher wurde der Wasser/TFA-Anteil im Laufmittel auf 10 % erhöht und das Rohprodukt **BC01** erneut auf die HPLC gegeben (Abbildung 3.156).

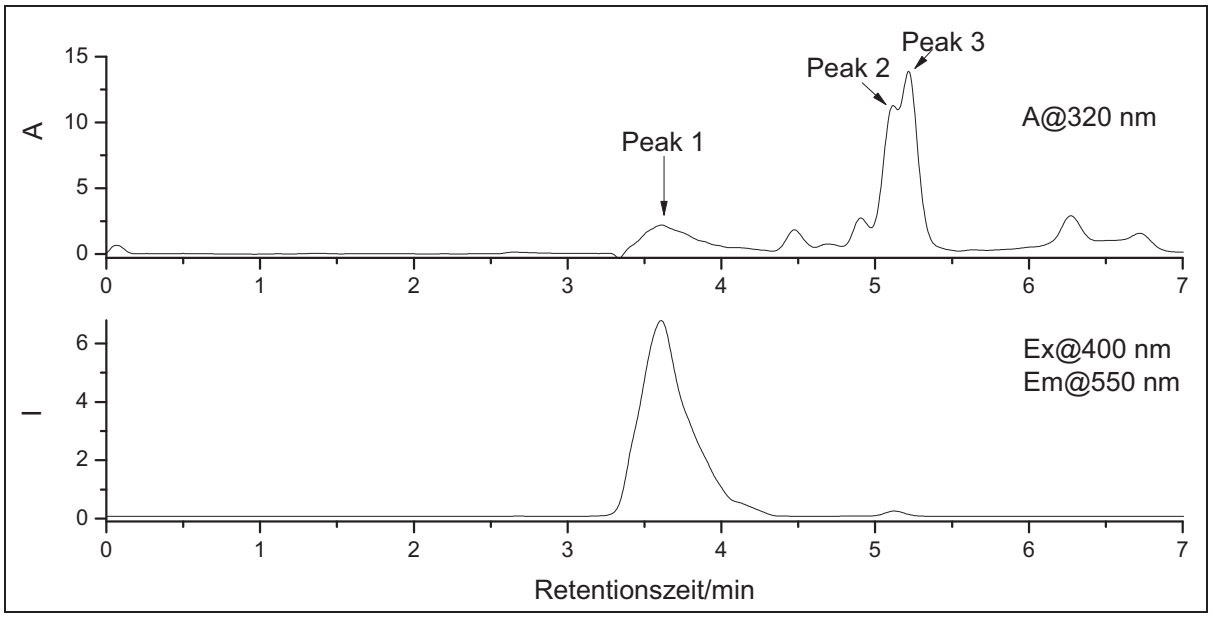


Abbildung 3.156: Laufspur vom Rohprodukt **BC01** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Ein Studie der normierten UV-Vis-Spektren der Signale (Abbildung 3.157) und ein Vergleich mit den zuvor durchgeführten Vergleichsproben der Edukte (Kapitel 3.10.3) ermöglicht die Zuordnung.

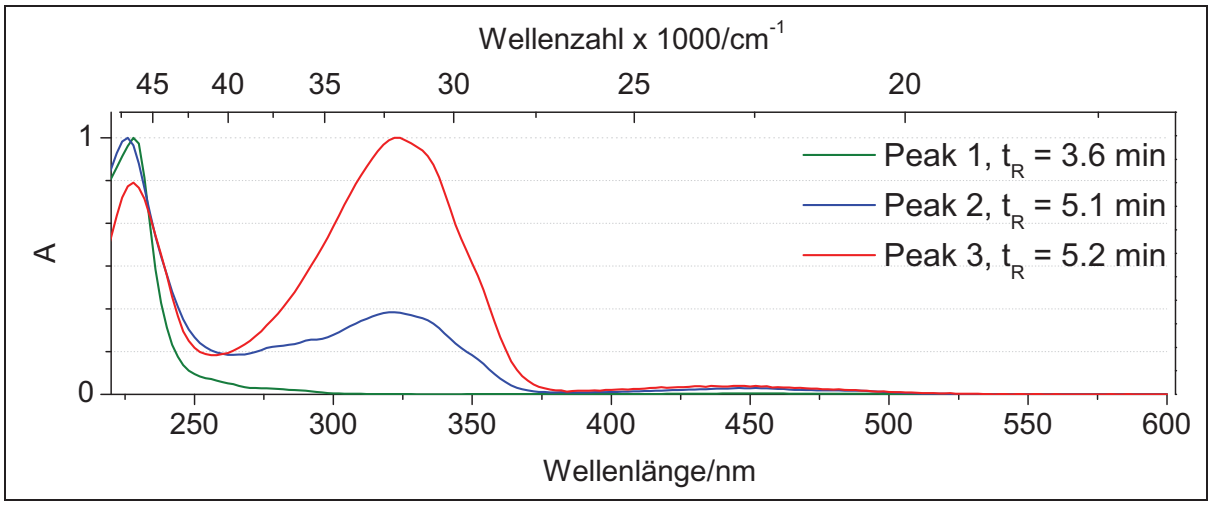


Abbildung 3.157: UV-Vis-Spektren bei verschiedenen Retentionszeiten in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei einem Laufmittelverhältnis von 90:10 hat das Produkt **BC01** eine Retentionszeit von 5.1 min (siehe Abbildung 3.156). Fast gleichzeitig, nach 5.2 min, wird eine Azobenzolfraktion von der Säule gespült. Auch hier konnte keine Verbesserung durch eine Änderung der Flussrate erzielt werden.

Daher wird der Wasseranteil abermals erhöht auf ein Laufmittelverhältnis von 80 % Methanol und 20 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) (siehe Abbildung 3.158).

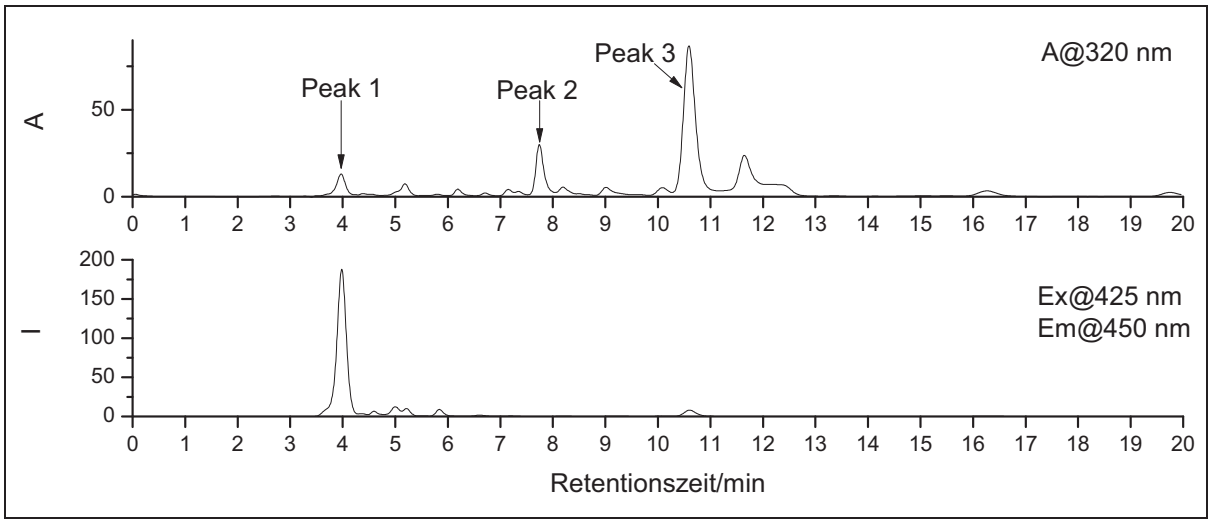


Abbildung 3.158: Laufspur vom Rohprodukt **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Auch hier ermöglichen die normierten UV-Vis-Spektren der Signale (siehe Abbildung 3.159) die Substanzzuordnung.

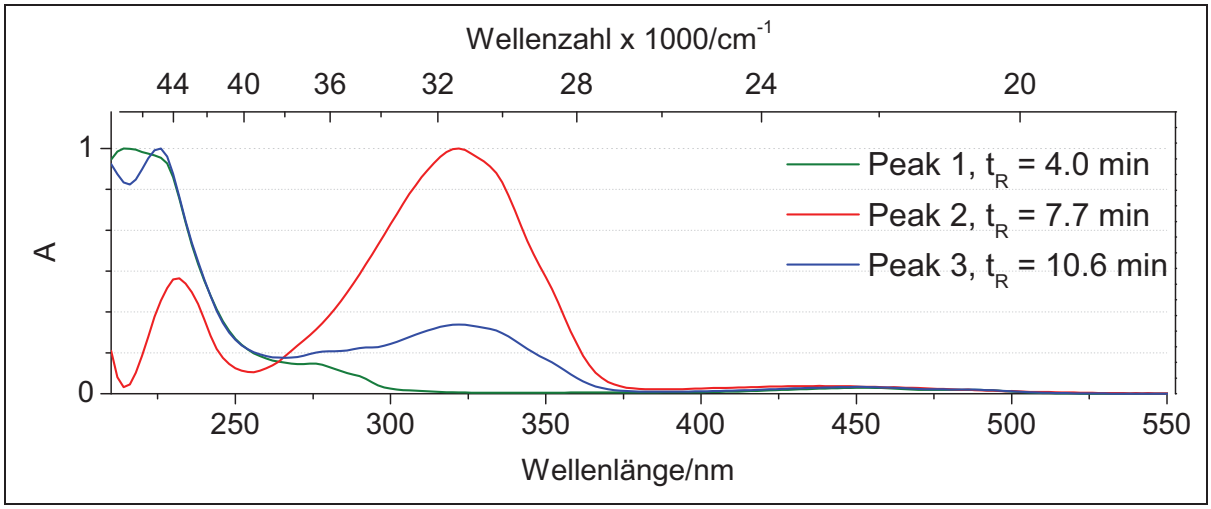


Abbildung 3.159: UV-Vis-Spektren bei verschiedenen Retentionszeiten in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei einem Laufmittelverhältnis von 80:20 hat der Bichromophor **BC01** eine Retentionszeit von 10.6 min (siehe Abbildung 3.158). Die Fluorescein-Eduktkomponenten kommen zwischen 3.5–6.0 min. Azobenzolfraktionen haben Retentionszeiten von 6.0–9.5 min und 11.6 min. Unter diesen Messbedingungen ist die Auflösung der einzelnen Signale ausreichend für eine Trennung.

Ein Vergleich der normierten UV-Vis-Spektren des Bichromophors **BC01** in den verschiedenen Laufmittelmischungen zeigt, dass sich die Struktur nicht ändert (siehe Abbildung 3.160).

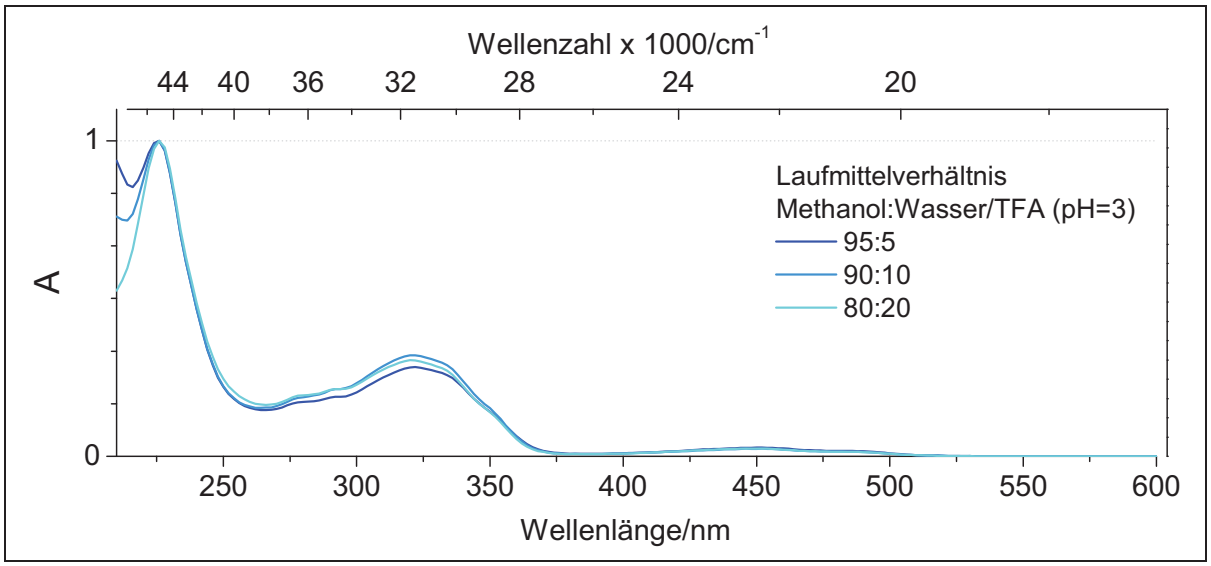


Abbildung 3.160: UV-Vis-Spektren bei verschiedenen Laufmittelverhältnissen; Flussrate 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Reinigung von BC01: Das Rohprodukt **BC01** wird über eine Filtersäule mit YMC-ODS-AQ Kieselgel filtriert, um die Menge der Verunreinigungen im Vorfeld der HPLC-Reinigung zu reduzieren. Als Laufmittel wurde 95 % Methanol und 5 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) gewählt, da hier **BC01** die kürzeste Rententionszeit aufwies. Es wird so lange Laufmittel nachgegossen bis alle fluoreszierenden Fraktionen herunter gewaschen sind.

Das Lösungsmittel der gesammelten Fraktionen wird unter vermindertem Druck auf etwa 1.5 ml eingeengt.

Diese vorgereinigte Rohproduktfraktion wird anschließend mittels HPLC unten den oben genannten Bedingungen aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt.

Die so erhaltene Lösung wird im Vakuum einer Membranpumpe aufkonzentriert.

Reinheitskontrolle: Um die Reinheit des Bichromophors **BC01** zu überprüfen, wird die aufgereinigte Lösung abermals auf die HPLC aufgetragen.

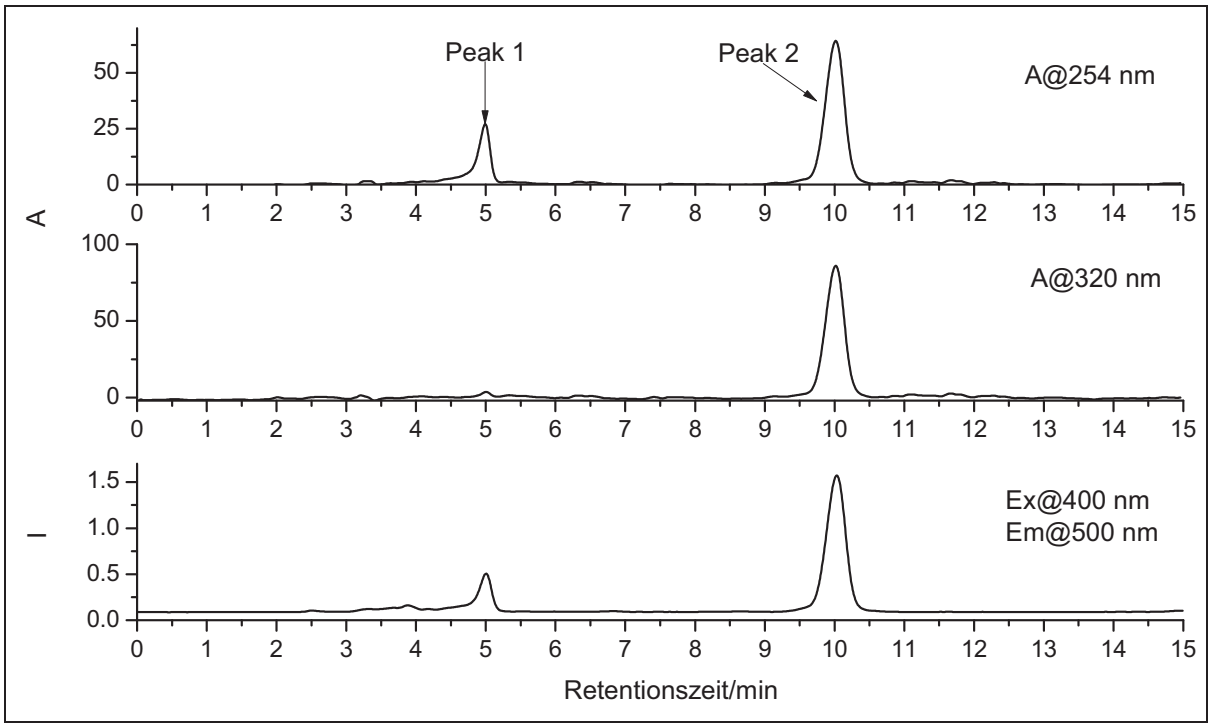


Abbildung 3.161: Laufspur von **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Es werden zwei Fraktionen mit Retentionszeiten von 5.0 bzw.10.0 min detektiert. Die Fraktionen weisen die folgenden UV-Vis- und Fluoreszenzspektren auf:

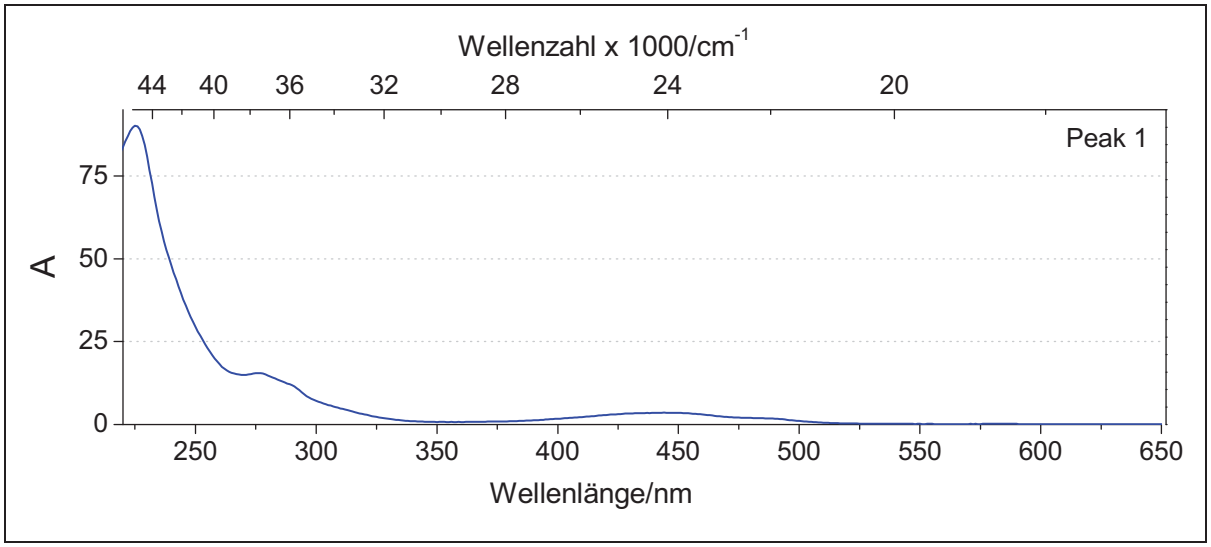


Abbildung 3.162: UV-Vis-Spektrum in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 225, 276, 444 nm.

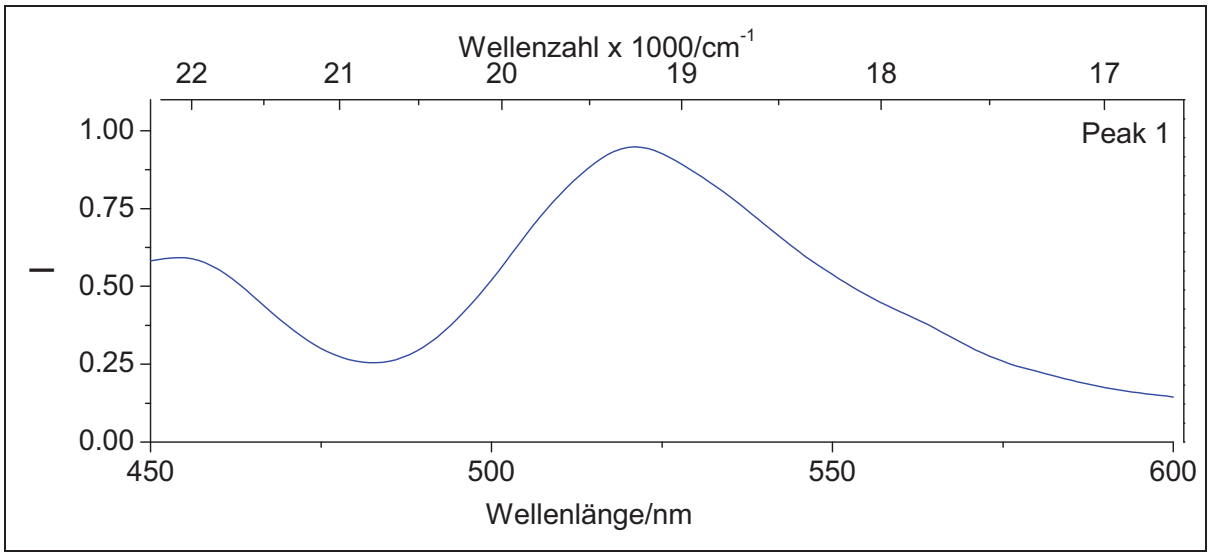


Abbildung 3.163: Fluoreszenzspektrum in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@400 nm) = 521 nm.

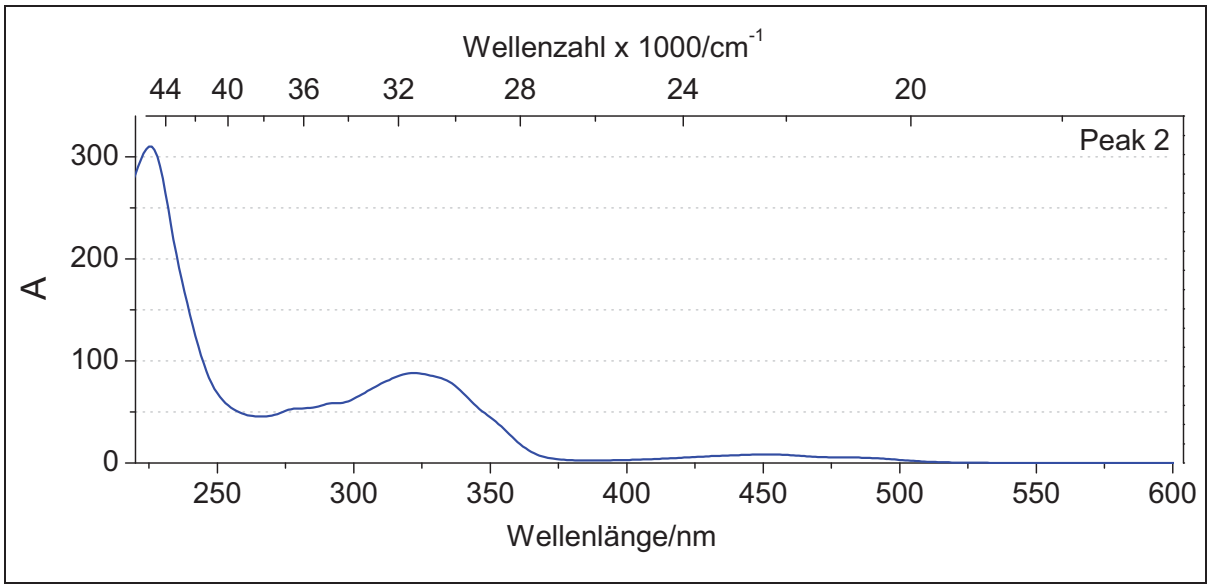


Abbildung 3.164: UV-Vis-Spektrum in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 10.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 225, 322, 451 nm.

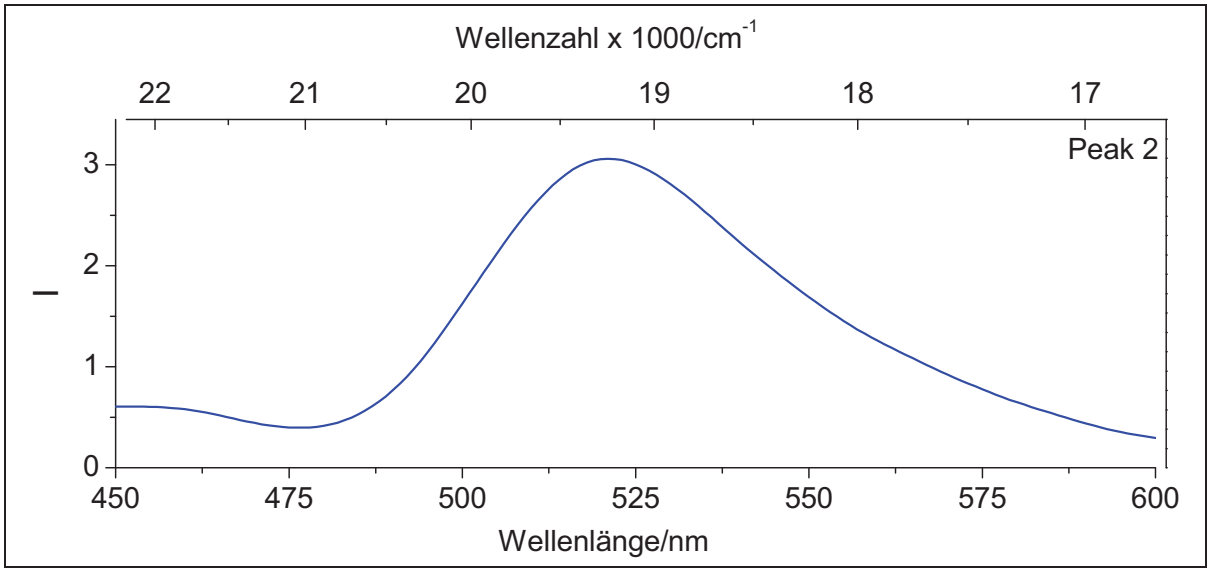


Abbildung 3.165: Fluoreszenzspektrum in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 10.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@400 nm) = 521 nm.

Die zwei Fraktionen aus der HPLC-Reinigung des Rohprodukts **BC01** wiesen unterschiedliche UV-Vis-Spektren auf (siehe blaue und rote Kurve in Abbildung 3.159). Die zweite erhaltene Fraktion mit einer Retentionszeit von 10.0 min enthält den erwarteten Bichromophor **BC01**. Um welche Substanz es sich bei der ersten Fraktion (t_R = 4.0 min) handelt ist nicht klar ersichtlich. Es könnte sich um fluoreszierende Abbauprodukte wie den Fluoresceinbaustein **184** handeln oder um einen Stereoisomer des Bichromophors **BC01**.

Vergleicht man die UV-Vis-Spektren der zwei Fraktionen mit dem UV-Vis-Spektrum des Fluoresceinsignals aus der Rohproduktprobe normiert auf die Absorptionsmaxima im kurzwelligen Bereich, so erhält man folgenden Graphen:

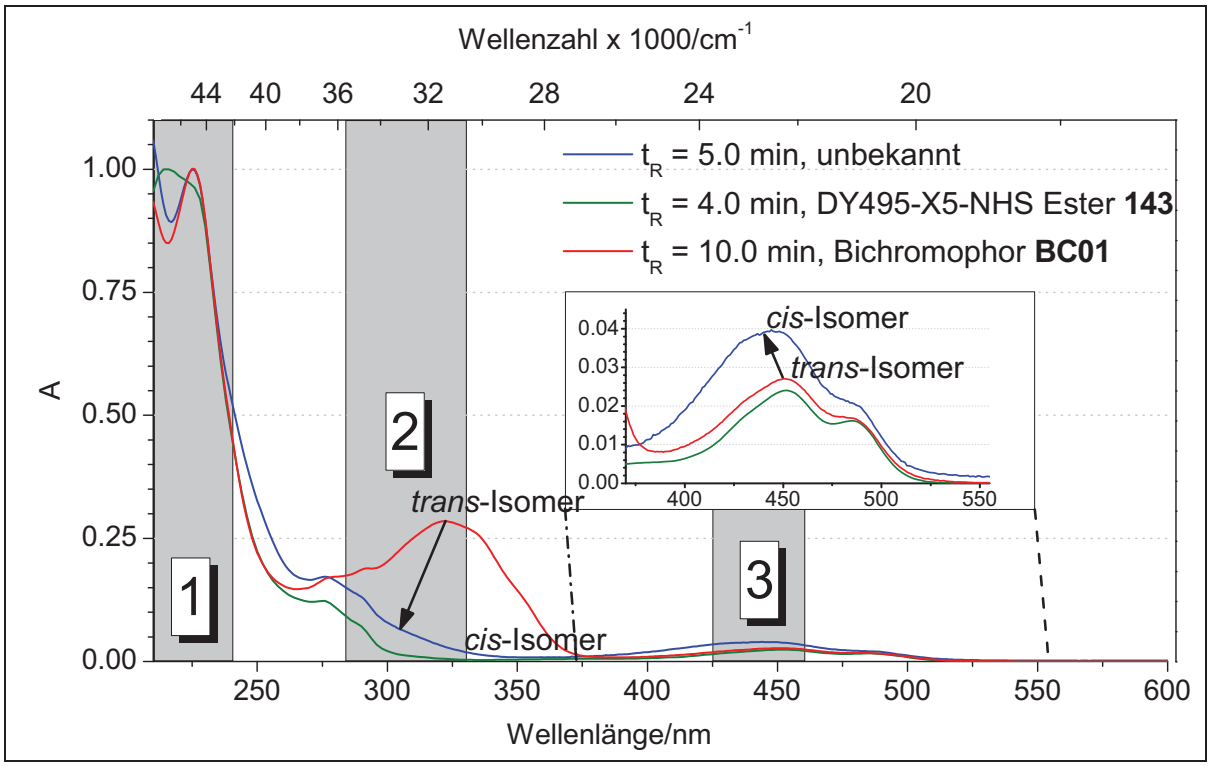


Abbildung 3.166: UV-Vis-Spektrum in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; von verschiedenen Fraktionen; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Die Spektren lassen sich in drei Bereiche unterteilen:

1. ~230 nm Φ→Φ* Absorption aromatischen Ringe
2. ~310 nm π→π* Absorption der Azobindung
3. ~440 nm n→π* Absorption.[136]

Man erkennt signifikante Unterschiede der Spektren in allen 3 Bereichen. Im Beriech 1 der im Aromaten lokalisierten π→π* Absorption gleicht das Spektrum der unbekannten Substanz dem Spektrum des identifizierten Bichromophors.

Im Bereich 2 der π→π* Absorptionsbanden erkennt man im Spektrum der unbekannten Substanz keine vergleichbar starke Bande wie beim identifizierten Bichromophor **BC01**. Dennoch ist hier eine stärkere Absorption zuerkennen als bei DY495-X5-NHS Ester **143**.

Im Bereich 3 der n→π* Absorption ähneln sich die Absorptionsbanden des Bichromophors **BC01** und des DY495-X5-NHS Esters **143**. Hier weist das Spektrum der unbekannten Substanz eine intensivere Bande mit einem hypsochromen Shift von 7 bzw. 8 nm auf.

Vergleicht man das Absorptionsverhalten der *cis*- und *trans*-Isomere von Azobenzolen, so erkennt man Parallelen zu den Spektren des Bichromophors **BC01** (rote

Kurve) und der unbekannten Substanz (blaue Kurve). Beim unsubstituierten Azobenzol weist das *cis*-Isomer eine n→π*-Bande bei 430 nm (ε~1500 l/(mol·cm)) auf; das *trans*-Isomer absorbiert leicht bathochrom und deutlich schwächer bei 450 nm (ε~240 l/(mol·cm)). Vergleicht man die π→π* Absorptionsbanden der beiden Isomere so absorbiert das *trans*-Isomer bathochromer (λ = 330 nm) aber deutlich stärker (ε~17000 l/(mol·cm)) als das *cis*-Isomer (λ = 280 nm, ε~5100 l/(mol·cm), Absorptionsschulter).

Alle diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass es sich bei der Substanz mit einer Retentionszeit von 4.0 min, um das *cis*-Azobenzolisomer des Bichromophors **BC01** handelt. Das Signal mit einer Retentionszeit von 10.0 min ist dem *trans*-Isomer von **BC01** zuzuschreiben.

3.10.4.2.2Bichromophor BC02

V120: Der Bichromophor **BC02** wird nach der Verknüpfungsstrategie hergestellt (siehe Kapitel 3.10.1.2). Dazu werden jeweils mit einer Kapillare einige Kristalle des DY495-X5-NHS-Esters **143** und des Azobenzols **AB20** in DMF gelöst und mit wenigen Tropfen DIPEA versetzt. Man lässt die Reaktionslösung 24 h bei Raumtemperatur rühren und erhält eine orangefarbene Rohproduktlösung.

V120

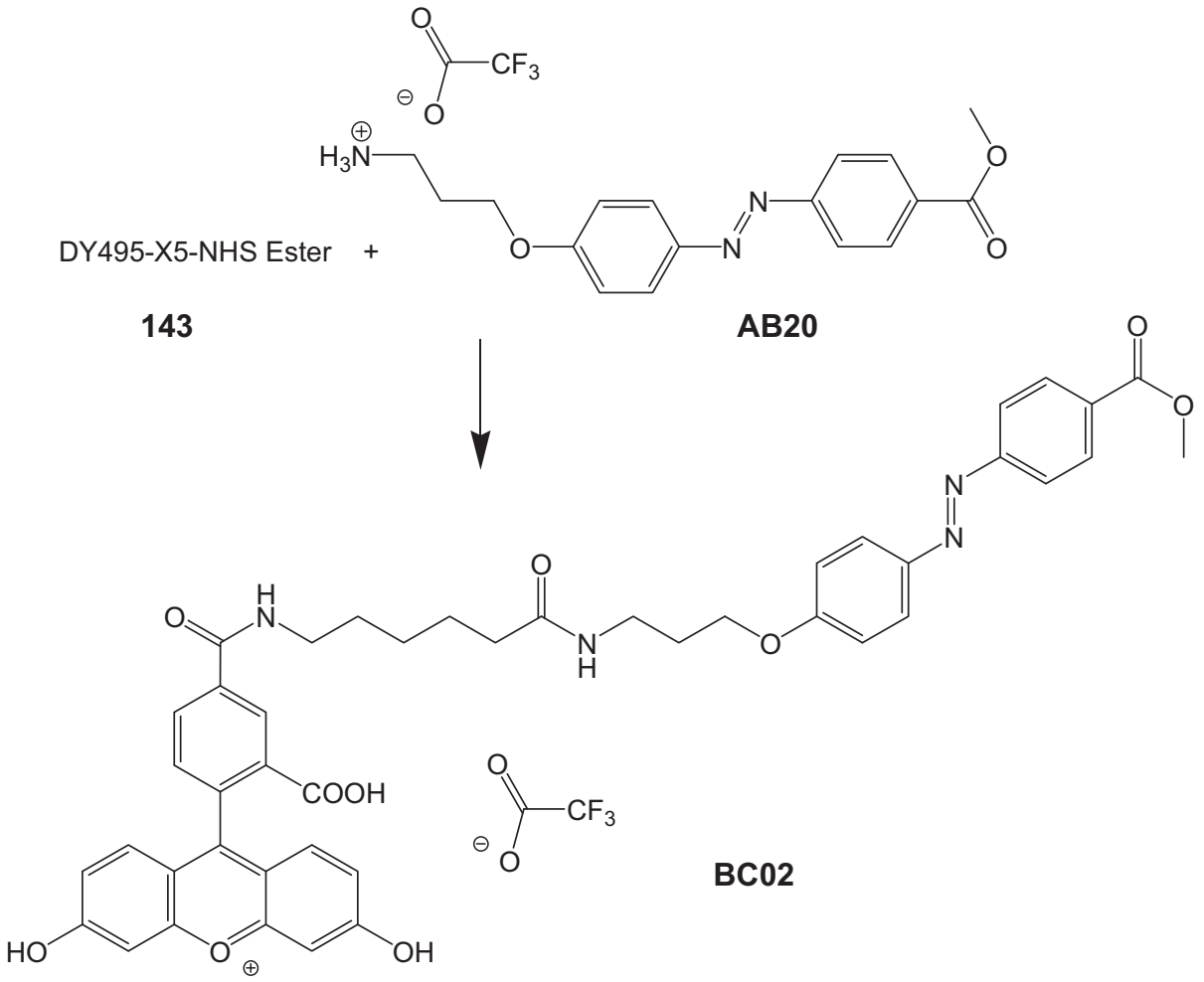


Abbildung 3.167: Syntheseschema des Bichromophors **BC02** nach der Verknüpfungsstrategie.

Methodenentwicklung: Nach 30 min Reaktionszeit wurde eine Probe der Reaktionsmischung auf die HPLC aufgetragen.

Es wird ein Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) gewählt. Als Säule wird eine YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm) verwendet. Die Flussrate beträgt 2.4 ml/min.

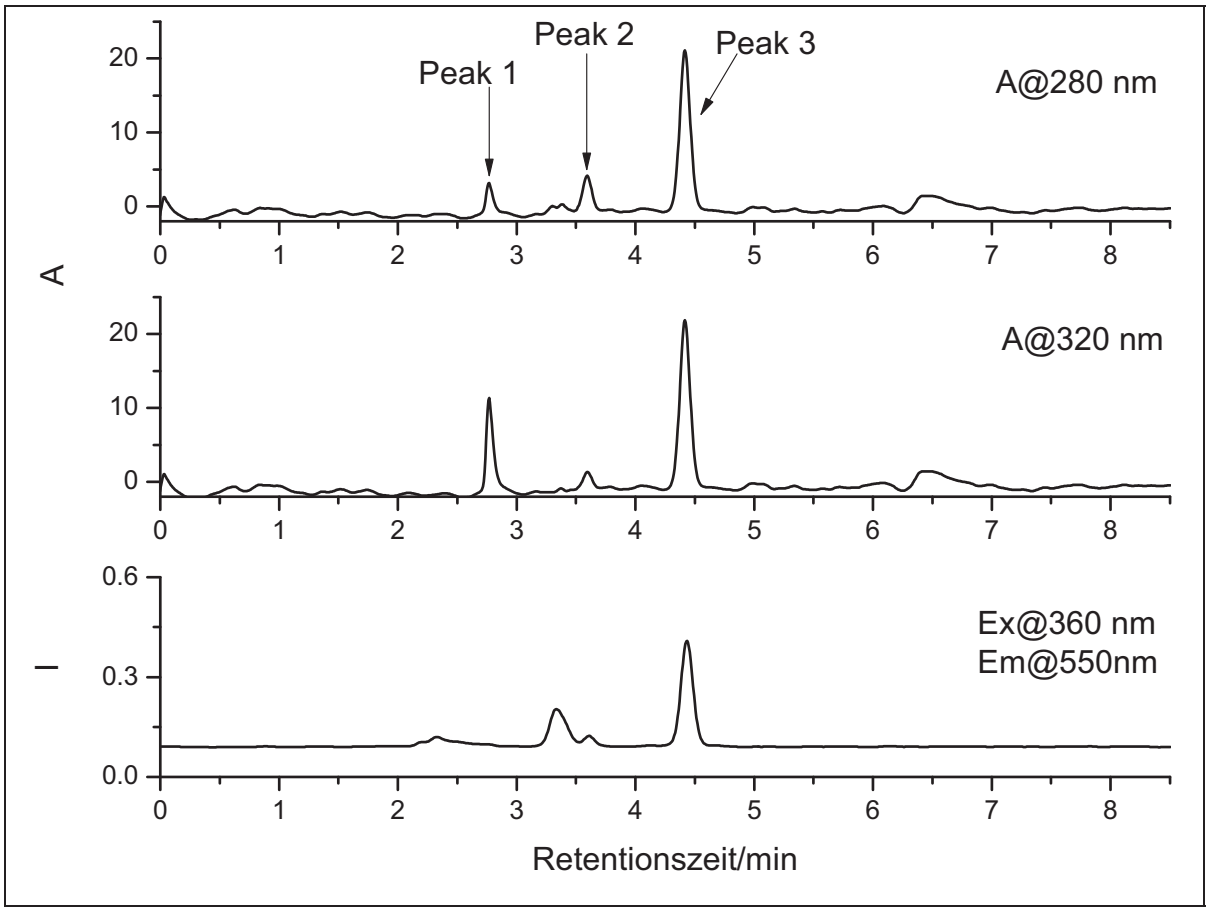


Abbildung 3.168: Laufspur vom Rohprodukt **BC02** nach 30 min in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Ein Studie der normierten UV-Vis-Spektren der Signale und ein Vergleich mit den zuvor durchgeführten Blindproben der Edukte ermöglicht die Zuordnung.

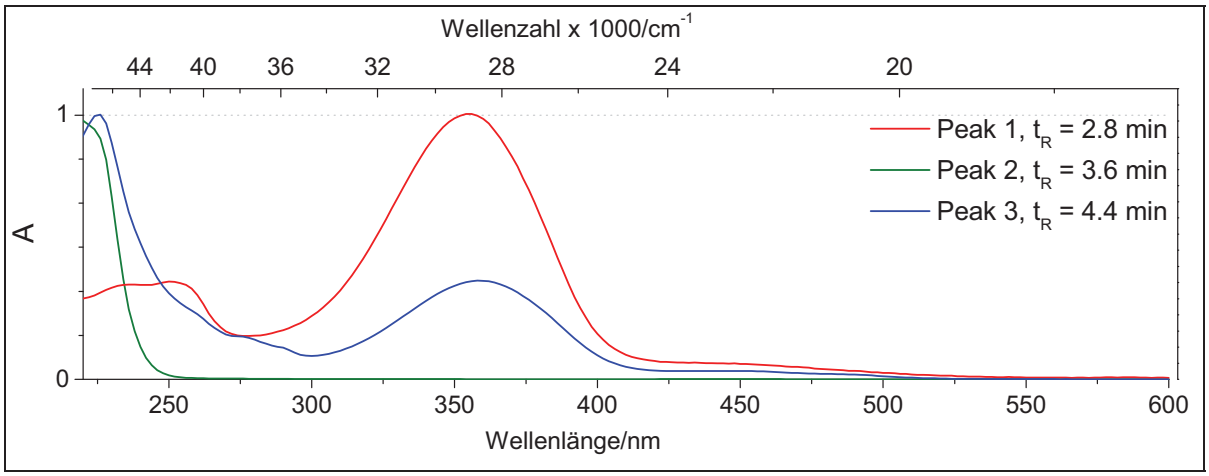


Abbildung 3.169: UV-Vis-Spektren bei verschiedenen Retentionszeiten in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei einem Laufmittelverhältnis von 95:5 hat der Bichromophor **BC02** eine Retentionszeit von 4.4 min.

Das Azobenzol **AB20** hat mit 2.8 min eine um 0.5 min längere Retentionszeit als in der Voruntersuchung (siehe Kapitel 3.10.3.5). Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Herstellung einer Lösung von TFA in Wasser mit einem pH = 3 nicht gut reproduzierbar ist.

Nach 3.6 min kommt das Fluoresceinedukt **143** von der Säule.

Reinigung: Das Rohprodukt wird über YMC ODS-AQ Kieselgel filtriert, um die Menge der Verunreinigungen im Vorfeld der HPLC-Reinigung zu reduzieren. Als Laufmittel wird 95 % Methanol und 5 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) gewählt. Es werden alle fluoreszierenden Fraktionen gesammelt. Das Lösungsmittel der vereinigten gesammelten Fraktionen wird unter vermindertem Druck fast vollständig entfernt.

Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wurde mittels HPLC aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt. Die so erhaltene Lösung wird im Vakuum einer Membranpumpe aufkonzentriert.

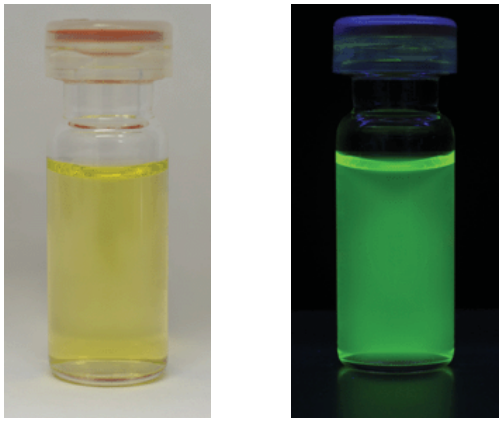


Abbildung 3.170: Methanolische Lösung von **BC02.**

Reinheitskontrolle: Um die Reinheit des Bichromophors **BC02** zu überprüfen, wird die aufgereinigte Lösung abermals auf die HPLC aufgetragen.

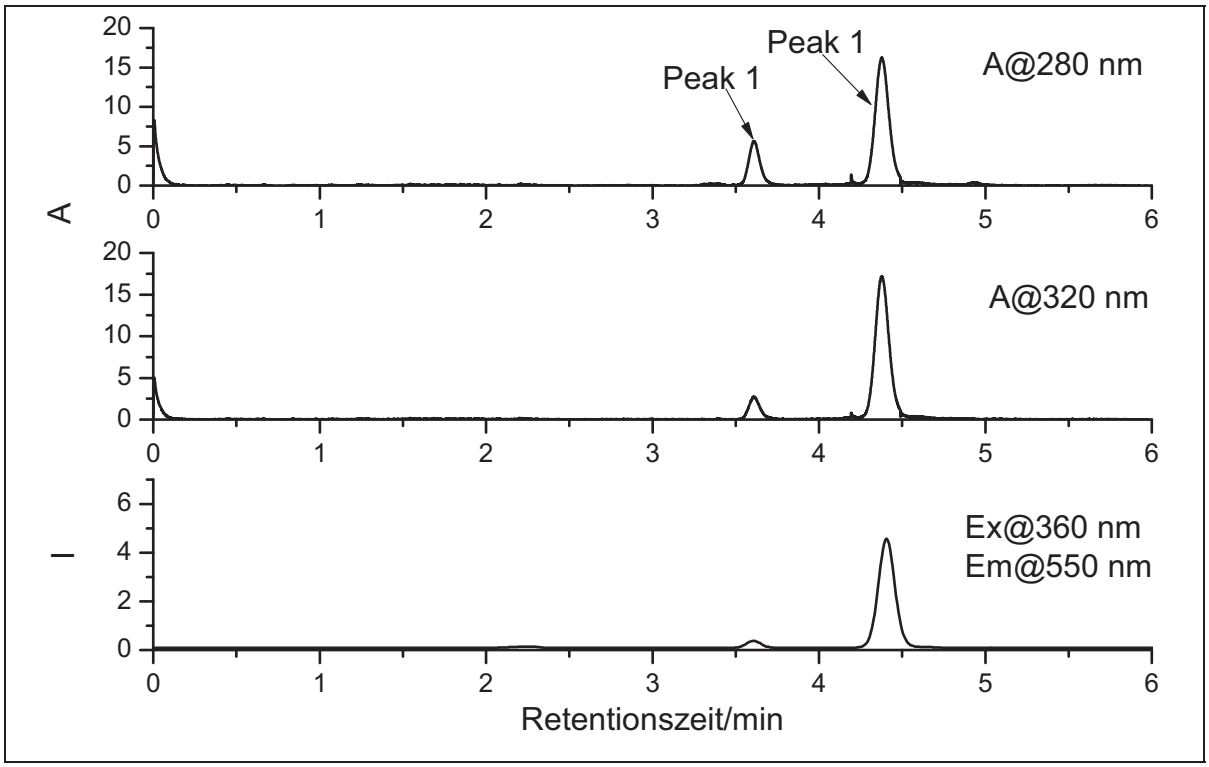


Abbildung 3.171: Laufspur von **BC02** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Nach der Reinigungsprozedur von **BC02** mittels HPLC erwartet man, bei erneuter Auftragung das Signal der abgetrennten Fraktion nach 4.4 min. Man detektiert man stets noch eine weitere Fraktion mit einer Retentionszeit von 3.6 min.

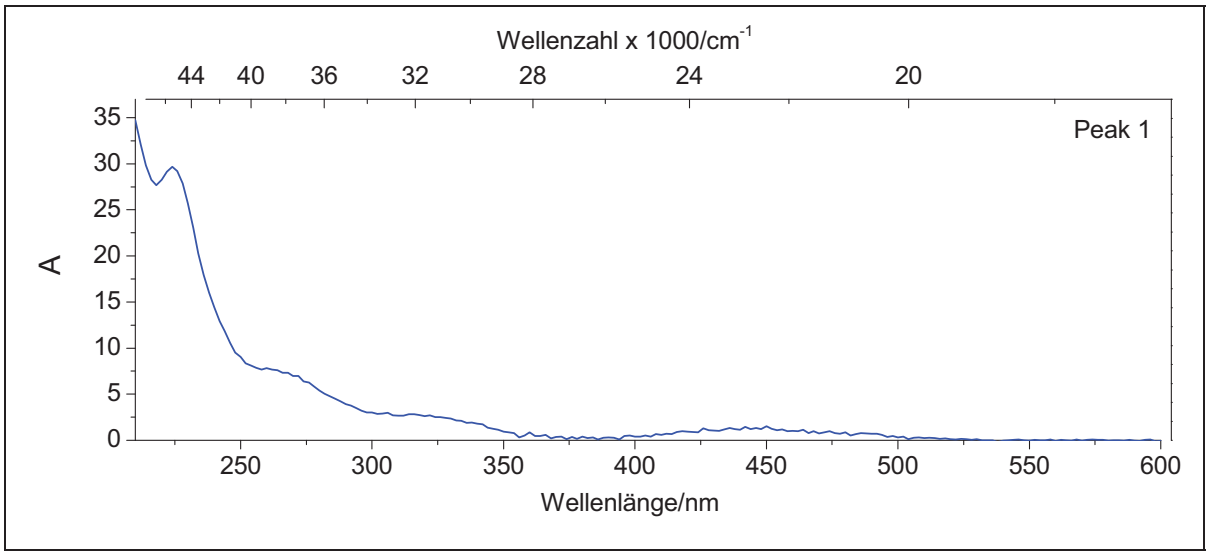


Abbildung 3.172: UV-Vis-Spektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 224, 260, 314, 450 nm.

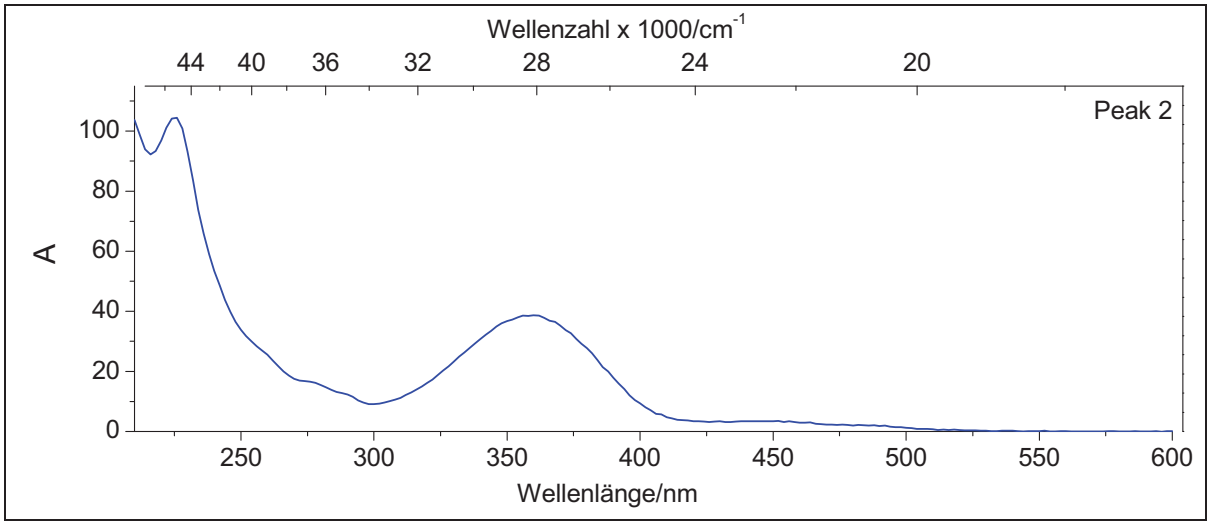


Abbildung 3.173: UV-Vis-Spektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.4 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 226, 360, 457 nm.

Es gibt zwei Möglichkeiten dieses Phänomen zu erklären:

1. Der isolierte Bichromophor **BC02** zerfällt und man erhält ein Fluoresceinfragment, welches dieselbe Retentionszeit besitzt wie das Fluoresceinedukt **184** im Rohprodukt (siehe oben).
2. Der Bichromophor **BC02** untergeht nach der Isolation cis-trans-Isomerisierung in der Azobenzoleinheit und man erhält die beiden Stereoisomere.

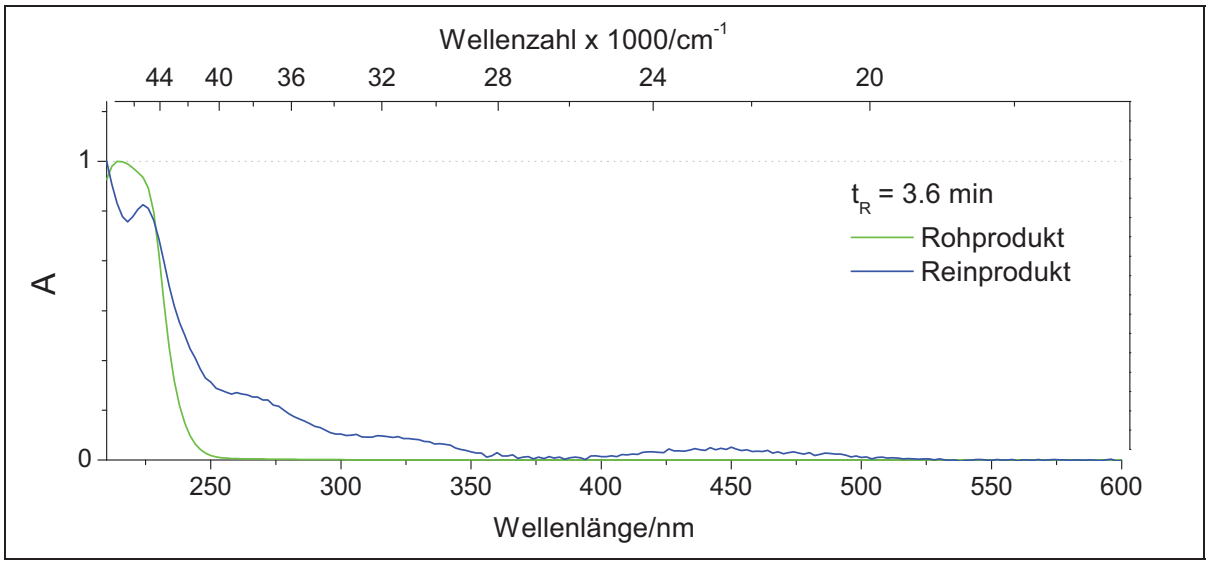


Abbildung 3.174: UV-Vis-Spektren nach 3.6 min des Rohprodukts und des Reinprodukts in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Ein Vergleich der UV-Vis-Spektren des Fluoresceinbausteins **184** im Rohprodukt nach 3.6 min und der Fraktion nach 3.6 min im Reinprodukt **BC02** zeigt, dass es sich hierbei um zwei verschieden Verbindungen handelt (siehe Abbildung 3.174).

Bei den zwei detektierten Substanzen (siehe Abbildung 3.171) handelt es sich um die Azo-*cis/trans*-Isomere des Bichromophors **BC02**. Vergleicht man die normierten UV-Vis-Spektren der zwei Substanzen (siehe Abbildung 3.175), so sieht man, dass sie sich in der Absorptionsbande der Azobenzoleinheit unterscheiden. So erkennt man bei dem Signal nach 3.6 min eine schwache $\pi \rightarrow \pi^*$ Bande bei 314 nm und bei dem Signal nach 4.4 min eine stärkere Bande bei 360 nm.

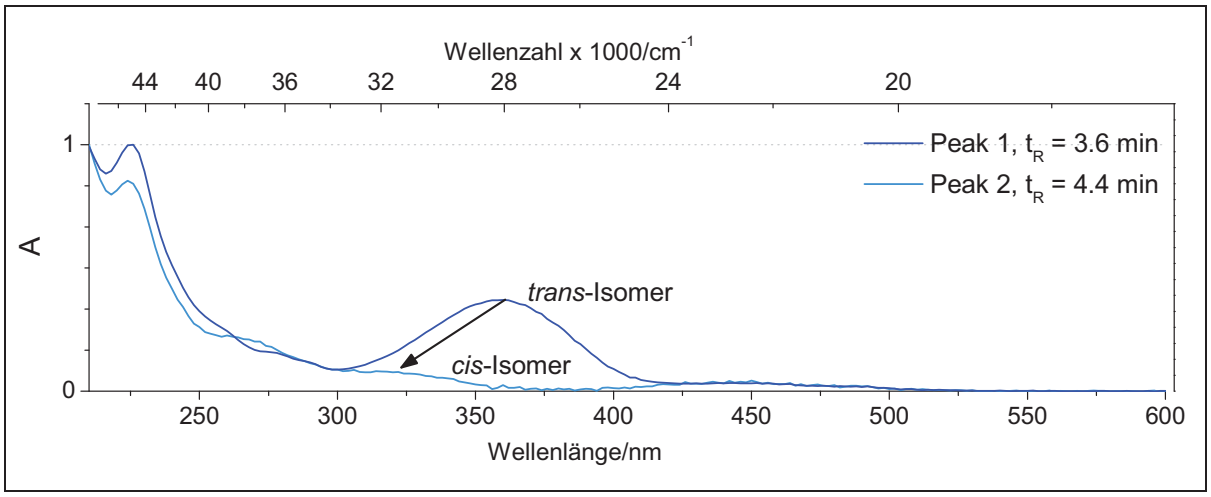


Abbildung 3.175: UV-Vis-Spektren der Stereoisomere des Reinprodukts **BC02** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min.

Die Fläche des jeweiligen Absorptionssignals bei 280 nm, bei dem die Extinktionskoeffizienten ähnlich groß sind, lässt auf ein Verhältnis von ca. 1:6 schließen.

Die stärker bathochrome π→π* Absorptionsbande der Azobenzoleinheit und der höhere Anteil dieser Substanz in dem Isomerengemisch lassen darauf schließen, dass es sich bei der Fraktion nach 4.4 min um die stabilere trans-konfigurierte Form des Bichromophors **BC02** handelt. Somit isomerisiert nach der Isolierung der *trans*-Bichromophors **BC02** und man detektiert nach 3.6 min die *cis*-Form von **BC02**.

3.10.4.2.3 Bichromophor BC06

V121: Der Bichromophor **BC06** wird nach der Verknüpfungsstrategie hergestellt (siehe Kapitel 3.10.1.2). Dazu werden jeweils einige Kristalle des DY495-X5-NHS-Esters **143** und des Azobenzols **AB21** in 5 ml DMF gelöst und mit wenigen Tropfen DIPEA versetzt. Man lässt die Reaktionslösung 24 h bei Raumtemperatur rühren

V121

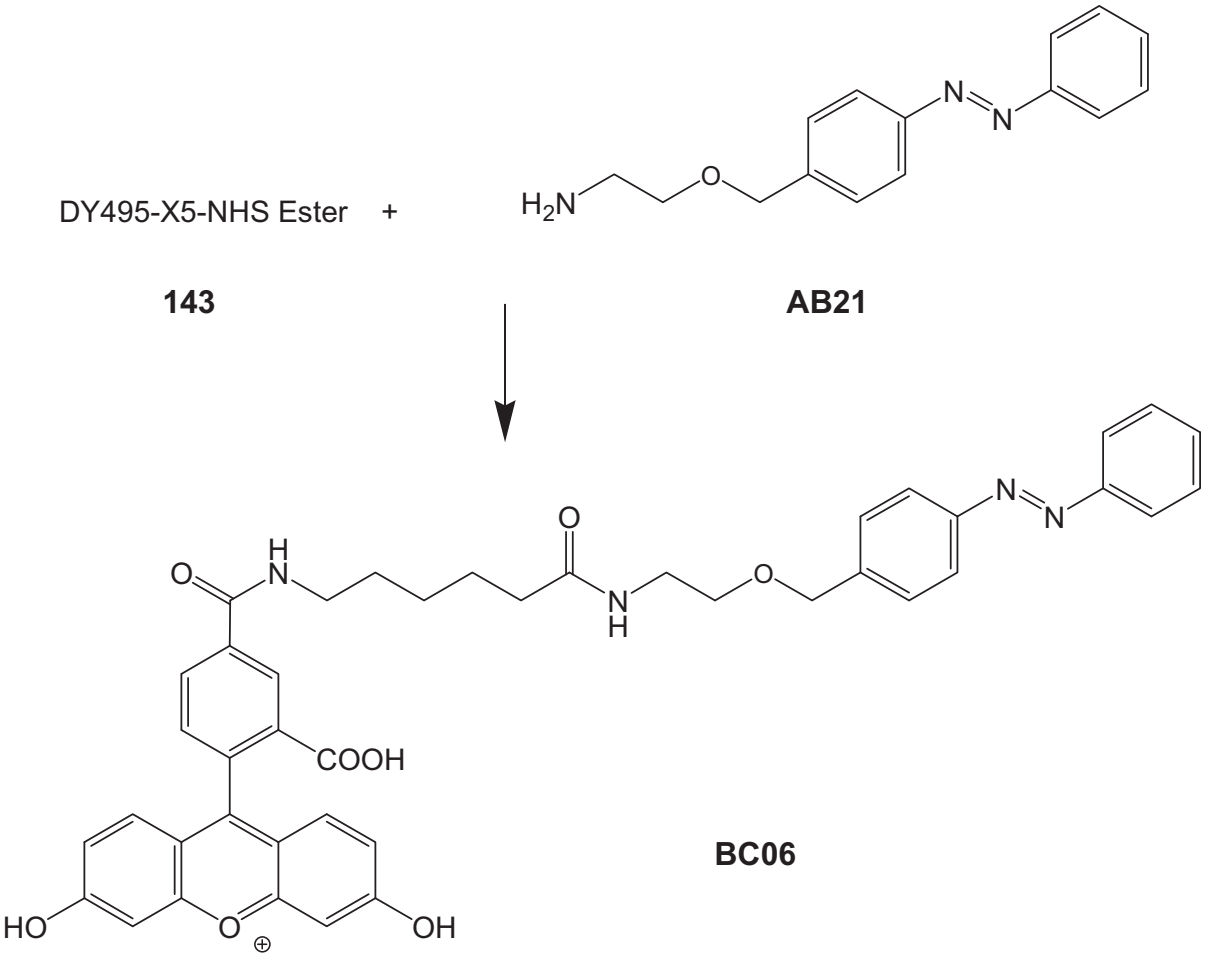


Abbildung 3.176: Syntheseschema des Bichromophors **BC06** nach der Verknüpfungsstrategie.

Reinigung: Aufgrund der geringen Substanzmenge wird der Bichromophor **BC06** mit Hilfe der HPLC aufgereinigt.

Um Verunreinigungen zu identifizieren und ideale Trennbedingungen des gewünschten Produkts **BC06** zu bestimmen, wurde zunächst eine Rohproduktprobe auf die HPLC gegeben. Als Laufmittel wurde eine Mischung aus 95 % Methanol und 5 % Wasser /Trifluoressigsäure (pH = 3) gewählt.

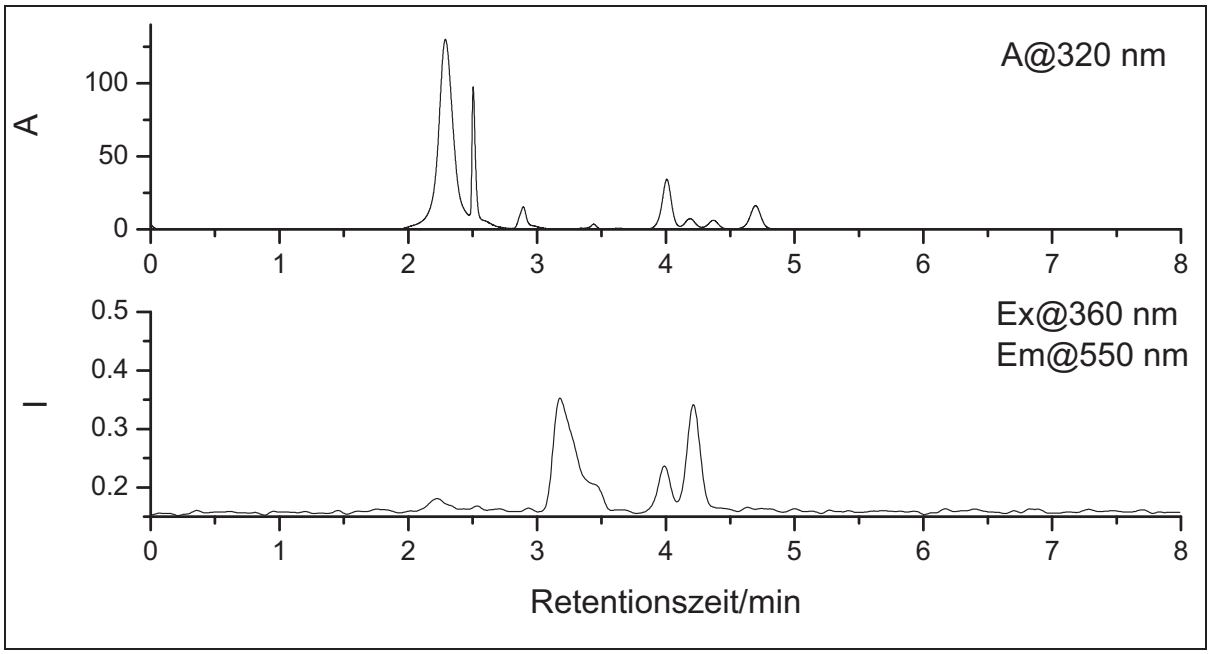


Abbildung 3.177: Laufspur vom Rohprodukt **BC06** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3), 2.4 ml/min; 320 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

In der Detektionsspur findet man die Signale des Azobenzols **AB21** zwischen 2-3 min wieder. Von 3.0 min bis 3.8 min sind Fluoreszenzsignale des DY495-X5-NHS-Esters **143** zu sehen. Die UV-Absorption des Fluoresceinderivates ist bei 320 nm zu schwach um bei dieser geringen Konzentration detektiert werden zu können.

Nach 4.0 min und 4.2 min tauchen sowohl Signale in der 320 nm-Spur wie auch in der Fluoreszenzspur auf. Eine erste Betrachtung der UV-Spektren zeigt, dass es sich hierbei um den synthetisierten Bichromophor **BC06** handelt.

In den Voruntersuchungen zum Azobenzol **AB21** (siehe Kapitel 3.10.3.6.) hatte sich gezeigt, dass dieses auf der HPLC-Säule bei einem Laufmittelgemisch mit geringem Anteil an Wasser/TFA (pH = 3) eine Verbreiterung („Verschmieren“) zeigt. Daher wurde auch das Laufverhalten des Rohprodukts **BC06** ebenfalls bei einem Laufmittelverhältnis von 90 % Methanol und 10 % Wasser /Trifluoressigsäure (pH = 3) untersucht.

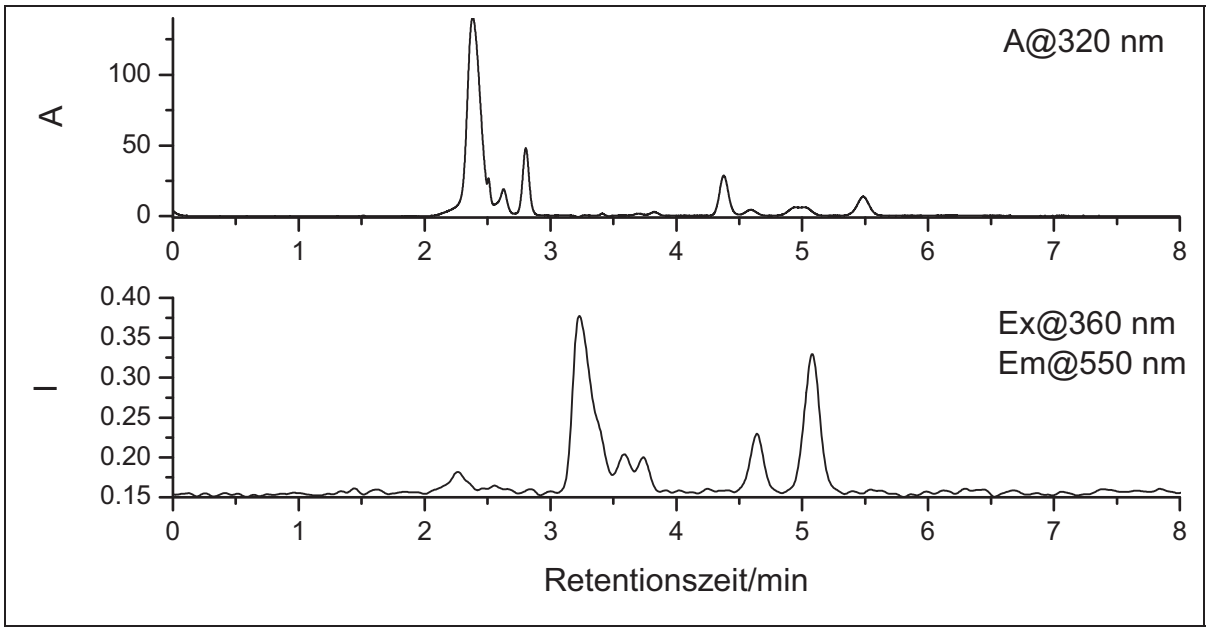


Abbildung 3.178: Laufspur vom Rohprodukt **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3), 2.4 ml/min; 320 nm; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Die Beobachtungen aus diesem Lauf ähneln stark denen bei einem Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser /Trifluoressigsäure (pH = 3). Lediglich die Retentionszeiten sind entsprechend länger, so dass es zu besseren Trennung der Signale kommt.

Um Verunreinigungen im Vorfeld der HPLC-Reinigung zu minimieren, wird die Lösung des Rohprodukts **BC06** über eine Filtersäule mit YMC ODS-AQ Kieselgel als stationäre Phase filtriert. Als mobile Phase wird 90 % Methanol und 10 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) gewählt. Alle fluoreszierenden Fraktionen wurden gesammelt. Ihre Zusammensetzung wird anschließend mittels HPLC untersucht.

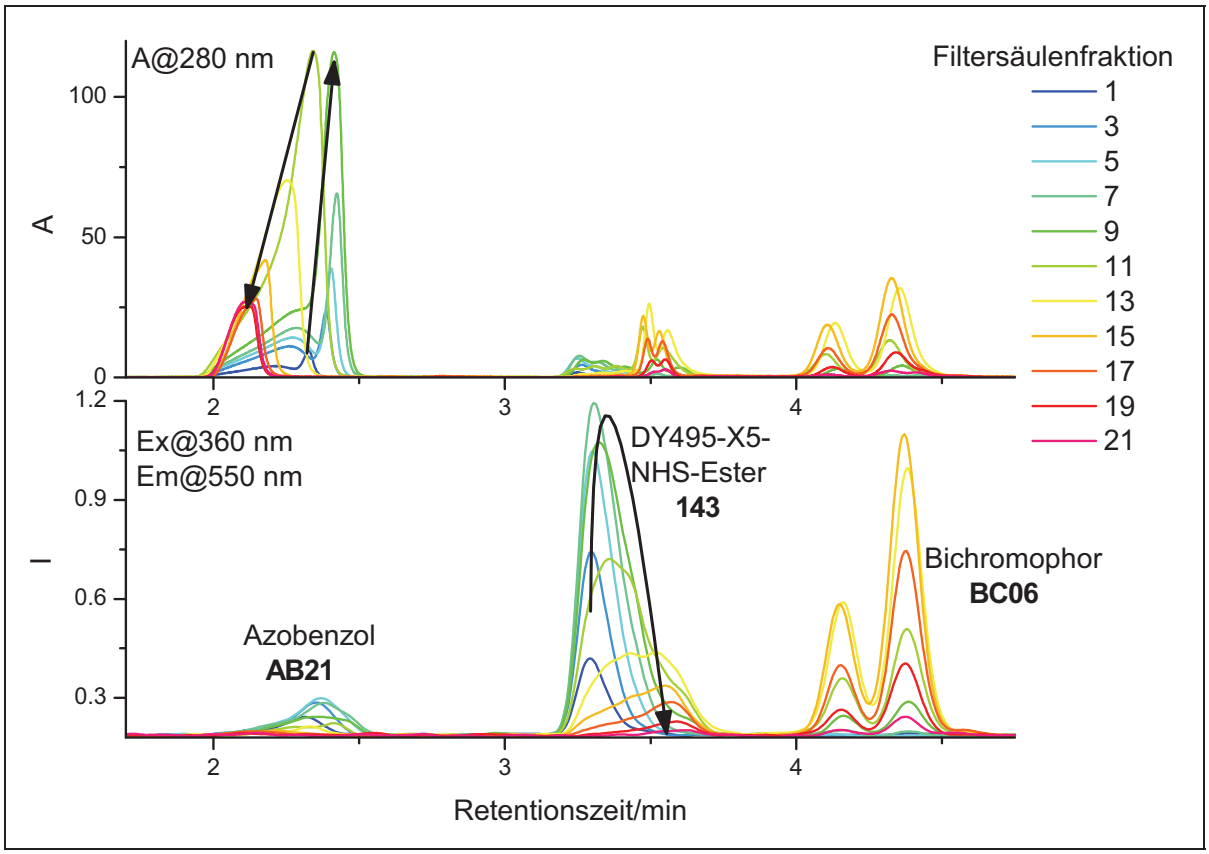


Abbildung 3.179: Laufspur von den Filtersäulenfraktionen des Rohprodukt **BC06** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3), 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); A@280 nm; Fluoreszenz: Ex@360 nm, Em@550 nm.

Wie man erkennen kann, geht die Menge an Azobenzol **AB21** und DY495-X5-NHS-Ester **143** ab Fraktion 13 stark zurück. Die Fraktionen 13-21 mit dem größten Anteil an Bichromophor **BC06** werden daher vereint und für die Reinigung auf der HPLC unter vermindertem Druck aufkonzentriert.

Diese vorgereinigte Rohproduktfraktion wird anschließend mittels HPLC aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt.

Die so erhaltene Lösung wird im Vakuum einer Membranpumpe aufkonzentriert.

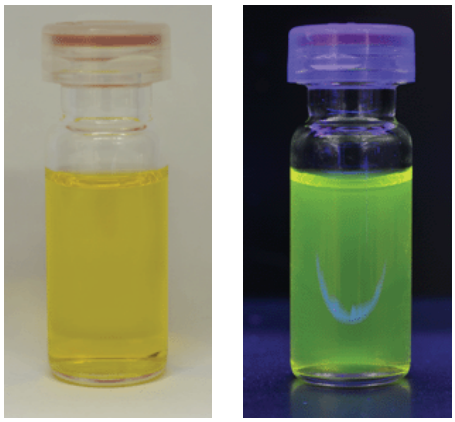


Abbildung 3.180: Methanolische Lösung von **BC06.**

Reinheitskontrolle: Um die Reinheit des Bichromophors **BC06** zu überprüfen, wird die aufgereinigte Lösung abermals auf die HPLC aufgetragen.

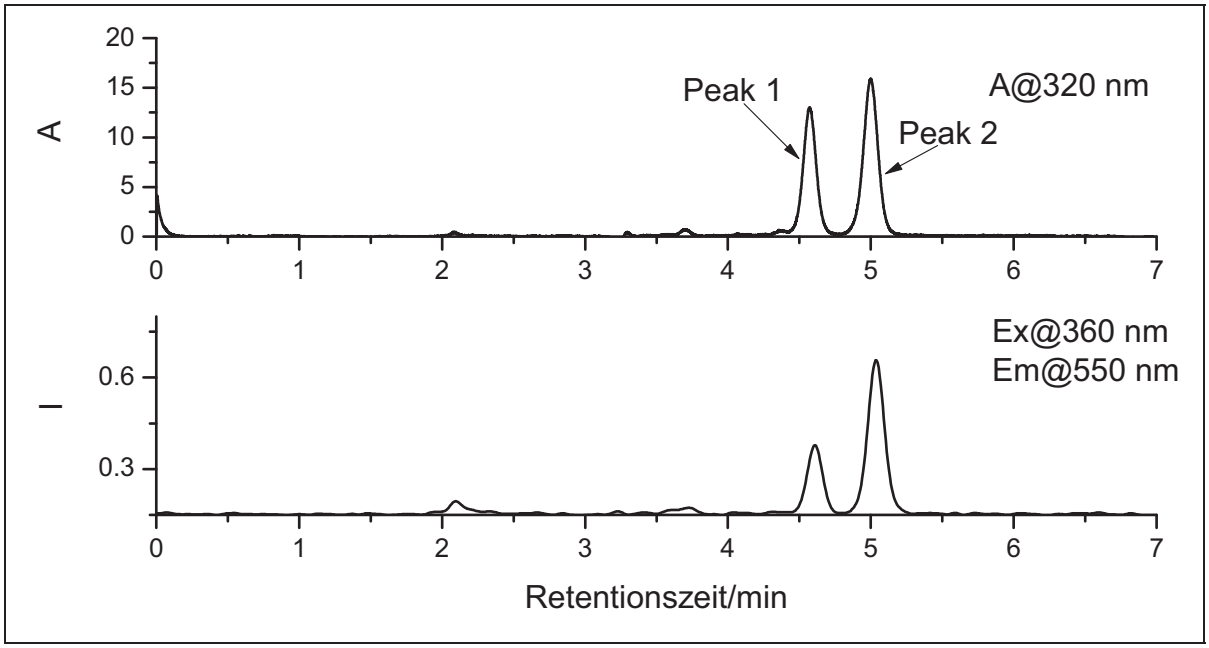


Abbildung 3.181: Laufspur von **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Wie bei den zuvor besprochenen Bichromophoren, findet man auch hier die beiden *cis/trans*-Isomere. Sie weisen Retentionszeiten von 4.6 min bzw. 5.0 min auf.

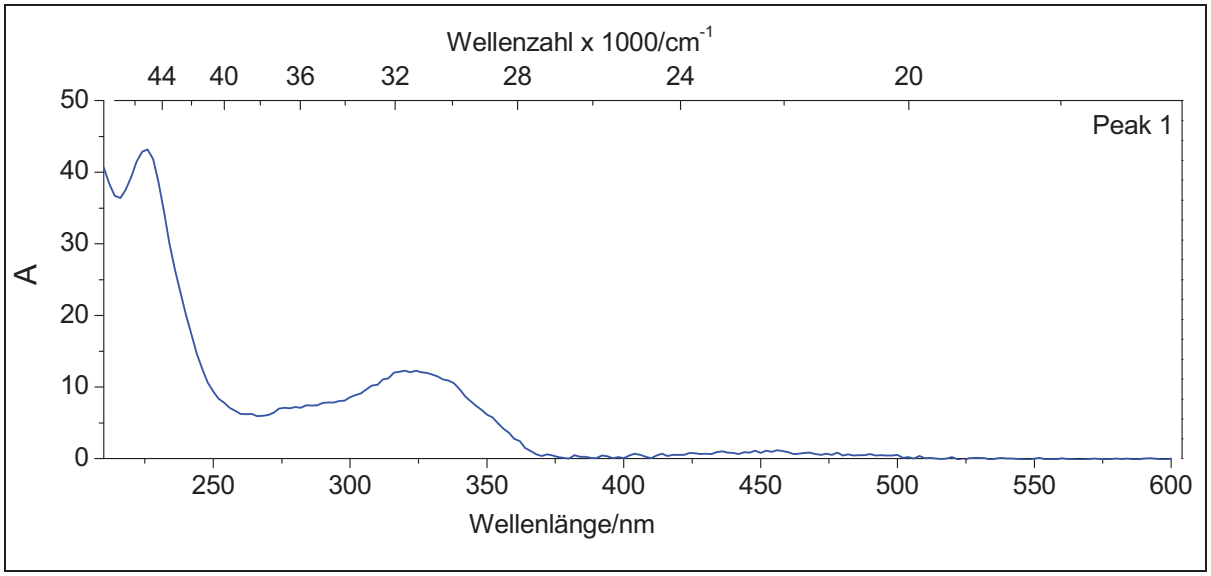


Abbildung 3.182: UV-Vis-Spektrum in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 226, 320 nm.

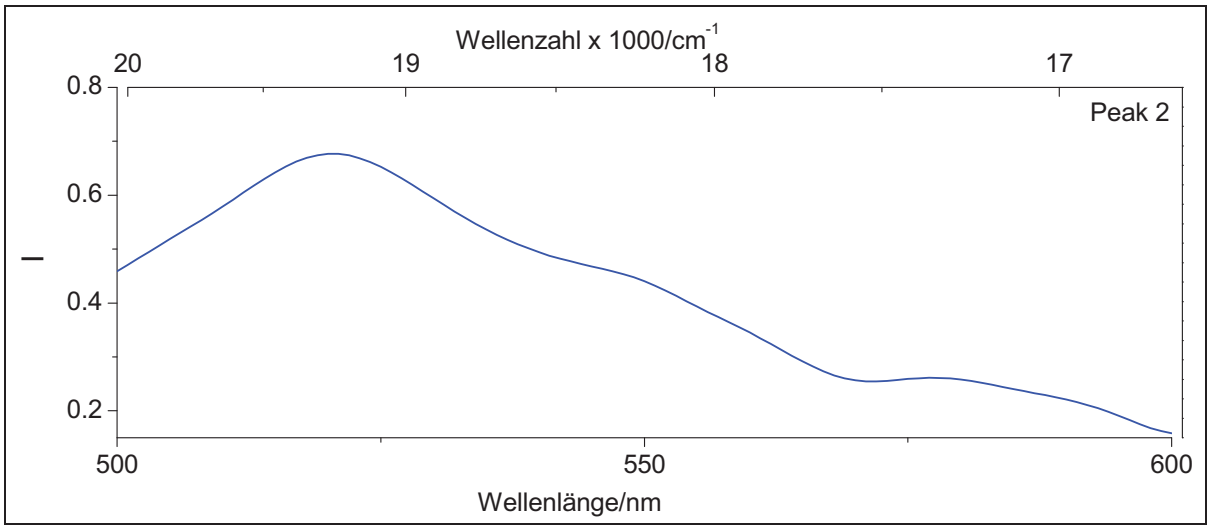


Abbildung 3.183: Fluoreszenzspektrum in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.6 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 520 nm.

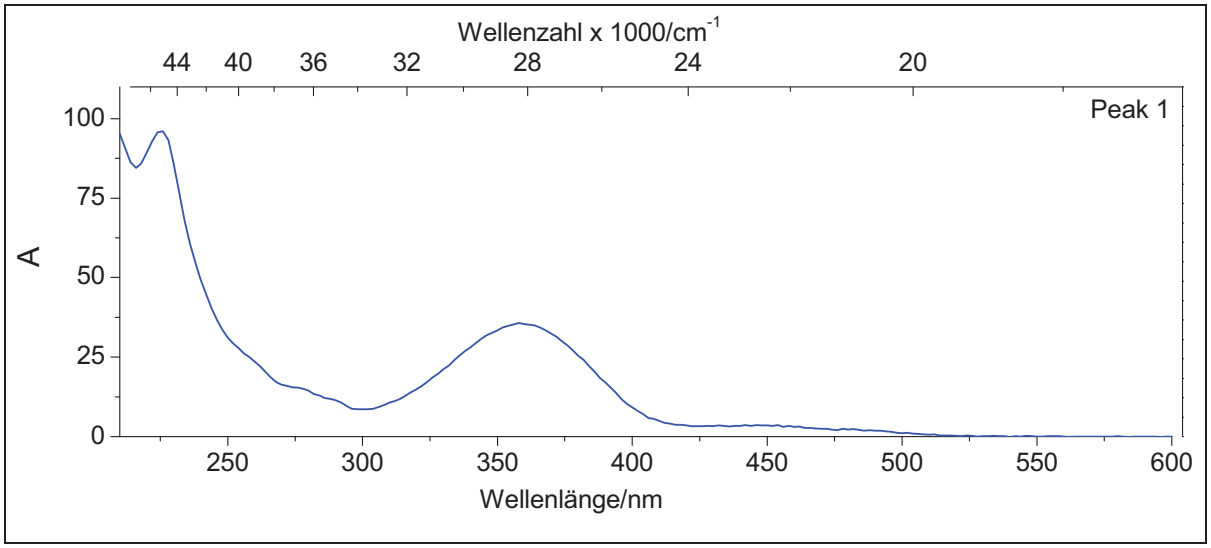


Abbildung 3.184: UV-Vis-Spektrum in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 226, 358 nm.

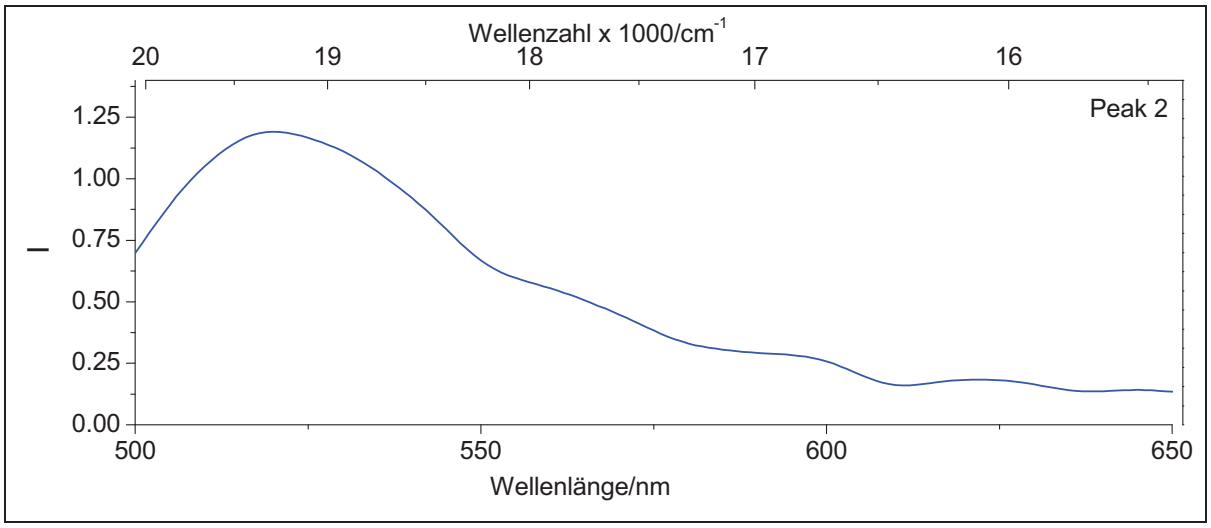


Abbildung 3.185: Fluoreszenzspektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 520 nm.

Aufgrund der hypsochromen π→π* Absorptionsbande und dem geringeren Anteil im Produktgemisch (geschätzt anhand der Fluoreszenzemission) wird zugeordnet, dass es sich bei dem Isomer mit einem Retentionszeit von 4.6 min um das *cis*-Isomer des Bichromophors **BC06** handelt. Somit ist das Signal nach 5.0 min dem *trans*-Isomer von **BC06** zuzuordnen.

3.10.4.3 Verknüpfungssynthesen der Bichromophore vom Rhodamintyp

3.10.4.3.1 Bichromophor BC03

V122: Der Bichromophor **BC03** wird nach der Verknüpfungsstrategie hergestellt (siehe Kapitel 3.10.1.2). Dazu werden der DY505-X5-NHS-Ester **143** und das Azobenzol **AB20** in 1 ml DMF gelöst und mit wenigen Tropfen abs. DIPEA versetzt. Das Reaktionsgemisch wird eine Woche bei Raumtemperatur gerührt.

V122

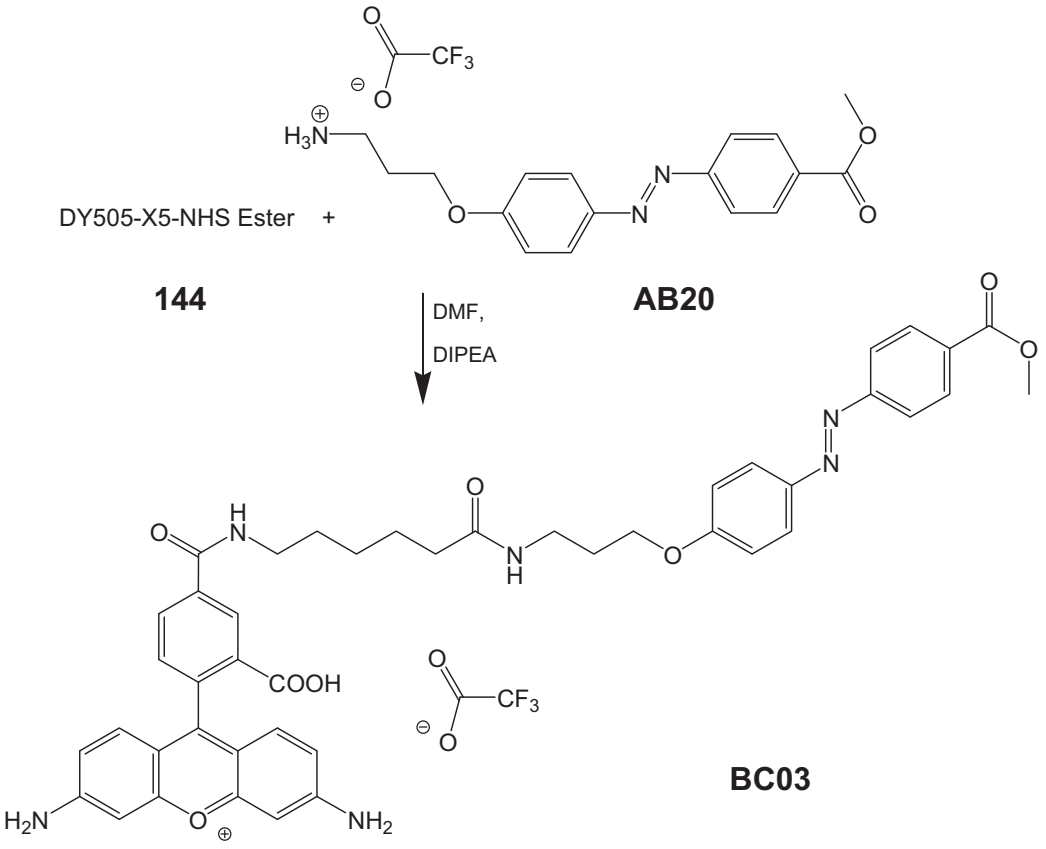


Abbildung 3.186: Syntheseschema des Bichromophors **BC03** nach der Verknüpfungsstrategie.

Aufgrund der gewonnen Erfahrungen aus den Synthesen der fluoresceinbasierten Bichromophoren, wird die Rohproduktlösung zunächst säulenchromatographisch aufgereinigt. So ist es möglich, die Menge der Verunreinigungen im Vorfeld der HPLC-Reinigung zu reduzieren. Als stationäre Phase wird YMC ODS-AQ Kieselgel gewählt mit 95 % Methanol und 5 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) als Lauf-

mittel. Es werden alle orangefarbenen, fluoreszierenden Fraktionen gesammelt. Das Lösungsmittel der vereinigten Fraktionen wird unter vermindertem Druck eingeengt.

Methodenentwicklung: Die gewonnene Rohproduktfraktion wird zur Methodenentwicklung verwendet. Dazu werden als mobile Phase verschiedene Laufmittelmischungen von Methanol und Wasser/TFA (pH = 3) auf einer ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm) von YMC getestet bei einer Flussrate von 2 ml/min.

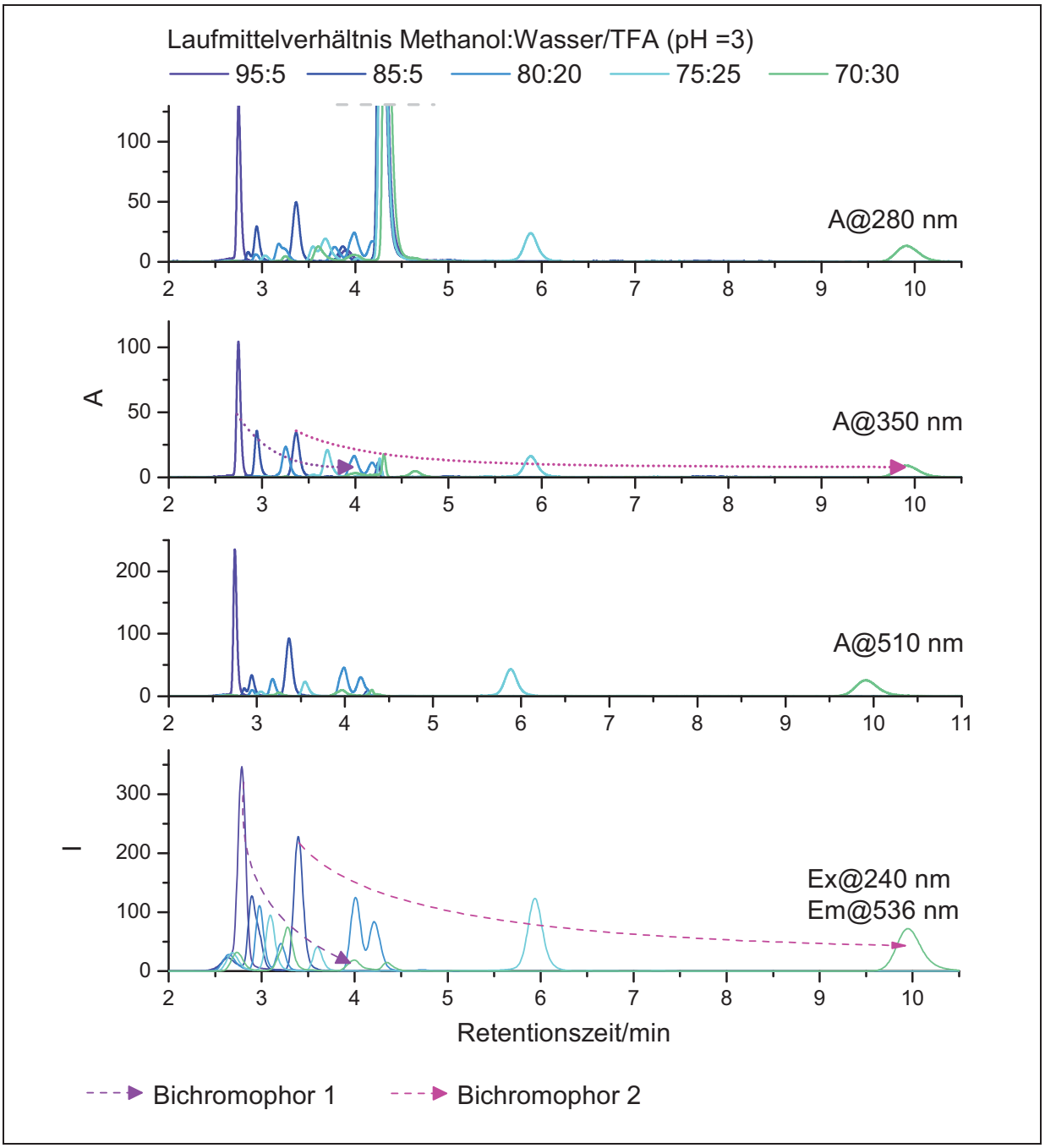


Abbildung 3.187: Laufspuren vom Rohprodukt **BC03** bei verschiedenen Laufmittelmischungen von Methanol und Wasser/TFA (pH = 3); 2.0 ml/min.

Aus den Laufspuren unter verschiedenen Laufmittelbedingungen kann man schließen welche Verunreinigungen noch im Rohprodukt vorhanden sind. Es finden sich Signale für das Azobenzol **AB20**, geringe Mengen von DY505-X5-NHS-Ester **144** Derivate und eine unbekannte, um 230 nm absorbierende, Fraktion wieder. Bei der unbekannten Substanz könnte es sich um abgespaltenes *N*-Succinimid handeln oder auch um eine Verunreinigung aus dem technischen Lösungsmittel, welches zur säulenchromatographischen Reinigung verwendet wurde. Es finden sich auch Signale, die dem erwünschten Bichromophor **BC03** zuzuordnen sind.
Mit zunehmendem Wasseranteil vergrößern sich die Retentionszeiten der Bichromophorfraktionen erheblich. Daher wird beschlossen ein weiteres Mal die Rohproduktfraktion zu säulen. Dieses Mal wird zunächst die Fraktion mit einer Lösungsmittelmischung aus 50 % Methanol: 50 % Wasser/TFA (pH = 3) auf YMC-ODS-AQ Kieselgel aufgetragen. Mit dem Laufmittel wird erst eine gelblich fluoreszierende Fraktion, vermutlich der Rhodaminbaustein **186**, und dann eine orange, nicht fluoreszierende Fraktion, das Azobenzol **AB20**, von der Säule gespült. Anschließend wird das Laufmittel langsam auf reines Methanol umgestellt. Eine fluoreszierende, orangefarbene Rohproduktfraktion wird gesammelt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck auf 1.5 ml aufkonzentriert.

Reinigung: Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wurde mittels HPLC aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt. Die so erhaltene Lösung wird im Vakuum einer Membranpumpe aufkonzentriert.



Abbildung 3.188: Methanolische Lösung von **BC03.**

Reinheitskontrolle: Um die Reinheit des Bichromophors **BC03** zu überprüfen, wird die aufgereinigte Lösung abermals auf die HPLC aufgetragen. Es wird ein Laufmittelverhältnis von 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) gewählt. Als Säule wird eine YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm) verwendet. Die Flussrate beträgt 2.5 ml/min.

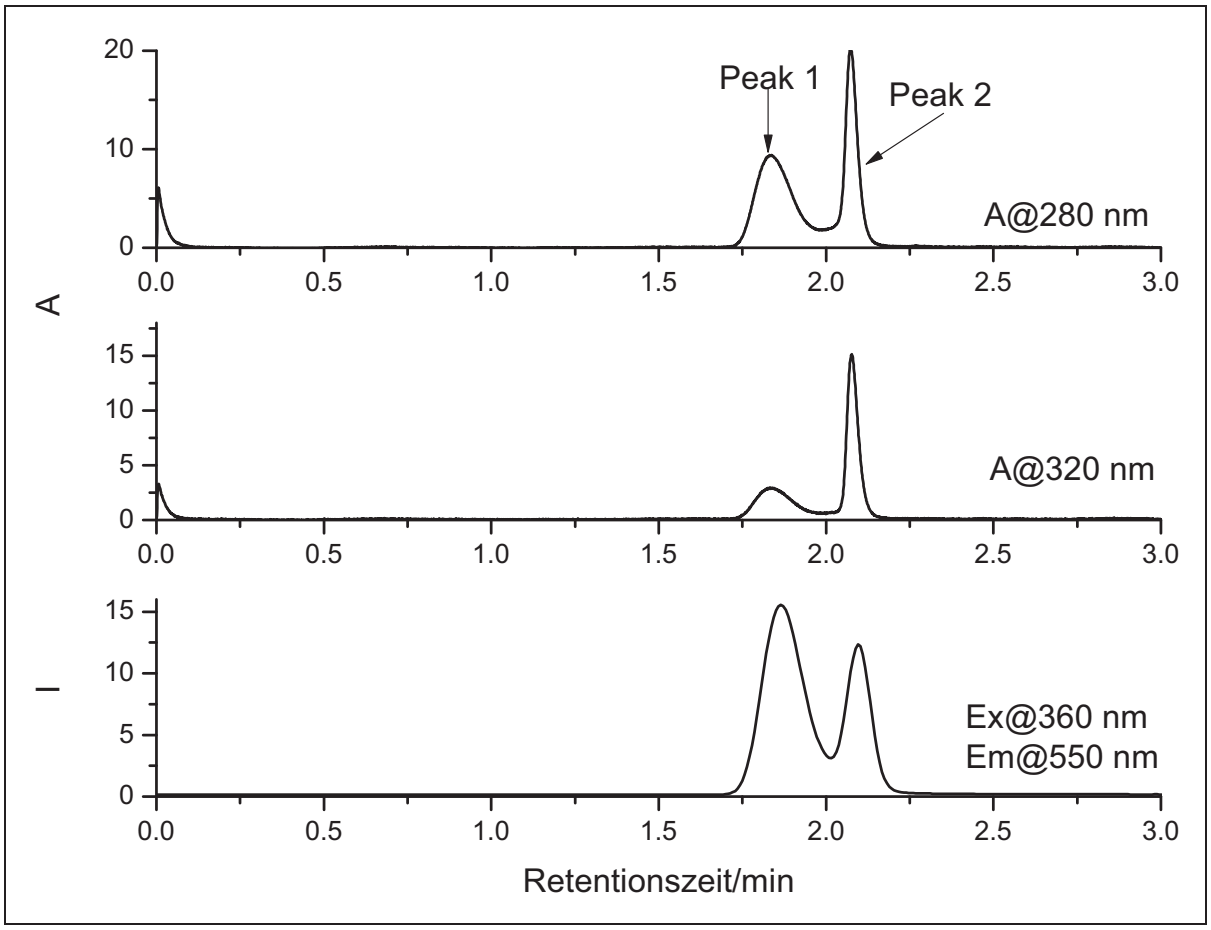


Abbildung 3.189: Laufspur von **BC03** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Wie bei den zuvor besprochenen Bichromophoren vom Fluoresceintyp, findet man auch hier die beiden *cis/trans*-Isomere. Sie weisen Retentionszeiten von 1.8 min bzw. 2.1 min auf.

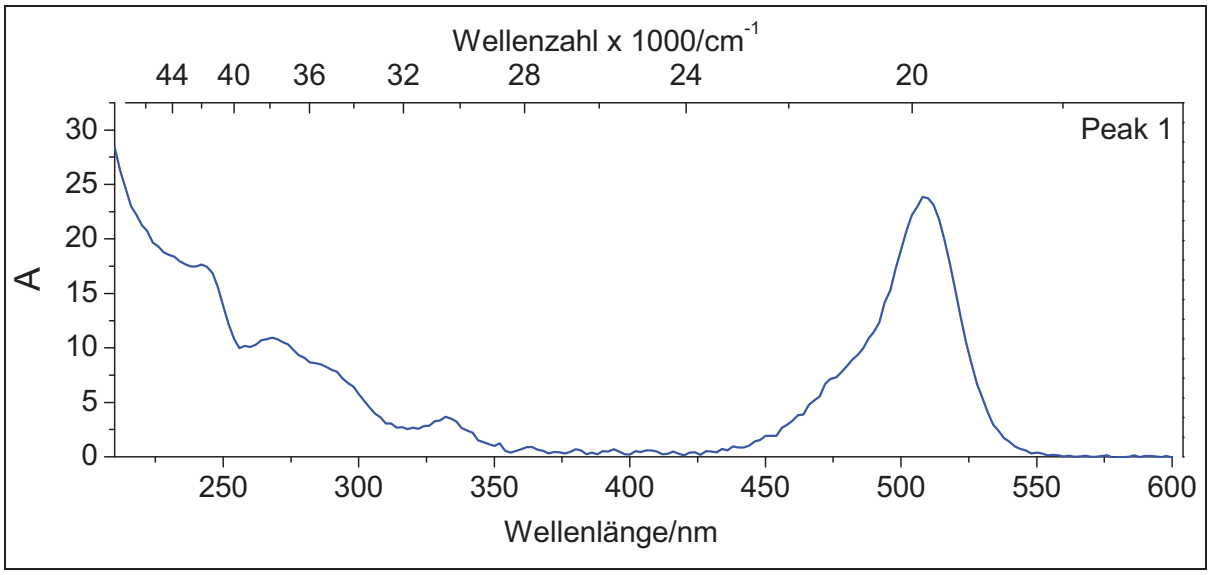


Abbildung 3.190: UV-Vis-Spektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 1.8 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 242, 268, 332, 508 nm.

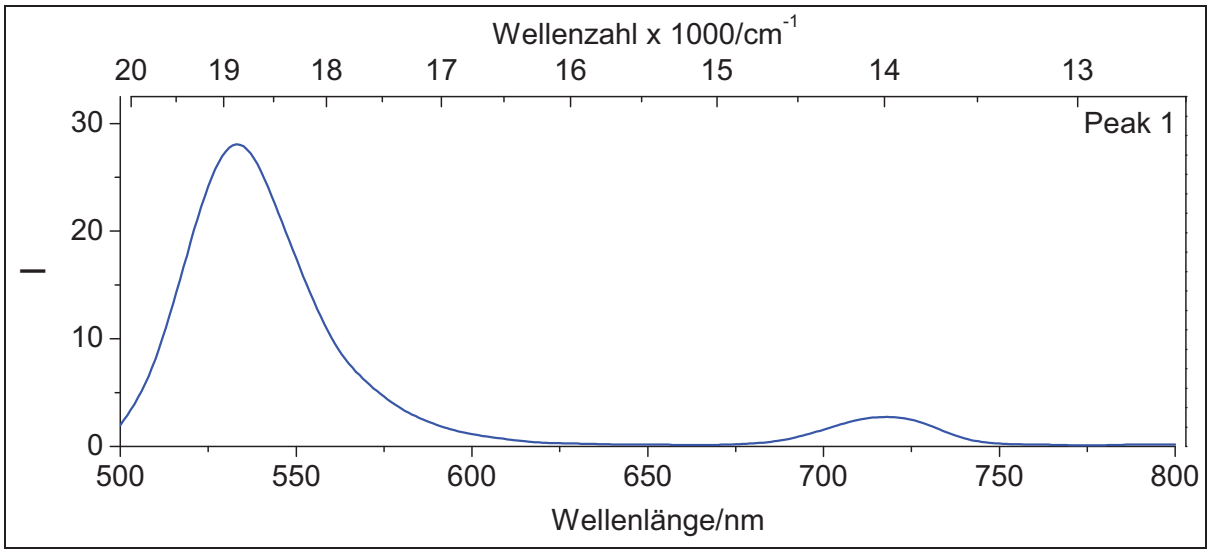


Abbildung 3.191: Fluoreszenzspektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 1.8 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 533 nm.

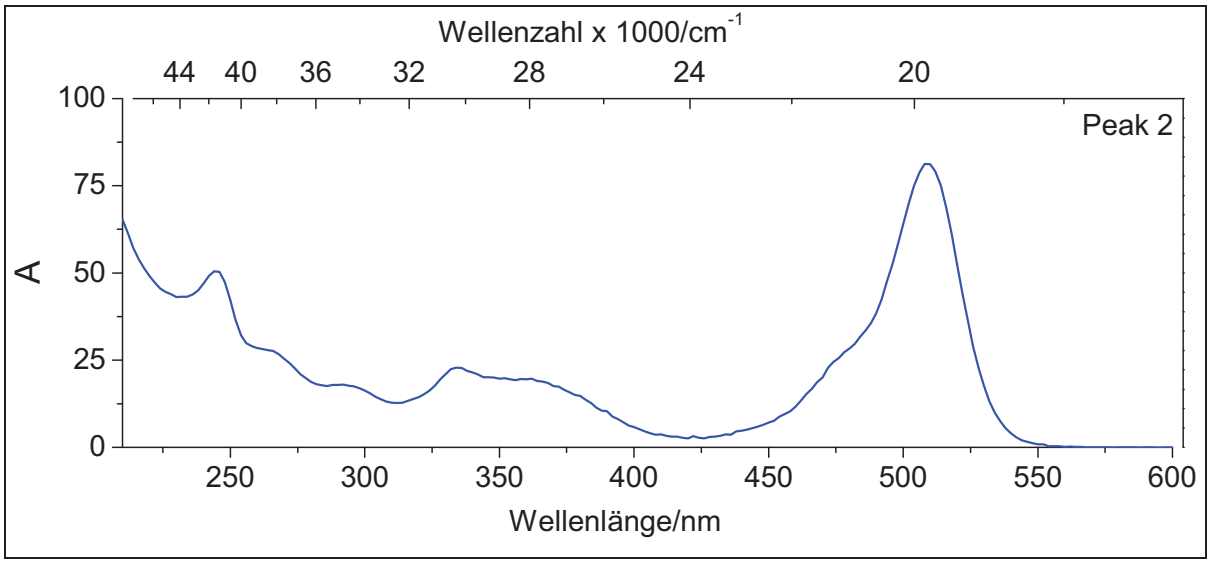


Abbildung 3.192: UV-Vis-Spektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 2.1 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 244, 334, 362, 508 nm.

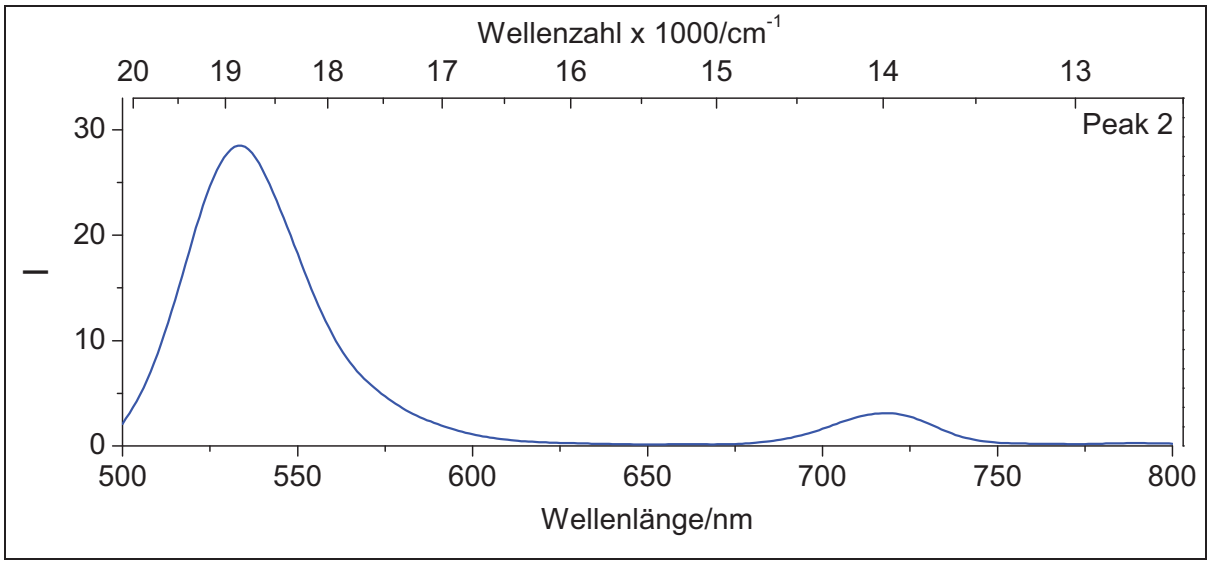


Abbildung 3.193: Fluoreszenzspektrum in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 2.1 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 534 nm

Um den Vergleich der UV-Vis-Spektren zu vereinfachen, werden sowohl die UV-Vis-Spektren der **BC03**-Fraktion als auch des hydrolysierten Rhodaminbausteins DY505-X5 **186** auf 1 normiert und in einen Graphen dargestellt.

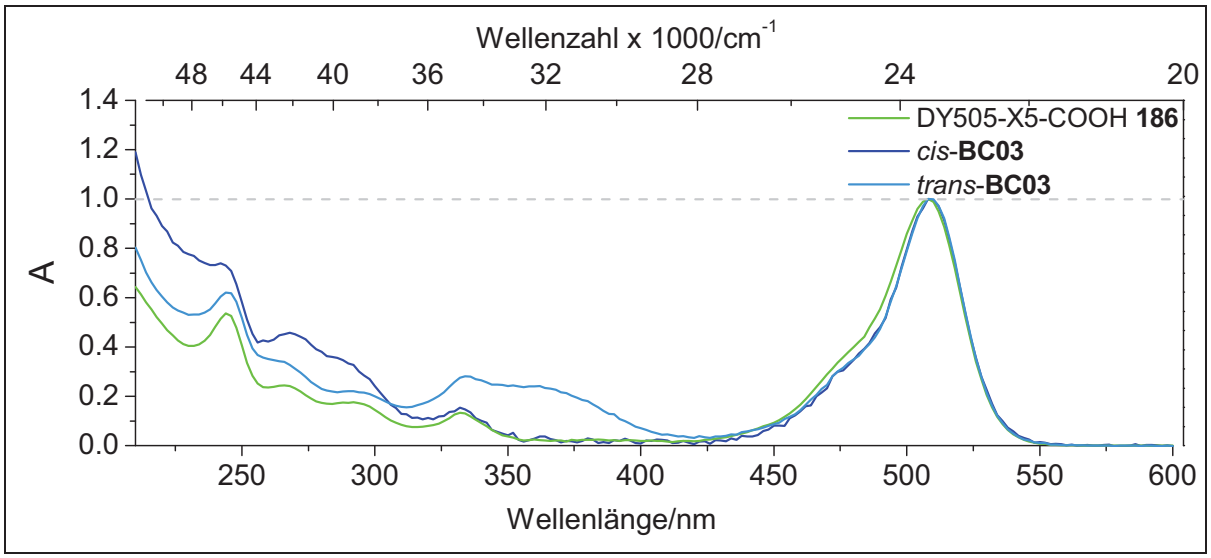


Abbildung 3.194: Normierte UV-Vis-Spektren von DY505-X5-COOH **186,** *cis*- und *trans*-**BC03**.

Der signifikanteste Unterschied in den Absorptionsspektren von *cis*- und *trans*-Azobenzolen besteht in der Lage der π→π* Bande. Beim *trans*-Isomer des unsubstituierten Azobenzol liegt diese bei 330 nm; im *cis*-Isomer bei 280 nm.

Aufgrund der markanten Absorptionsbanden der Fraktion nach 2.1 min (siehe Abbildung 3.194, hellblaue Kurve) bei 334 und 362 nm, die π→π* Übergängen zuzuweißen sind, kann man folgern, dass es sich hierbei um das *trans*-Isomer von **BC03** handelt. Das *cis*-Isomer wieder weist gegenüber den anderen beiden Fraktionen eine stärkere Absorption unterhalb von 300 nm auf. Unter den verwendeten Laufbedingungen hat es eine Retentionszeit von 1.8 min (siehe Abbildung 3.194, dunkelblaue Kurve).

Ein ESI-Massenspektrum der gereinigten Lösung zeigt, dass es sich um den gewünschten Bichromophor **BC03** handelt (siehe Kapitel 6, Versuch 122).

3.10.4.3.2Bichromophor BC04

V123: Der Bichromophor **BC04** wird nach der Verknüpfungsstrategie hergestellt (siehe Kapitel 3.10.4.2). Dazu werden einige Kristalle des DY505-X5-NHS Esters **144** und ein leichter Überschuss des Azobenzols **AB11** in 4 ml DMF gelöst und 0.5 ml DIPEA versetzt. Man lässt 3 Wochen bei Raumtemperatur rühren.

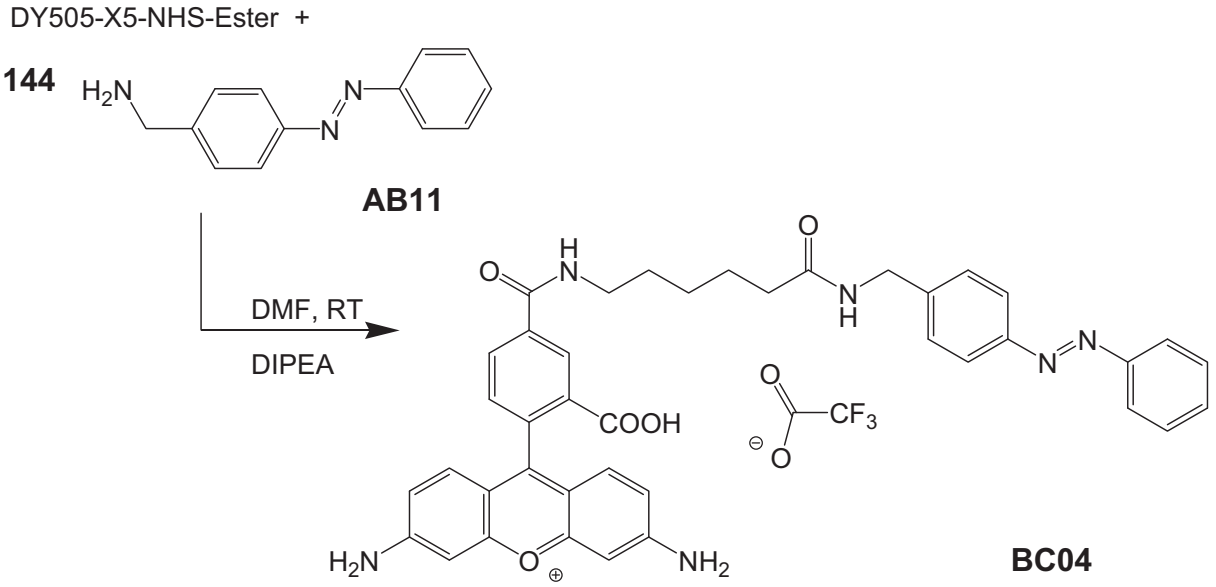


Abbildung 3.195: Syntheseschema des Bichromophors **BC04** nach der Verknüpfungsstrategie.

Reinigung: Die Rohproduktlösung von **BC04** wurde unter verschiedenen Laufbedingungen auf die HPLC gegeben. Für diese Voruntersuchungen wurde eine YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm) verwendet.

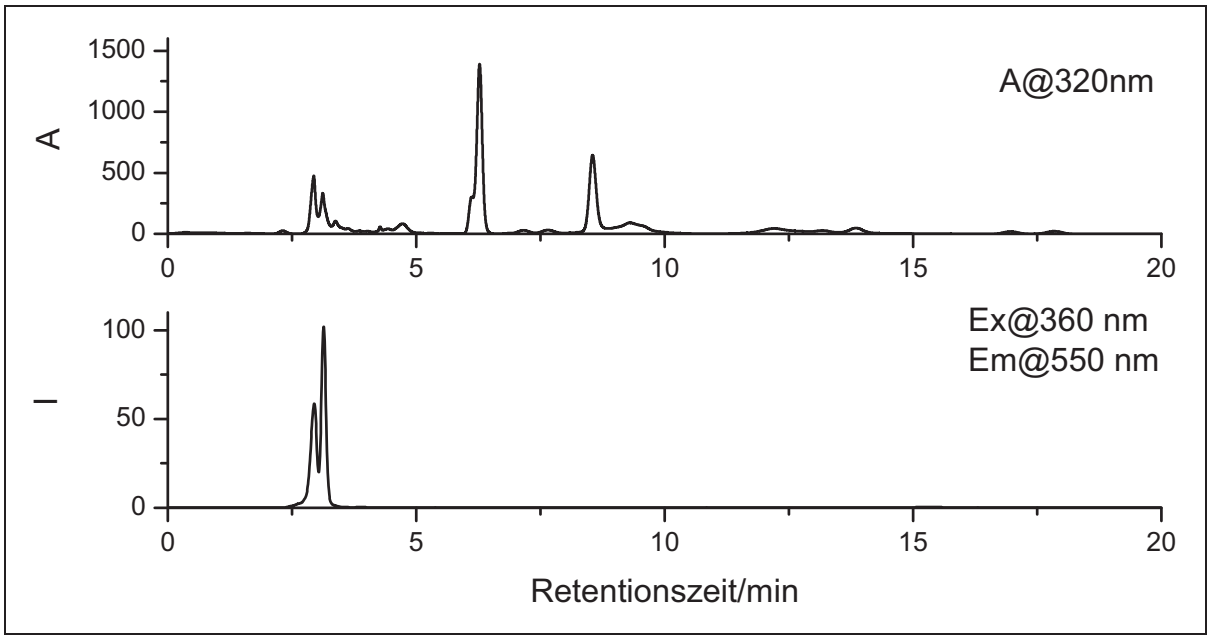


Abbildung 3.196: Laufspur vom Rohprodukt **BC04** in 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.0 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Bei einer Laufmittelzusammensetzung von 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3) und einer Flussrate von 2.0 ml/min sieht man, dass die fluoreszierenden Bichromophorfraktionen viel kürzere Retentionszeiten haben als die Verunreinigungen wie z. B. das Azobenol **AB11**. Daher wird zur Verringerung dieser unerwünschten Fraktionen zunächst die Rohproduktlösung über eine Filtersäule mit ODS-AQ Kieselgel und dieser Laufmittelmischung aufgereinigt. Es werden alle fluoreszierenden Fraktionen gesammelt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingeengt.
Eine HPLC-Untersuchung dieser Fraktion unter den obigen Bedingungen, aber einer Flussrate von 1.5 ml/min, zeigt, dass sich die Fraktionen mit höheren Retentionszeiten erfolgreich abtrennen ließen.

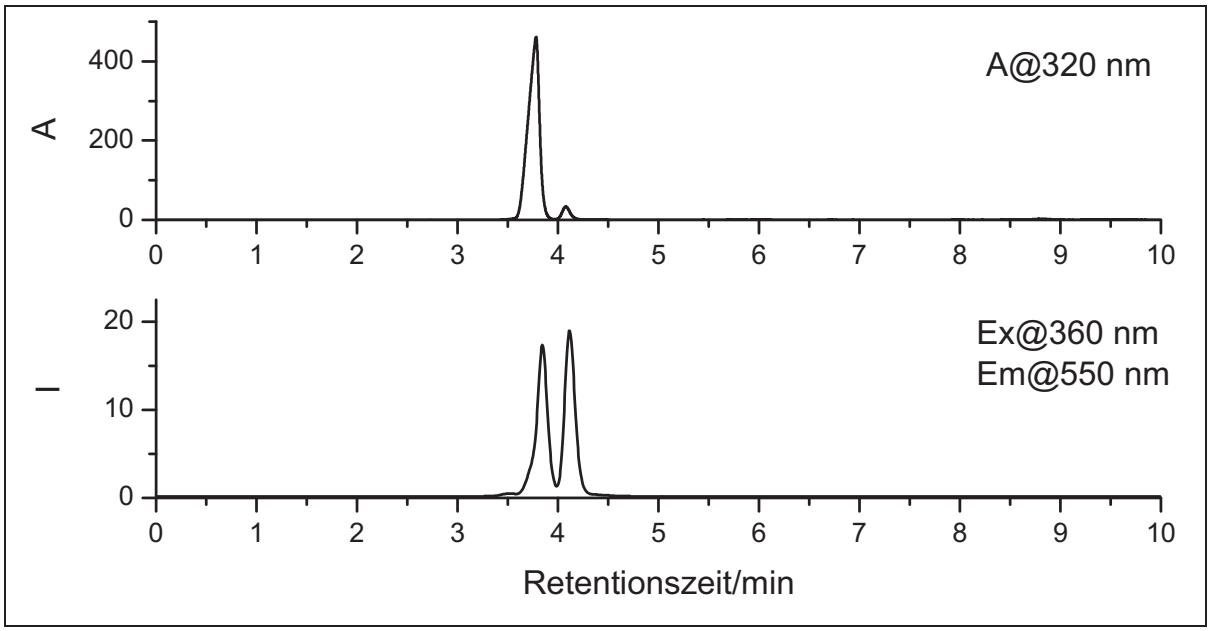


Abbildung 3.197: Laufspur vom Rohprodukt **BC04** in 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.5 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Betrachtet man die UV-Vis-Spektren der Signale (nicht abgebildet), so erkennt man, dass es bei dem ersten Signal mit t_R = 3.8 min primär um eine Azobenzolfraktion handelt. Da diese Fraktion allerdings auch fluoresziert, liegt hier eine Mischfraktion aus Bichromophor und Azobenzol vor. Auch eine Analyse des Signals mit Hilfe der HPLC-Software zeigt, dass es nicht rein ist. Es wird daher erneut eine Methodenentwicklung durchgeführt.

Bei einem Laufmittelgemisch von 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3) und einer Flussrate von 2.0 ml/min gelingt es, eine Bichromophorfraktion zu größeren Retentionszeiten heraus zu schieben. Es konnten keine Laufbedingungen ermittelt werden, unter denen alle Signale basislinienseparierte waren.

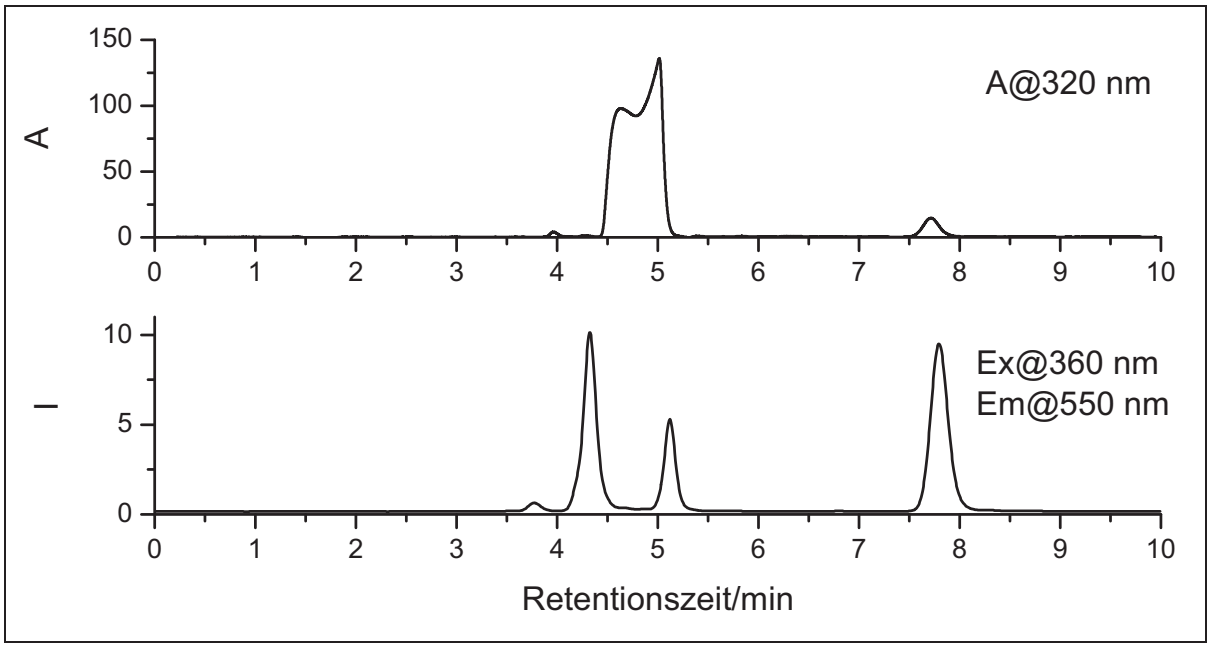


Abbildung 3.198: Laufspur vom Rohprodukt **BC04** in 70 % Methanol und 30 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.5 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wird daher unter diesen Laufbedingungen an der HPLC aufgereinigt. Die detaillierten HPLC-Einstellungen sind in der Versuchsbeschreibung aufgeführt. Die so erhaltene Lösung wird unter vermindertem Druck aufkonzentriert.

Reinheitskontrolle: Um die Reinheit des Bichromophors **BC04** zu überprüfen, wird die aufgereinigte Lösung abermals auf die HPLC aufgetragen. Als Laufmittel wird 90 % Methanol und 10 % Wasser/Trifluoressigsäure (pH = 3) gewählt. Die Flussrate beträgt 1.0 ml/min.

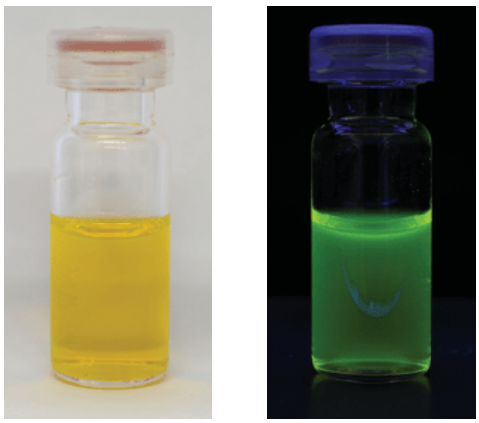


Abbildung 3.199: Methanolische Lösung von **BC04.**

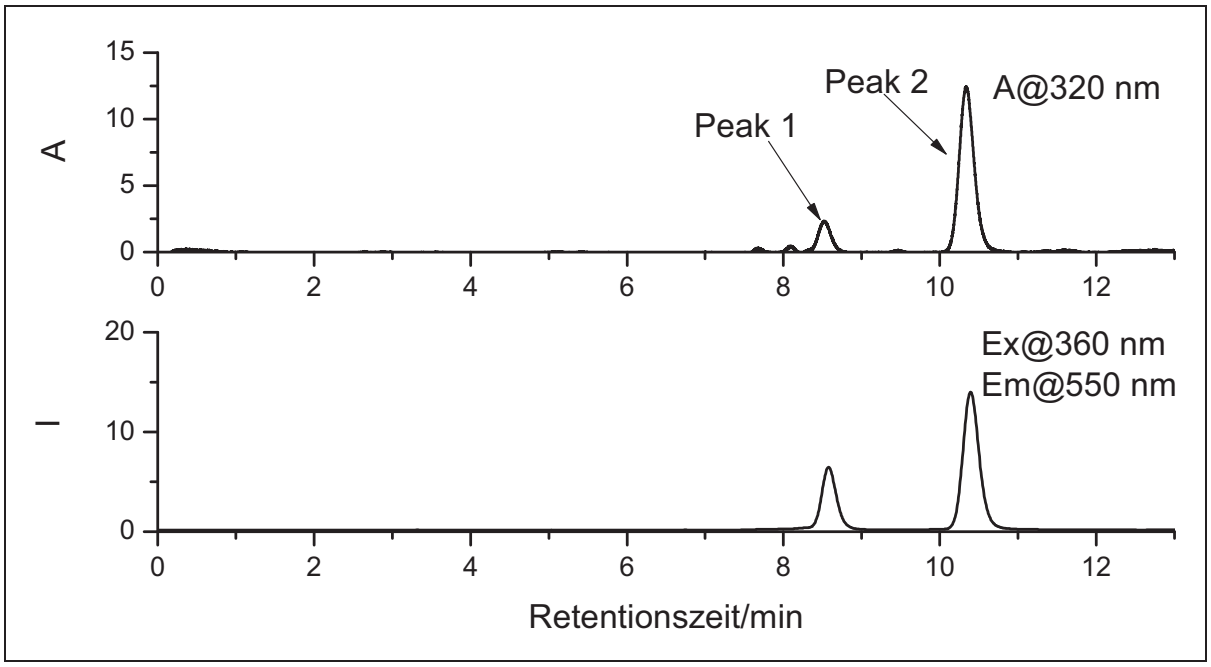


Abbildung 3.200: Laufspur von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Es werden zwei Fraktionen mit Retentionszeiten von 8.5 min bzw. 10.4 min beobachtet. Sie weisen die folgenden Spektren auf.

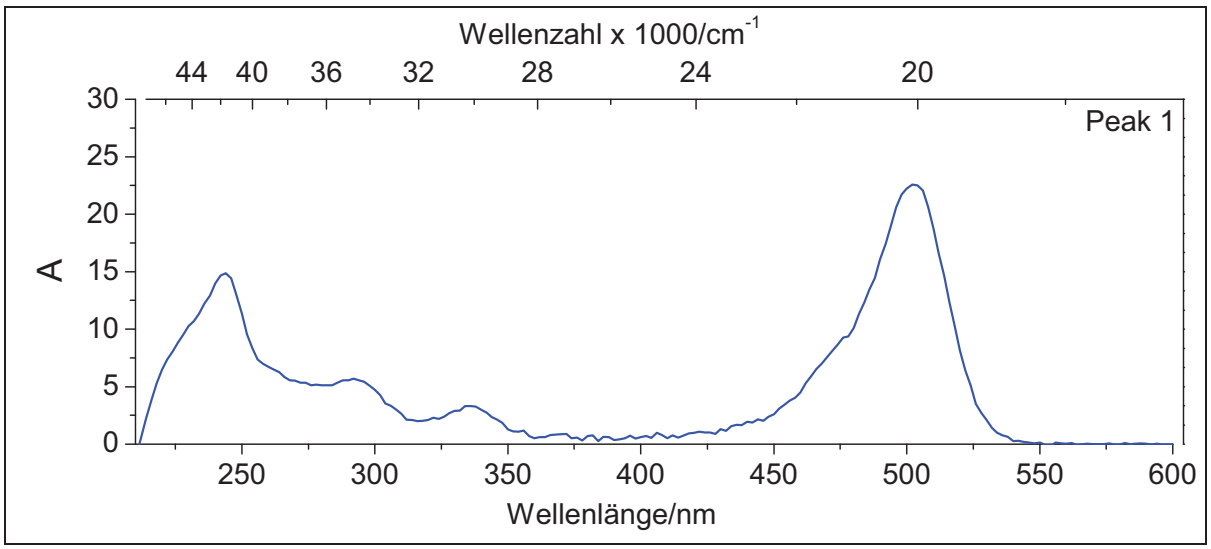


Abbildung 3.201: UV-Vis-Spektrum von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; **t_R = 8.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 244, 292, 334, 502 nm.

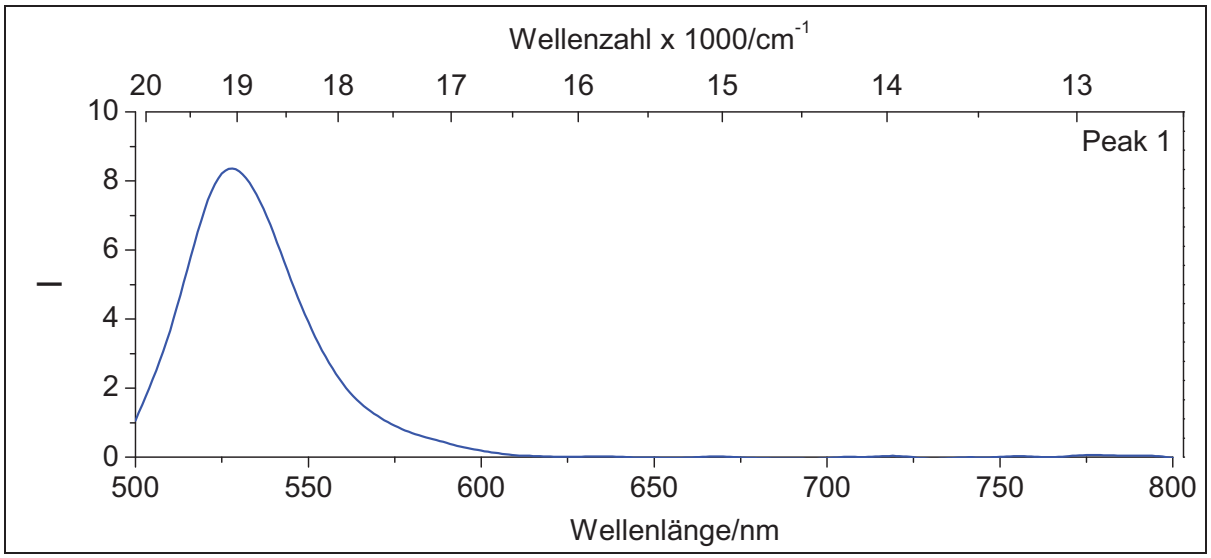


Abbildung 3.202: Fluoreszenzspektrum von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; **t_R = 8.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} (Ex@360 nm) = 528 nm.

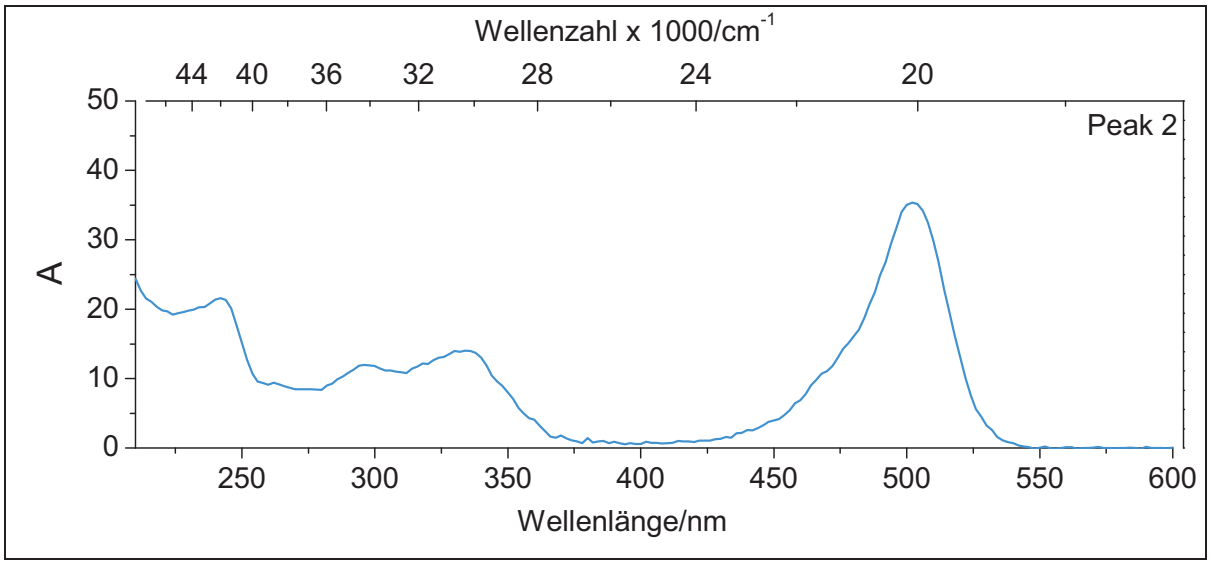


Abbildung 3.203: UV-Vis-Spektrum von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; **t_R = 10.4 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); λ_{max} = 242, 296, 334, 502 nm.

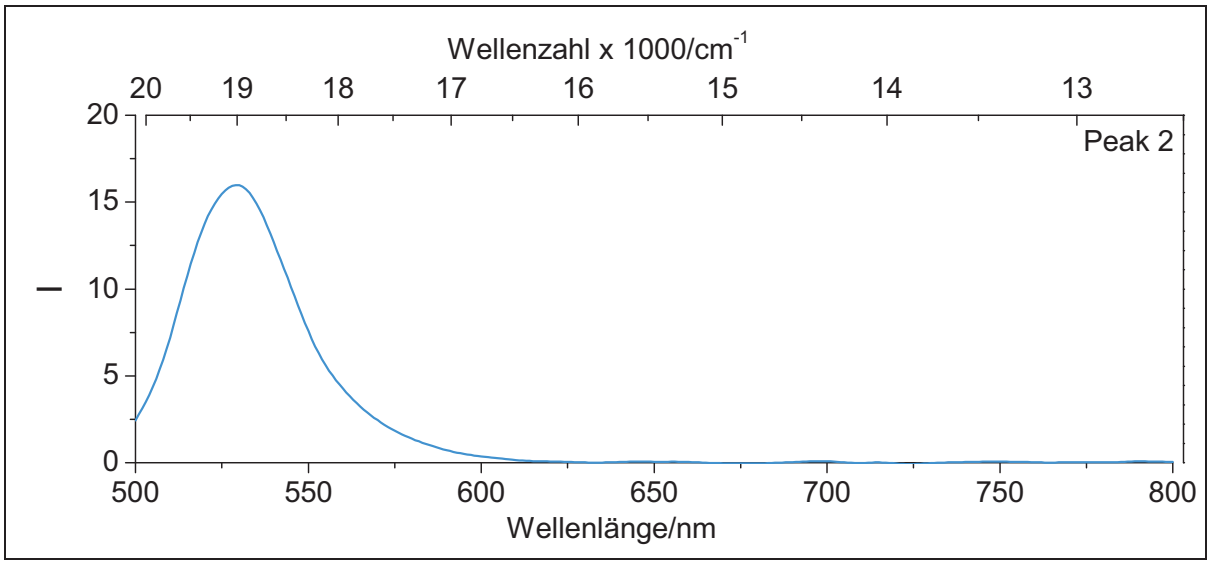


Abbildung 3.204: Fluoreszenzspektrum von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 10.4 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm); $\boldsymbol{\lambda_{max}}$ **(Ex@360 nm) = 529 nm**.

Um den Vergleich der UV-Vis-Spektren zu vereinfachen, werden sowohl die UV-Spektren der **BC04**-Fraktionen als auch des hydrolysierten Rhodaminbausteins **186** auf 1 normiert und in einen Graphen dargestellt.

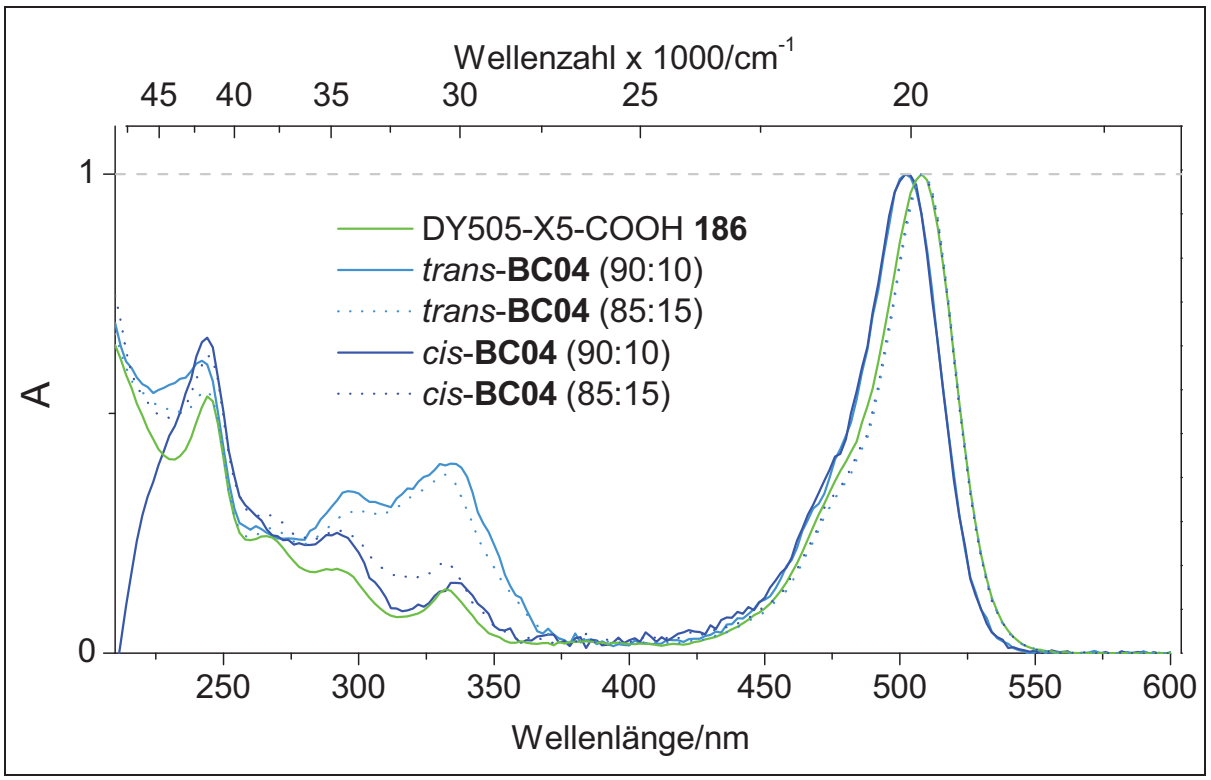


Abbildung 3.205: Normierte UV-Vis-Spektren von DY505-X5-COOH **186** (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3))***, cis-*** und ***trans*-BC04.**

Aufgrund der markanten Absorptionsbanden der Fraktion nach 10.4 min bei 296 und 334 nm (siehe Abbildung 3.205, hellblaue Kurve), die dem π→π* Übergängen entsprechen, handelt es sich hierbei um das *trans*-Isomer von **BC04**.
Die UV-Vis-Spektren des Rhodaminbausteins DY505-X5-COOH **186** und der Fraktion nach 8.5 min (siehe Abbildung 3.205, dunkelblaue Kurve) ähneln sich zu sehr um eine Zuordnung aus diesen spektroskopischen Daten zu treffen. Eine Analyse des Signals mit der HPLC-Software zeigt, dass es spektroskopisch rein ist. Es kann sich daher um das *cis*-Isomer des Bichromophor **BC04** handeln oder um abgespaltenes DY505-X5-COOH **186**.
Für das *cis*-Isomer sprechen folgende Gründe:

- Bei der Reinigung mittels HPLC wurde eine Fraktion mit einem spektroskopisch-reinen Signal abgetrennt.
- Alle bisher isolierten Bichromophore lagen als Isomerengemisch vor.
- Bei den Voruntersuchungen zum HPLC-Verhalten des Edukts DY505-X5-NHS-Ester **144** gelang es nicht dieses unter den hier verwendeten Trennbedingungen auf der HPLC zum Laufen zu bringen.
- Kein Azobenzol ist in dieser Fraktion zu beobachten.

Es wird ein MALDI-Massenspektrum der Lösung gemessen, um auszuschließen, dass in der Lösung Edukte bzw. ihre Hydrolyseprodukte wie:

- DY505-X5-NHS-Ester **144** (M = 585.2 g/mol)
- DY505-X5-COOH **186** (M = 488.51 g/mol)
- Azobenzol **AB11** (M = 211.3 g/mol)

vorliegen.

MS: m/z = 681.3 (M^+, ~1200 ≡ 100 %), 682.3 (M^++1, ~500 ≡ 42 %), 683.3 (M^++2, ~150 ≡ 12 %).

Im gemessenen Spektrum sind keine Massensignale, die den M^+-Fragmenten dieser Substanzen zugeordnet werden könnten. Es zeigt, dass es sich bei dieser Lösung um ein *cis-/trans*-Isomergemisch des Bichromophors **BC04** (M = 681.3 g/mol) handelt.

3.10.5 FCS-Messungen an Bichromophoren

Leistungsabhängige FCS-Messungen am Bichromophor **BC03** wurden in Kooperation mit *D. Pfiffi* sowohl in luftsauerstoffhaltigem und in entgastem Ethanol durchgeführt.[44, 105] Als Referenz dienen Rhodamin 123 (**54**) und Rhodamin 110 (**1**).

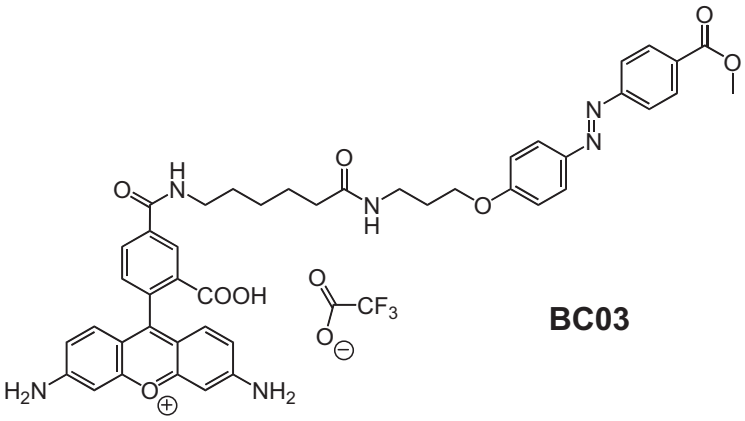


Abbildung 3.206: Struktur vom Bichromophor **BC03.**

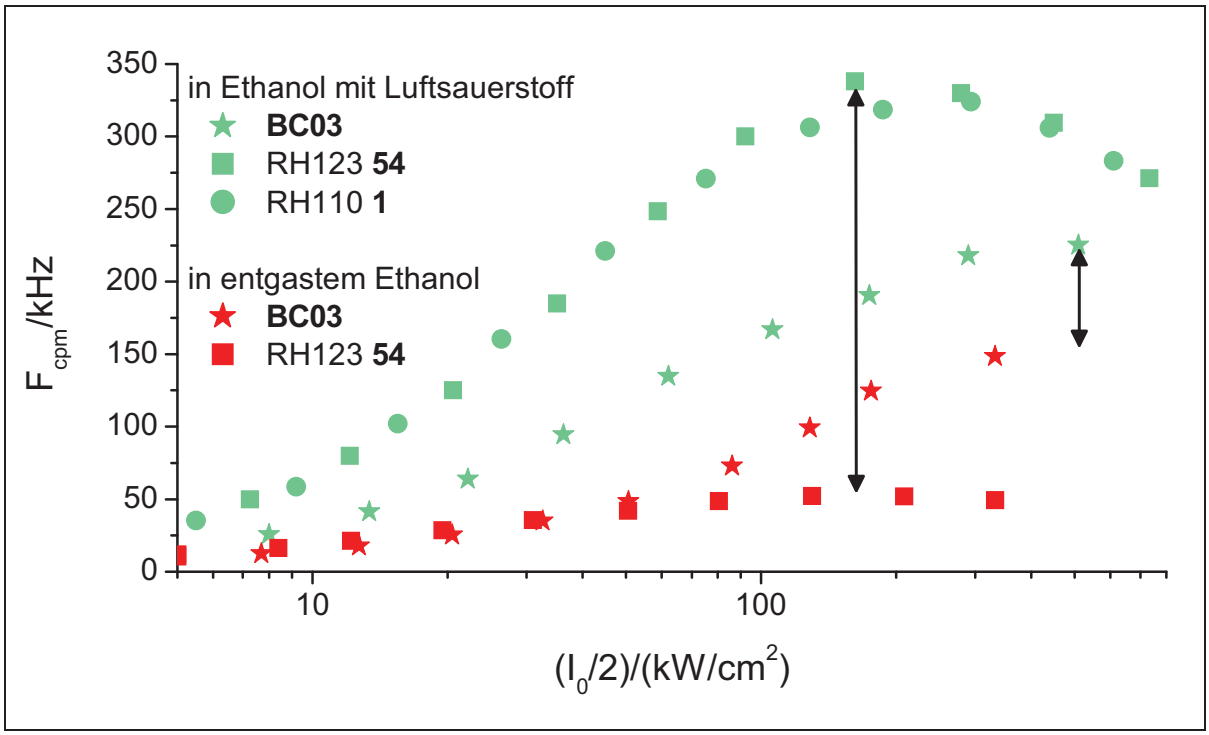


Abbildung 3.207: Fluoreszenzzählrate pro Molekül (F_{cpm}) vom Bichromophor **BC03**, Rhodamin 123 (**54**) und Rhodamin 110 (**1**) in luftsauerstoffhaltigem und entgastem Ethanol.[105]

Vergleicht man die Fluoreszenzzählraten für den Bichromophor **BC03** in Ethanol mit (rot) und ohne Luftsauerstoff (grün) so erkennt man, dass die Fluoreszenz des Bichromophors **BC03** in Gegenwart von Sauerstoff etwas höher ist als in der entgasten Lösung. Dieser Effekt ist auch beim Rhodamin 123 (**54**) zu beobachten

(siehe Abbildung 3.207, eckige Messpunkte). Hier ist die Intensitätsabnahme durch den Sauerstoffmangel noch ausgeprägter.

Durch den Vergleich der Kurvenmaxima ist jedoch in beiden Fällen eine höhere Photostabilität des Bichromophors **BC03** in der Relation zu den nackten Rhodaminfarbstoffen **54** und **1** zu sehen (Verschiebung der Maxima zu höheren Energien).

Im entgasten Ethanol weist der Bichromphor **BC03** eine erhöhte Fluoreszenzzählrate im Vergleich zum Rhodamin 123 (**54**) auf. Ein Vergleich der Triplettamplituden (siehe Abbildung 3.208) zeigt, dass diese Fluoreszenzsteigerung im Bichromophor **BC03** darauf zurückzuführen ist, dass der langlebige, nicht fluoreszierende Triplettzustand weniger populiert wird (siehe Abbildung 3.208).

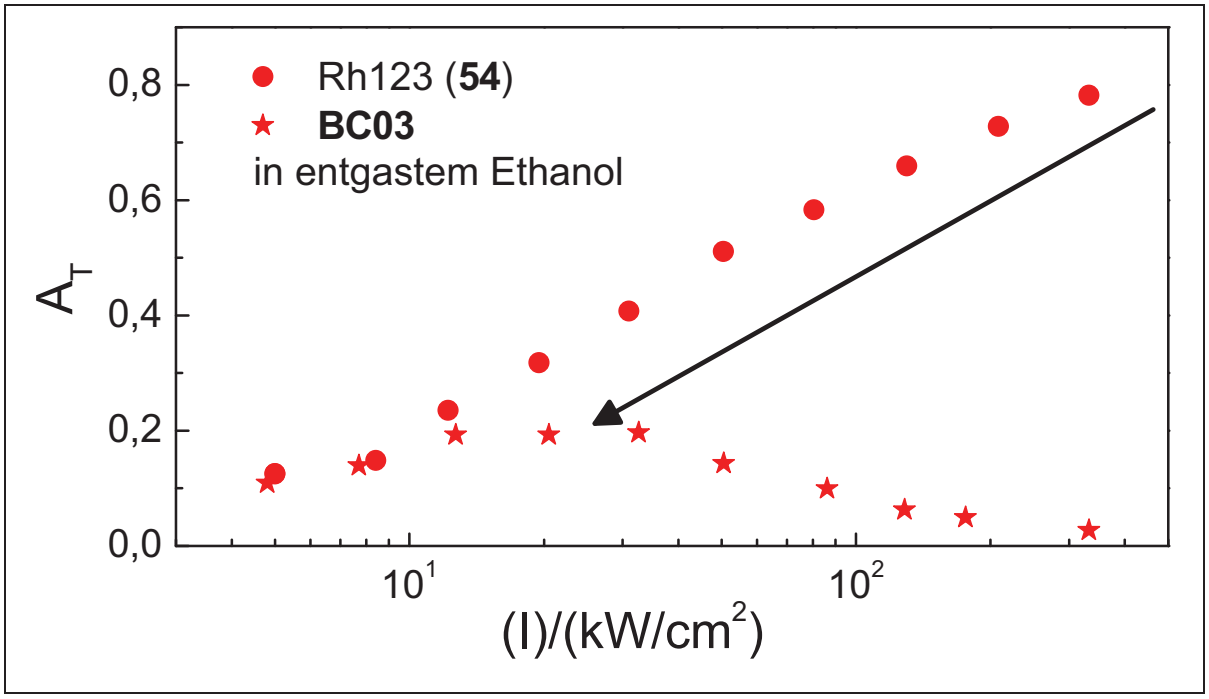


Abbildung 3.208: Triplettamplitude (A_T) vom Bichromophor **BC03** und Rhodamin 123 (**54**) in entgastem Ethanol.[105]

Diese Beobachtung erklärt auch die Zunahme der Fluoreszenz, sowohl für den Bichromophor **BC03** als auch des Rhodamin 123 (**54**), in Gegenwart von Sauerstoff. Der Grundzustand von Sauerstoff ist ein Triplettzustand. Dies macht ihn zu einem potentiellen Triplettquencher. Weiterhin ist er als Oxidationsmittel in der Lage reduzierte radikalkationische Formen der Fluorophore, die sich im Laufe der Bestrahlungen durch die hohen Laserleistungen gebildet haben, zurück in den

Ausgangszustand zu oxidieren. Beides führt zu einer Steigerung des Fluoreszenzsignals.

In ethanolischen Lösungen, die noch den gelösten Luftsauerstoff enthalten (siehe Abbildung 3.207), weist der Bichromophor **BC03** (blau Sterne) eine geringere Fluoreszenzzählrate als die reinen Rhodaminfarbstoffe (blaue Vierecke bzw. Kreise) auf. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den Untersuchungen in entgastem Ethanol, wo der Bichromophor **BC03** die größere Fluoreszenz zeigte. Diese Abweichung ist vermutlich auf Redoxreaktionen zwischen dem Rhodamin und Azobenzol im Bichromophor zurück zu führen.

Ein Vergleich der Redoxpotentiale des Azobenzols **AB16** (E_{ox} = 1.34 V, E_{red} = -0.96 V, siehe Tabelle 3-11**)**, welches als Modellverbindung für die Azobenzoleinheit im Bichromophor **BC03** dienen kann, und von Sauerstoff (E_{red} = -0.82 V) [137] mit denen von Rhodamin123 (**54**) (E_{ox} = 1.15 V, E_{red} = -0.61 V) und seinen angeregten Zuständen S_1 und T_1 ($E_{ox}(S_1)$ = -1.17 V, $E_{ox}(T_1)$ = -0.75 V, $E_{red}(S_1)$ = 1.71 V, $E_{red}(T_1)$ = 1.29 V) lässt abschätzen welche Redoxprozesse exergonisch sind und ablaufen können. Das Azobenzol **AB16** kann den angeregten S_1-Zustand und den T_1-Zustand des Rhodamin 123 (**54**) reduzieren. Gelöster Sauerstoff kann die angeregten S_1- und T_1-Zustände oxidieren.

AB16

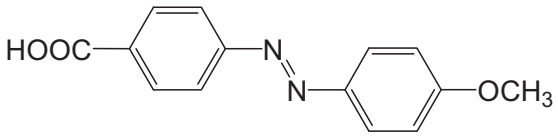


Abbildung 3.209: Struktur des Azobenzols **AB16.**

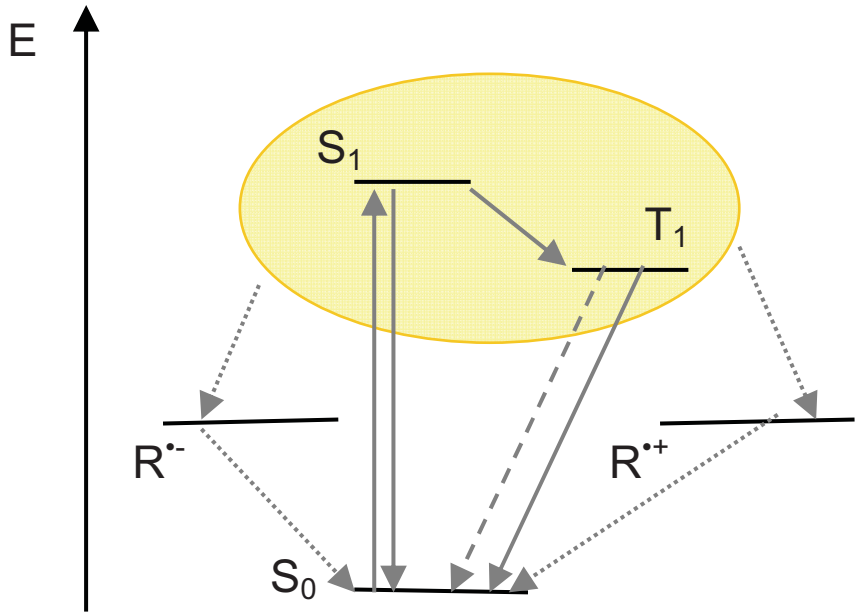


Abbildung 3.210: Schema möglicher Übergänge von Rhodamin 123 (**54**) in Gegenwart von Azobenzol **AB16** und gelöstem Luftsauerstoff. Durchgezogene Pfeile stellen die regulären Anregungs- und Desaktivierungprozesse dar, die gestrichelte Pfeile die Löschprozesse via Energietransfer und die gepunkteten Pfeile Redoxprozesse.

Anhand der gewonnen Erkenntnisse über mögliche Redoxprozesse lässt sich die größere Fluoreszenzrate des nackten Rhodamins 123 (**54**) in Gegenwart von Sauerstoff im Vergleich zum Bichromophor nicht erklären. Allerdings handelt es sich bei diesen Annahmen um Abschätzungen. Versuche von *Heilemann et al.* zur Blinkkinetik von Rhodaminfarbstoffen zeigen auch, dass Sauerstoff in der Probenlösung sehr wohl den metastabilen Radikalanionzustand des Farbstoffs zurück in den Ausgangszustand oxidieren kann.[138] Auch eine deutliche Abnahme der Triplettamplitude des Bichromophors **BC03** ab einer Laserleistung von ca. 100 kW/cm^2 trotz weiter steigender Fluoreszenz (siehe Abbildung 3.207) ist zu beobachten. Versuche von *D. Pfiffi*, die Fluoreszenzabklingkurven mathematisch zu beschreiben, haben gezeigt, dass für diese Beschreibung drei charakteristische Abklingzeiten notwendig sind.[105] Dies zeigt, dass es mindestens drei Populationen an Bichromophor gibt, die ein unterschiedliches Fluoreszenzverhalten zeigen. Weiterhin vermutet *D. Pfiffi* aufgrund des hydrophoben Charakters der Bichromophore die Bildung Bichromophoraggregate mit hohem Charge-Transfer-Charakter, die vermehrt zu intramolekularen Redoxreaktionen führen.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass das Prinzip des Triplettenergietransfers vom Rhodaminchromophor auf die Azobenzoleinheit als interner Quencher in einem Bichromophor funktioniert. Auch eine Steigerung der Photostabilität kann durch das kovalent angebundene Azobenzol gesteigert werden. Allerdings gibt es weitere Prozesse unbekannter Natur, die in Gegenwart von Sauerstoff zu einer Fluoreszenzlöschung im Vergleich zum nackten Rhodaminfarbstoff führen. Die Klärung dieser Zusammenhänge erfordert weitere Untersuchungen, die am Institut für Physikalische Chemie mit diesen und anderen hier synthetisierten Bichromophoren durchgeführt werden.

4 Zusammenfassung

4.1 Entwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds*

In der organischen Synthese finden photolabile Schutzgruppen als Teile von *caged Compounds* seit den 60er Jahren des 19. Jahrhunderts Verwendung.[4-6] Seitdem sind eine Reihe von unterschiedlichsten photolabilen Schutzgruppen für dieses Forschungsgebiet entwickelt worden (siehe Kapitel 2.1). Besonderes Aufmerksamkeit liegt auf oberhalb 300 nm absorbierender Verbindungen. Gewebeschäden durch energiereiche Strahlung an biologischen Proben werden so vermieden. Durch die Einführung elektronenschiebender Substituenten an der weitverbreiteten *o*-Nitrobenzyl-*Caging*gruppe (**7**) wurde dieses Ziel erreicht. So weist z. B die 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylgruppe **MDNB** (**15**) durch die Methylendioxyeinheit ein bathochromes Absorptionsverhalten auf (siehe Abbildung 2.6).

Durch Donoren wird die Bathochromie erhöht, jedoch sinkt die Quantenausbeute merklich (siehe Tabelle 2-1). Das Design einer neuen *Caging*gruppe mit verbesserten Eigenschaften war ein Ziel dieser Arbeit. So wurde auf der Basis der vorhandenen Kenntnisse aus mechanistischen Studien an *caged Compounds* vom **NB**- (**7**) und **MDNB**- (**15**) Typ die 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzylgruppe **MDdiNB** (**21**) entworfen (siehe Kapitel 2.2 und Abbildung 4.1).

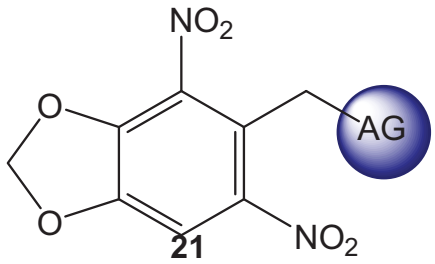
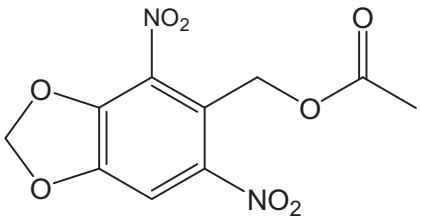


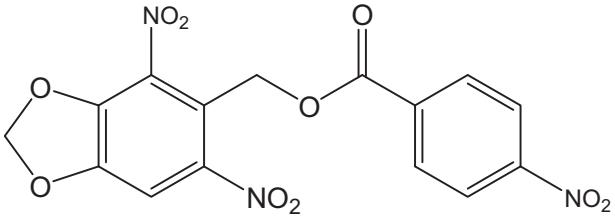
Abbildung 4.1: Struktur der **MDdiNB-**Schutzgruppe **21**.

Zur Darstellung von Modellverbindungen für *caged Compounds* vom **MDdiNB**-Typ (**21**) wurde erfolgreich eine Synthesestrategie entwickelt. Nach dieser Strategie wurden im Rahmen dieser Arbeit die beiden *caged Compounds* **CC03** und **CC04** mit der neuen **MDdiNB**-Schutzgruppe hergestellt.



(3,4-Methylendioxy-2,6-dinitrobenzyl)-acetat (**CC03**)

MDdiNB-Ac



(3,4-Methylendioxy-2,6-dinitrobenzyl)-4-nitrobenzoat (**CC04**)

MDdiNB-Bz

Abbildung 4.2: Im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte *caged Compounds* **CC03** und **CC04** mit einer **MDdiNB**-Schutzgruppe.

Zum Vergleich der photophysikalischen Eigenschaften dieser neuen Schutzgruppe **21** mit etablierten *Caging*gruppen wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Bibliothek von sechs Referenzverbindungen mit **NB**- (**7**) und **MDNB**- (**15**) Schutzgruppen synthetisiert. Weiterhin wurden Referenzverbindungen für die drei Abgangsgruppen hergestellt, um ihren Einfluss auf die Abbaugeschwindigkeiten und Quantenausbeuten zu ermitteln.

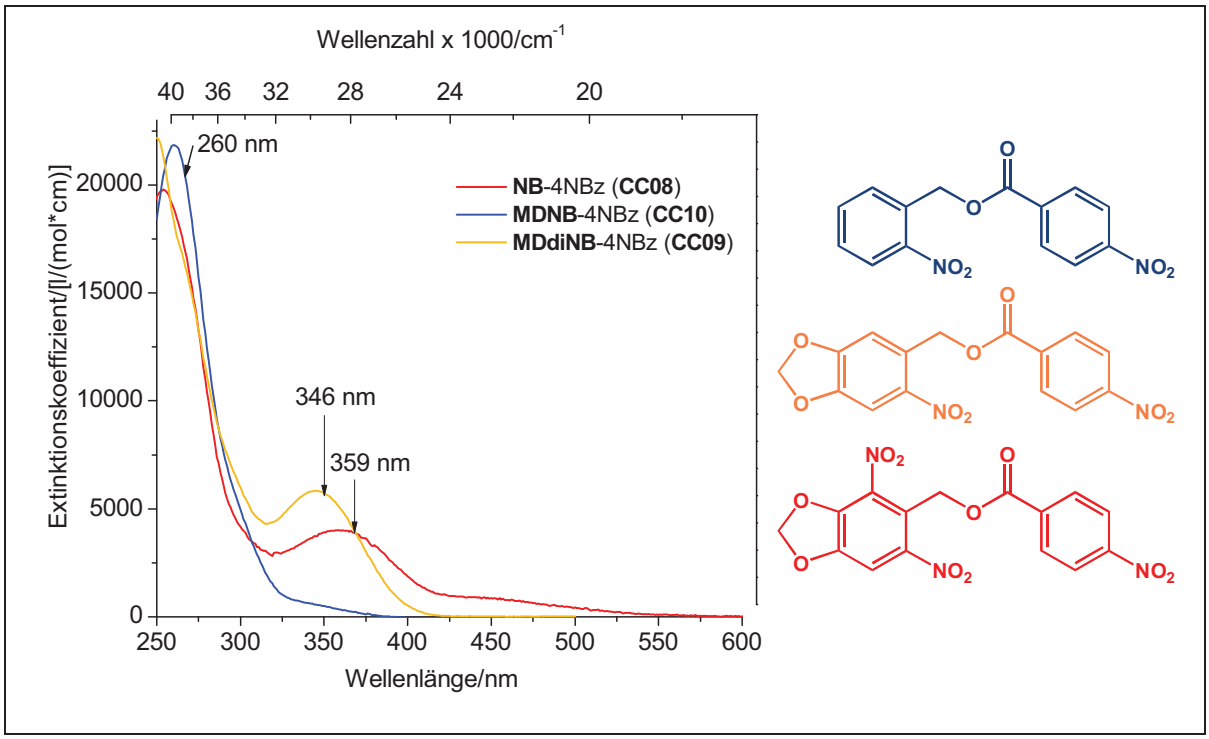


Abbildung 4.3: UV-Vis-Spektren der photolabil geschützten Nitrobenzoate **NB**-4NBz (**CC08**), **MDNB**-4NBz (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) in Acetonitril.

Die gemessenen UV-Spektren bestätigen, dass die neue **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) bathochromer als die Referenz*caging*gruppen **NB** (**7**) und **MDNB** (**15**) absorbiert. Als Beispiel sind hier in Abbildung 4.3 die UV-Spektren der entsprechenden 4-Nitrobenzoate gezeigt (siehe auch Abbildung 2.23).

Das Abbauverhalten wurde durch die Bestrahlung und anschließende Analytik mittels NMR und HPLC von Lösungen der *caged Compounds* untersucht. Als Strahlungsquellen wurden eine Gräntzelapparatur mit verschiedenen Phosphoreszenzfiltern und eine LUMOS43 mit Dioden unterschiedlicher Wellenlängen verwendet. Um reproduzierbare Photolysebedingungen zu schaffen, wurde der Strahlungsquellenaufbau u. A. durch neue Probenhalter adaptiert. Durch Bestrahlungen mit Licht der Wellenlängen 255, 350, 360 und 405 nm konnte die Photolyse unter verschiedenen Versuchsbedingungen untersucht werden.
Zur Interpretation der beobachteten Abbaugeschwindigkeiten und Quantenausbeuten der Verbindungen wurden die Strahlungsquellen eingehend anhand der Emissionsspektren und Anzahl der emittierten Photonen charakterisiert (siehe Kapitel 6.2).
Es konnte gezeigt werden, dass die neue photolabile Schutzgruppe **MDdiNB** (**21**) bei der Bestrahlung mit energiearmem Licht viel schneller abspaltet, als bei den Referenzschutzgruppen (siehe Abbildung 4.4).

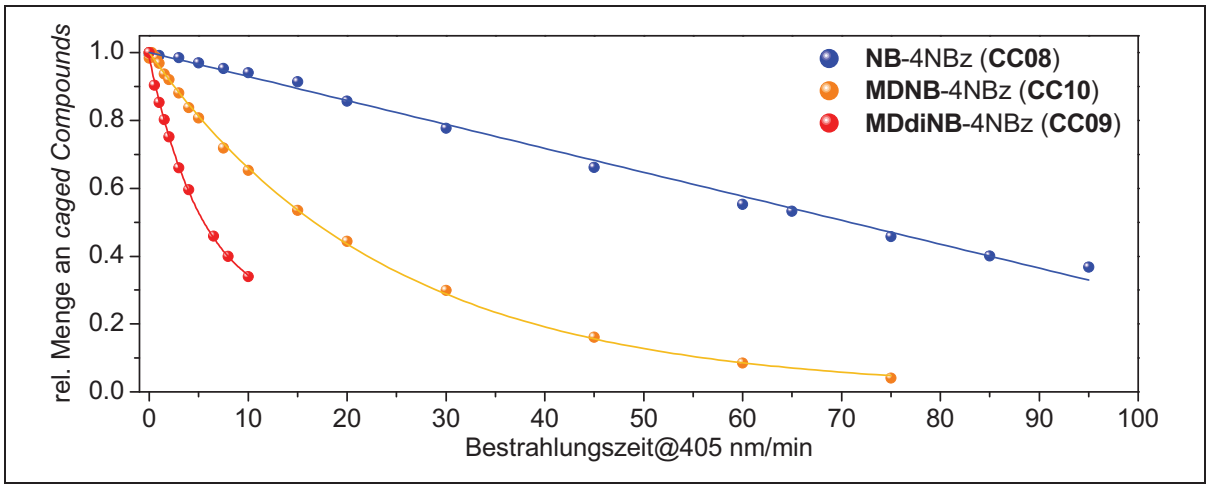


Abbildung 4.4: Auftragung der relativen Menge der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate gegen die Bestrahlungszeit in min in der LUMOS 43 bei 405 nm.

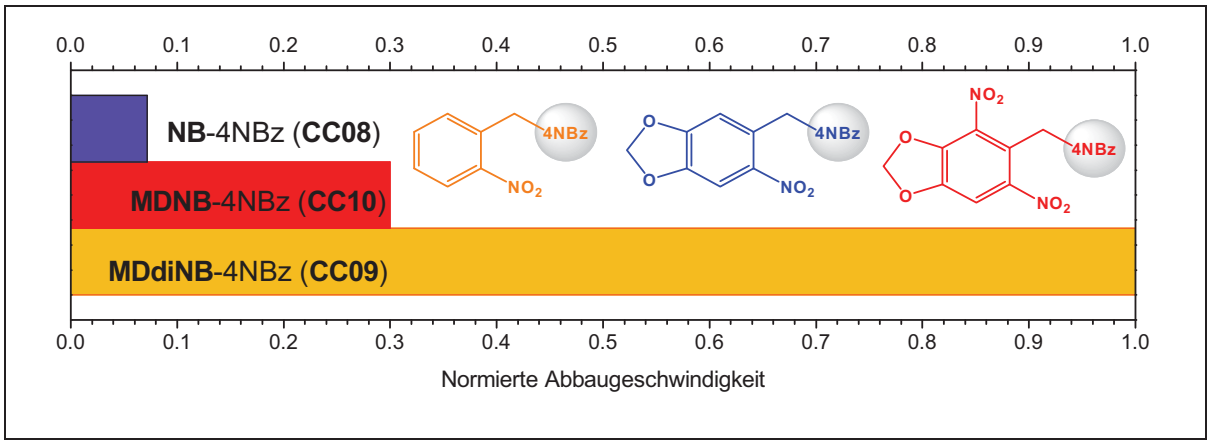


Abbildung 4.5: Normierte Abbaugeschwindigkeiten der *caged* 4-Nitrobenzoate.

Bei einer Bestrahlungswellenlänge von 405 nm wurde die Abgangsgruppe, die mit der **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) versehen war, dreimal schneller freigesetzt als das entsprechende **MDNB**-Derivat (**CC10**). Im Vergleich zur gängigen *o*-Nitrobenzylgruppe sogar um einen Faktor 14 schneller. (siehe Abbildung 4.5)

Die Quantenausbeute der **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) wurde auf Φ_{MDdiNB} = 0.06 bestimmt und sie ist somit nur etwas mehr als halb so groß ist wie die der **NB**- und **MDNB**-Verbindungen (siehe Kapitel 2.9). Allerdings kann sie bei Bestrahlungen mit Licht bis 400 nm effektiv eingesetzt werden, da die Photolyseeffizienz proportional zu $\Phi \cdot \varepsilon$ ist und die **MDdiNB**gruppe (**21**) auch in diesem längerwelligen Bereich noch ausreichend hohe Extinktion aufweist. Diese Schutzgruppe zeigt sogar noch geringe Absorbanz bis 510 nm (siehe Abbildung 4.3), so dass bei ausreichender Lichtintensität auch bis 500 nm Verbindungen dieses Typs noch photolysiert werden können. Bei diesen Wellenlängen sind Wechselwirkungen mit biologischem Material bei *Uncaging*experimente auszuschließen.

Daher stellt diese *Caging*gruppe ein neues Werkzeug für die *Caging*technik dar und bereichert mit seinem bathochromen Absorptionsprofil die bisherige Auswahl an photolabilen Schutzgruppen.

4.2 Entwicklung von Chromophorsystemen als Fluoreszenzsonden



COT1



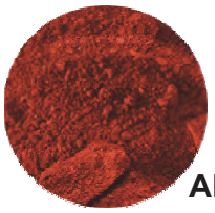
DPD02



DPH14



DPH27



AB04

Abbildung 4.6: Ausgewählte Beispiele der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Quencher.

Ein Ziel dieser Arbeit war die Steigerung der Photostabilität und Fluoreszenzzählraten von Fluoreszenzfarbstoffen, die in einzelmolekülspektroskopischen Studien Verwendung finden. Dies sollte durch die gezielte Löschung des ersten angeregten Triplettzustandes des Farbstoffs geschehen (siehe Kapitel 3.5). Dabei soll dieser Quenchvorgang durch einen Dexterenergietransfer erfolgen, ohne unerwünschte Löschung des ersten angeregten Singulettzustands.

Daher wurden aufgrund physiko- und photochemischer Überlegungen potentielle Quencherklassen für Rhodaminfarbstoffe ausgewählt und eine Bibliothek von Triplettquenchern bestehend aus

- 6 Cyclooctatetraenderivaten (**COT**)
- 2 Diphenyldecaenderivaten (**DPD**)
- 29 Diphenylhexatrienderivaten (**DPH**) und
- 22 Azobezolderivaten (**AB**)

synthetisiert (siehe Abbildungen 4.6 und 4.7).

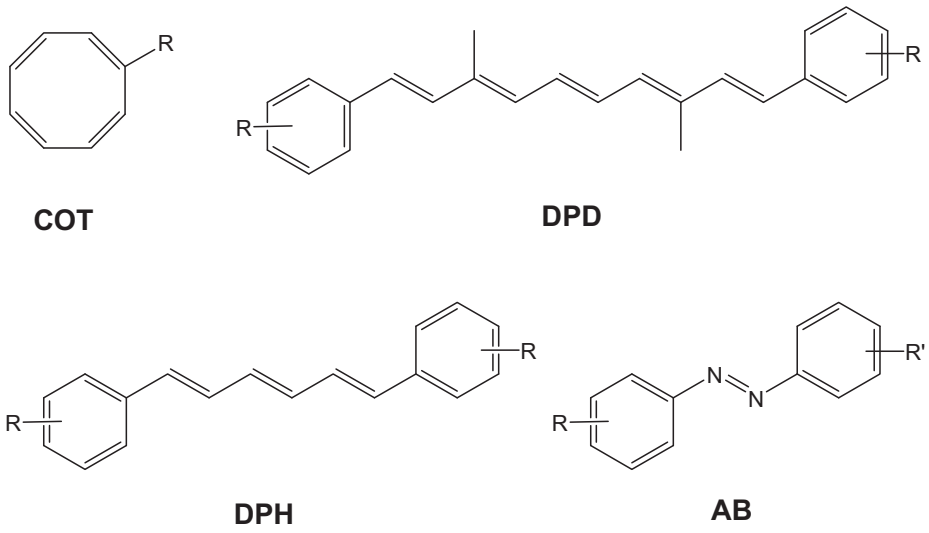


Abbildung 4.7: Allgemeine Strukturen der in dieser Arbeit synthetisierten Quencherklassen: Cyclooctatetraene (**COT**), Diphenyldecapentaene (**DPD**), Diphenylhexatriene (**DPH**) und Azobezole (**AB**).

Ausgewählte Vertreter dieser Verbindungsbibliotheken wurden auf ihre Eignung als Triplettquencher untersucht. Dabei lag der Schwerpunkt des Interesses auf der Bestimmung von Übergangsenergien und Redoxpotentialen und deren Korrelation zu den Ergebnissen der FCS-Messungen. Dabei haben sich sowohl Cyclooctatetraen-, Diphenylhexatrien- und Azobezolderivate haben sich als geeignet erwiesen.

COT: Zur Darstellung der Cyclooctatetraene wurde eine photochemische Synthesestrategie gewählt (siehe Kapitel 3.9.1.1). So gelang es Derivate im Gramm-Maßstab herzustellen. FCS-Untersuchungen an Rhodamin 123 (**54**) haben gezeigt, dass die COT-Carbonsäure **COT01** gut als Triplettlöscher geeignet ist (siehe Kapitel 3.9.1.3). So gelang es, die Fluoreszenzzählrate zu verdoppeln und die Photostabilität zu erhöhen (siehe Abbildung 4.8).

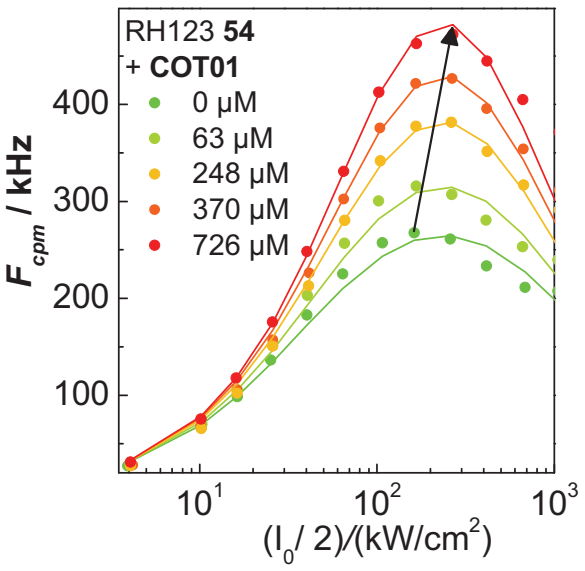


Abbildung 4.8: Fluoreszenzrate von Rhodamin 123 (**54**) mit **COT01** unterschiedlicher Konzentration.

DPH: Die Diphenylhexatriene wurden meist durch eine doppelte Wittig-Horner-Emmons Reaktion aus benzaldehydischen Endgruppen und dem Bisphosphonat **105** als Kettenbaustein aufgebaut. So gelang es eine Bibliothek von Derivaten mit unterschiedlichsten Substituenten zu synthetisieren. Der Einfluss dieser Gruppen auf die Redoxpotentiale wurde untersucht (siehe Kapitel 3.9.3.2) und es konnte eine Korrelation zu den Hammett-Koeffizienten erarbeitet werden (siehe Abbildung 4.9).

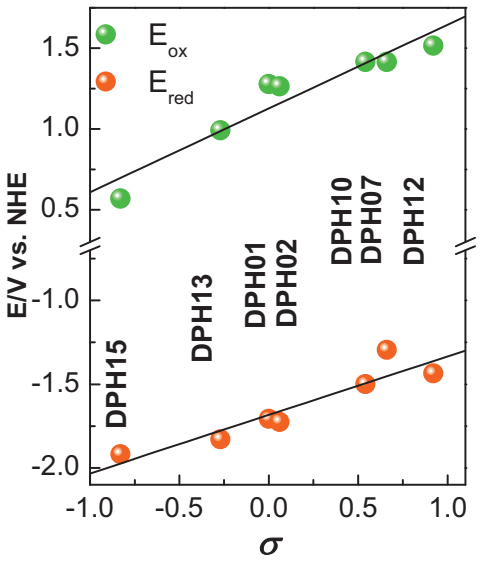


Abbildung 4.9: Auftragung der Redoxpotentiale ausgewählter DPH-Derivate gegen die Hammett-Koeffizienten ihrer Substituenten.

Zur Abschätzung der Übergangsenergien wurden UV- und Fluoreszenzspektren gemessen und eingehend studiert (siehe Abbildung 4.10). Für die Triplettanregungsenergien wurden quantenmechanische Rechnungen in Kooperation mit C. Marian durchgeführt.

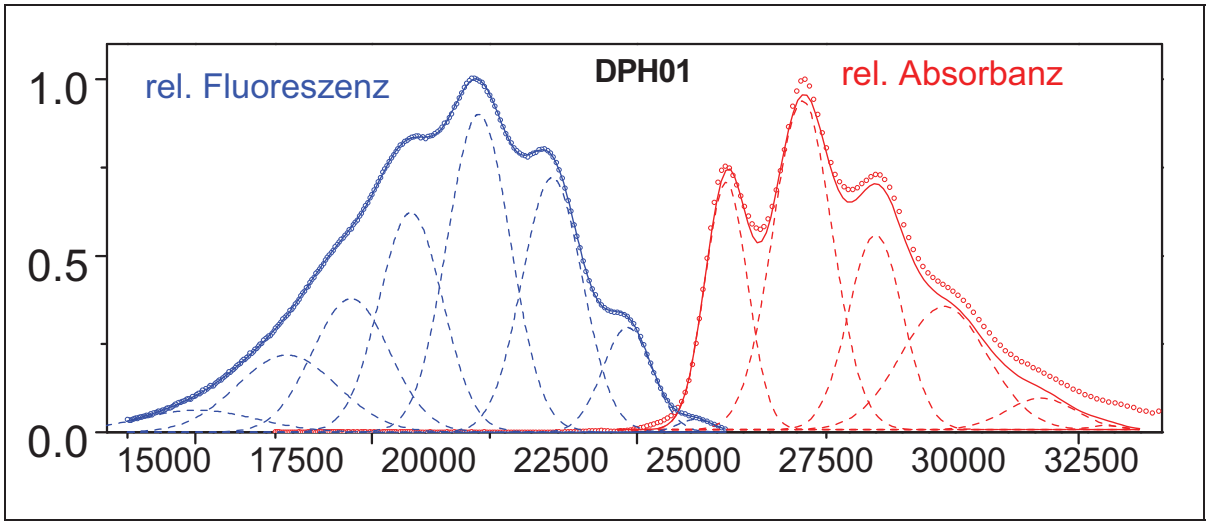


Abbildung 4.10: Absorptions- (rot) und Fluoreszenzspektrum (blau) von **DPH01** gemessen in THF (Kreise) mit multi-Gauss Analyse zur Bestimmung der einzelnen Bandenlagen (gestrichelt). Die durchgezogene Linie gibt den Gesamtfit wieder.

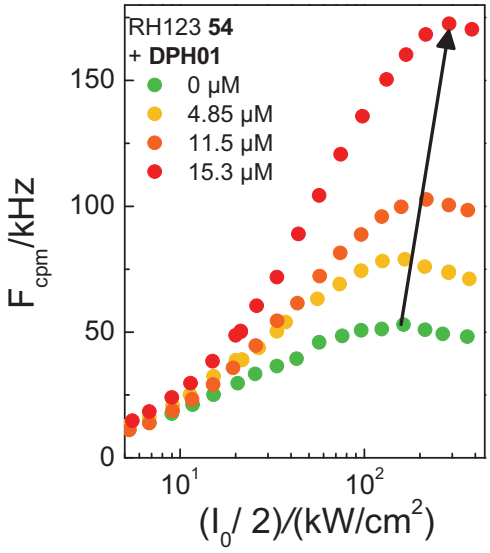


Abbildung 4.11: Fluoreszenzzählrate von Rhodamin123 (**54**) mit **DPH01** in unterschiedlichen Konzentrationen.

FCS-Untersuchungen mit Diphenylhexatrienderivaten haben gezeigt, dass auch Vertreter diese Verbindungsklasse Triplettquencher für Rhodamin 123 (**54**) sind (siehe Kapitel 3.9.3.4). So gelang es z. B. durch die Zugabe von **DPH01** die Fluoreszenzzählrate um mehr als das dreifache zu steigern (siehe Abbildung 4.11) und die Photostabilität zu erhöhen (Verschiebung des Kurvenmaximums zu höheren Energien).

Ein Vergleich mit den in diesem Kapitel abgebildeten FCS-Messungen an Rhodamin 123 (**54**) mit der COT-Carbonsäure **COT01** lässt erkennen, dass im Falle der Diphenylhexatriene viel geringere Quencherkonzentrationen (1/50) eingesetzt wurden. Grund dafür ist die eingeschränkte Löslichkeit dieser Verbindungen in Puffer- und ethanolischen Lösungen (siehe auch Abbildung 3.79).

AB: Zur Darstellung der Azobenzole wurden zwei Synthesestrategien verfolgt. Zum einem wurden **AB** über die klassische Diazotierung eines Anilinderivats mit anschließender Azokupplung an elektronenreichen Aromaten hergestellt. Zum anderen wurde Nitrosobenzol mit primären, aromatischen Aminen kondensiert. Diese Herangehensweise hat den Vorteil, dass auch elektronenarme Aromaten umgesetzt werden können. Man erhält einseitig substituierte Azobenzole (siehe Kapitel 3.9.4.1).
Die Singulettanregungsenergien wurden aus den UV-spektroskopischen Daten ermittelt (siehe Kapitel 3.9.4.3). Eine mögliche Fluoreszenzlöschung, bedingt durch einen Singulett-Singulett Energietransfer zwischen dem angeregten Fluoreszenzfarbstoff und einem zugesetzten Azobenzol, konnte so im Vorfeld ausgeschlossen werden.
Aus den cyclovoltametrisch bestimmten Redoxpotentialen ausgewählter Azobenzole (siehe Kapitel 3.9.4.2) lässt sich ableiten, dass zur Vermeidung von Redoxreaktionen mit dem angeregten Fluoreszenzfarbstoff RH123 **54** Azobenzolderivate ohne Substi-

tuenten oder mit schwach elektronenschiebenden bzw. –ziehenden Substituenten als Quencher eingesetzt werden sollten.

FCS-Untersuchungen an Rhodamin 123 (**54**) mit **AB03** haben gezeigt, dass Azobenzole gute Triplettlöscher sein können (siehe Kapitel 3.9.4.4). Obwohl es sich bei diesem Azobenzol **AB03** um ein 4-Amino-4'-carboxysubstituiertes Derivat handelt (siehe oben) und eine Reduktion des S_1 und T_1 des Rhodamin 123 (**54**) möglich ist, gelang es die Fluoreszenzzählrate um einen Faktor 5 zu erhöhen und die Photostabilität deutlich zu steigern (siehe Abbildung 4.12). Eine mögliche Erklärung ist die „Rückreduktion" bereits oxidierter Fluoreszenzfarbstoffe in den Ausgangszustand (siehe auch Abbildung 3.210). Dies wirkt einer vorzeitigen Photozerstörung entgegen und würde die merkliche Zunahme an Photostabilität erklären.

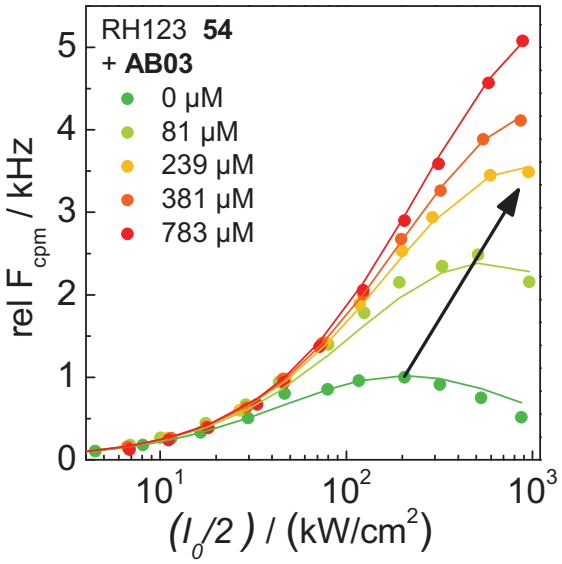


Abbildung 4.12: Fluoreszenzzählrate von Rhodamin 123 (**54**) mit **AB03** in unterschiedlichen Konzentrationen.

Beim Vergleich der Steigerungen in den Fluoreszenzzählraten des Rhodamin 123 (**54**) durch die Zugabe von ausgewählten Vertretern der drei Quencherklassen, **COT**, **DPH** und **AB**, erkennt man, dass die größte absolute Steigerung durch die Zugabe von Azobenzolen erzielt werden konnte (siehe oben und Kapitel 3.9.5).

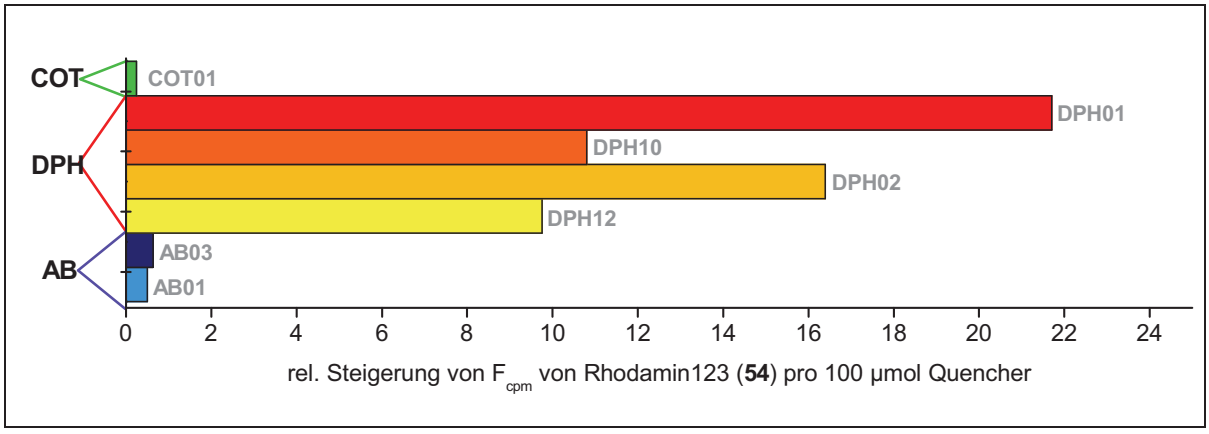


Abbildung 4.13: Relative Steigerung der Fluoreszenzzählrate F_{cpm} von Rhodamin 123 (**54**) in Abhängigkeit der zugesetzten Menge ausgewählter Quencher.

Relativiert man diese Werte auf die Menge des zugesetzten Quenchers (siehe Abbildung 4.13), so wurde festgestellt, dass Azobenzole die Fluoreszenz um etwa einen Faktor zwei stärker steigern als das COT-Derivat. Bei den vermessenen Diphenylhexatrienen waren relative Steigerungen um das 40 bis 88-fache zu beobachten.

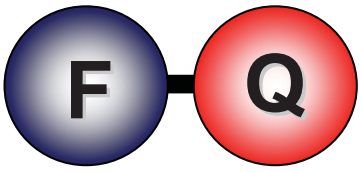


Abbildung 4.14: Einfaches Aufbauschema eines Bichromo¬phors aus Fluorophor (**F**) und Quen¬cher (**Q**).

Um die Quencherkonzentration in den Versuchslösungen niedrig zu halten, und dennoch eine ausreichende räumliche Nähe von Fluoreszenzfarbstoff und Quencher für eine effektive Triplettlöschung zu gewährleisten, wurden kovalent gebundene **Bic**hromophore (**BC**s) entworfen (siehe Abbildung 4.14).

BC: Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei strukturelle Typen von Bichromophoren entworfen und entsprechende Synthesestrategien entwickelt: die Modifikations- und die Verknüpfungsstrategie (siehe Kapitel 3.10.1). Für diese Syntheserouten der Bichromophore werden Quencherbausteine benötigt, die mit einem koppelfähigen Linker versehen sind. Im Rahmen dieser Arbeit wurden 4 solcher Bausteine hergestellt. Durch die Umsetzung von Quencher- und Fluorophorbausteinen wurden in dieser Arbeit 6 Bichromophore erfolgreich synthetisiert. Dargestellt wurden sowohl Fluorescein- als auch Rhodaminderivate.

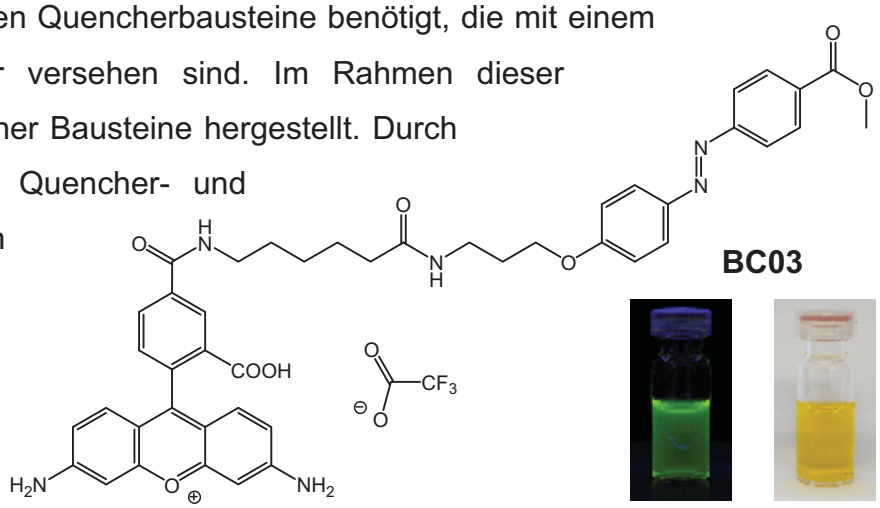


Abbildung 4.15: Struktur und Lösung von **BC03** als Beispiel eines der in dieser Arbeit synthetisierten Bichromophore**.**

Erste FCS-Studien an **BC03** haben gezeigt, dass der Bichromophor mit Azobenzoleinheit in entgastem Ethanol eine dreimal höhere Fluoreszenzzählrate als das unveränderte Rhodamin 123 (**54**) (siehe Abbildung 4.16, links) aufweist. Aus den

ermittelten Triplettamplituden (siehe Abbildung 4.16, rechts) ist ersichtlich, dass die Steigerung der Fluoreszenz auf die Löschung des Triplettzustandes zurückzuführen ist.

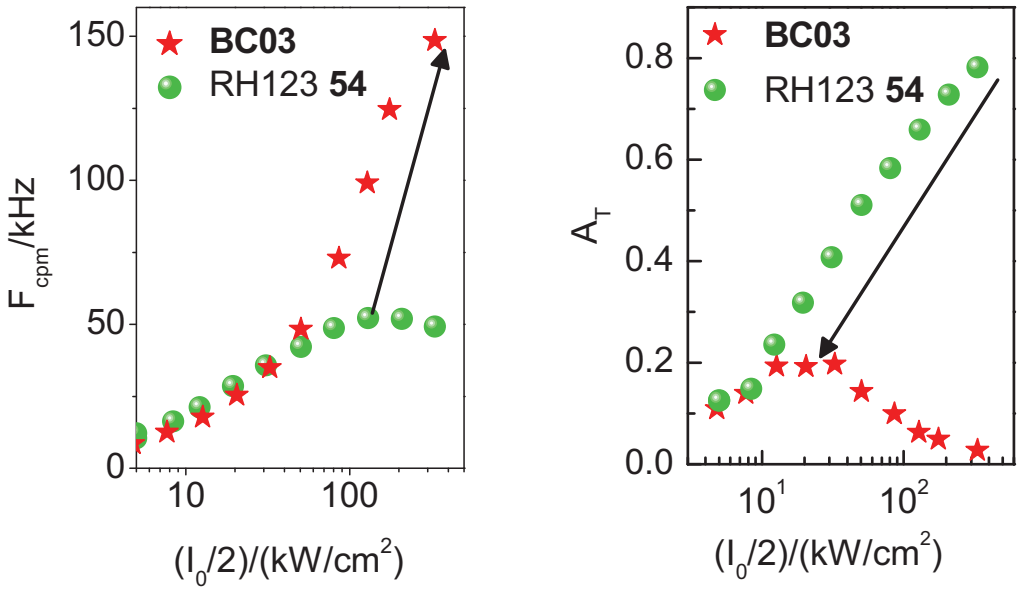


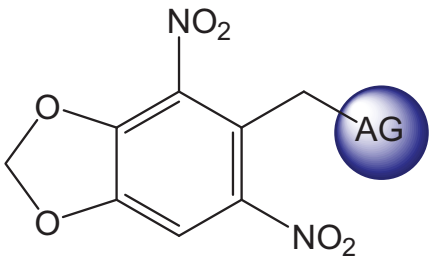
Abbildung 4.16: Links: Auftragung der Fluoreszenzzählrate pro Molekül (F_{cpm}) vom Bichromophor **BC03** und Rhodamin 123 (**54**) in entgastem Ethanol.[105]

Rechts: Triplettamplitude (A_T) von **BC03** und Rhodamin 123 (**54**) in entgastem Ethanol.[105]

Diese einführenden Untersuchungen haben gezeigt, dass das Prinzip des Triplettenergietransfers vom Rhodaminchromophor auf die Azobenzoleinheit als interner Quencher in einem Bichromophor sehr gut funktioniert. Auch eine Steigerung der Photostabilität kann durch das kovalent angebundene Azobenzol erfolgreich gesteigert werden. Allerdings gibt es weitere Prozesse unbekannter Natur, die in analogen Untersuchungen in Gegenwart von Sauerstoff zu einer Fluoreszenzlöschung führen. Die Klärung dieser Zusammenhänge erfordert weitere Untersuchungen, die derzeit am Institut für Physikalische Chemie mit diesen und anderen hier synthetisierten Bichromophoren durchgeführt werden.

5 Ausblick

5.1 Weiterentwicklung von bathochrom absorbierenden *caged Compounds*



21

Abbildung 5.1: Struktur der **MDdiNB**-Schutzgruppe

Die im Rahmen dieser Arbeit eingeführte **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) ermöglicht *Uncaging*experimente bei bathochromer Bestrahlung bis hin zu einer Anregungswellenlänge von 500 nm (siehe Kapitel 2.12 und Abbildung 2.24). Diese neue *Caging*-gruppe **21** ergänzt das Angebot an photolabilen Schutzgruppen von *o*-Nitrobenzyl-Typ.

Die relativ limitierte Löslichkeit in wässrigen Puffersystemen der etablierten *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe (**NB, 7**) hat ihre Einsetzbarkeit in biologischen Studien in wässrigen Systemen eingeschränkt. Auch die neue **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) weist eine beschränkte Löslichkeit unter diesen Bedingungen auf.

Bei der **NB**-Schutzgruppe (**7**) konnte die Wasserlöslichkeit signifikant durch die Einführung von einer bzw. zwei Carboxylgruppen in der 4-, 5- oder α-Position (**α-CNB, 12; α,4-CNB, 14** bzw. **α,5-CNB, 188**) erhöht werden.[13, 14] Dabei wurde beobachtet, dass eine α-Carboxylgruppe zu einer stark erhöhten Quantenausbeute führt.[9, 13-15] So besitzt in Acetonitril (λ_{ex} = 410 nm, 10 ms) **NB**-AC **CC01** eine Quantenausbeute von 0.1; das entsprechende α-Carboxyderivat, **α-CNB**-Ac **189**, eine von 0.23.[12]

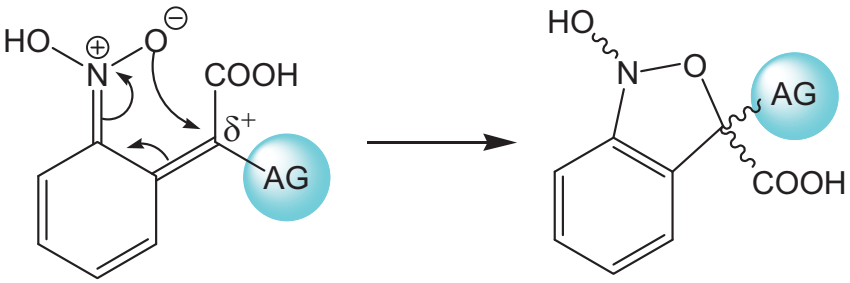
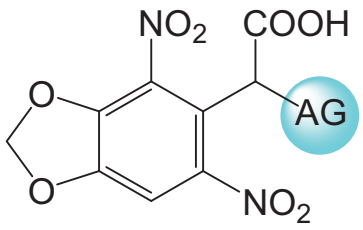


Abbildung 5.2: Cyclisierungsschritt des Photolysemechanismus der *o*-Nitrobenzylester **7**.

Die gesteigerte Quantenausbeute ist auf den elektronenziehenden Einfluss der Carboxylgruppe auf die α-Position zurückzuführen. Die dadurch induzierte positive Partialladung am α-Kohlenstoff fördert den Ringschluss der aci-Form (siehe Schritt F in Abbildung 2.3 und Abbildung 5.2), welcher als geschwindigkeitsbestimmender Schritt betrachtet werden kann (siehe Kapitel 2.1).
Die Derivate mit einer Carboxylgruppe (**α-CNB, 12**) haben größere Quantenausbeuten als die Verbindungen mit zwei Carboxylgruppen (**α,4-CNB**, **14** bzw. **α,5-CNB**, **188**). Entsprechende geschützte Aspartate (Asp) zum Beispiel haben Quantenausbeuten von: Φ(**α,5-CNB**-Asp) = 0.10, Φ(**α,4-CNB**-Asp) = 0.14 und Φ(**α-CNB**-Asp) = 0.19.[13]

Aus den Arbeiten von *Schaper et al.* zur Steigerung der Hydrophilie ist bekannt, dass die dort erfolgreich angewandte Strategie einen erheblichen experimentellen Aufwand bedeutet.[13, 14] Daher wurde hier das Interesse zunächst alleine auf die Steigerung der Bathochromie durch die Einführung einer zweiten Nitrogruppe gelegt. Nach den im Rahmen dieser Arbeit erfolgreichen Studien dieser einfacheren Systeme bietet sich als weiterführenden Schritt in zukünftigen Arbeiten die Synthese des α-Carboxyderivats (α-Carboxy-3,4-(Methylendioxy)-2,5-nitrobenzylgruppe, **α–CMDdiNB 190**) zur Steigerung der Quantenausbeute und Hydrophilie der **MDdiNB**-Schutzgruppe (**21**) an (siehe Abbildung 5.3).



α-CMDdiNB

α-Carboxy-3,4-Methylendioxy -2,5-nitrobenzylgruppe (**190**)

Abbildung 5.3: Struktur der α-Carboxy-3,4-(Methylendioxy)-2,5-nitrobenzylgruppe (**190**).

5.2 Weiterentwicklung von Chromophorsystemen als Fluoreszenzsonden

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde eine Bibliothek von Triplettquenchern für Rhodaminfarbstoffe synthetisiert. Sowohl Cyclooctatetraen- (**COT**), Diphenylhexatrien (**DPH**) und Azobezolderivate (**AB**) haben sich als geeignet erwiesen. Für FCS-Messungen, in denen der Quencher einer ethanolischen Rhodaminlösung zugesetzt wurde, hat sich die geringe Löslichkeit der **COT** und **DPH** in diesen Lösungen als problematisch erwiesen.

Vor allen aber in wässrigen Puffersystemen, welche für biologische Untersuchungen üblich sind, lassen sich nur geringe Mengen der hydrophoben Quencher lösen. In diesen niedrigen Konzentrationen konnten sehr gute Quenchleistungen durch gesteigerte Fluoreszenzzählraten beobachtet werden (siehe Kapitel 3.9.5). Für weitere Additivstudien wären Derivate mit einer höheren Wasserlöslichkeit wünschenswert, um die Wirkung weiter zu verbessern.

Weiterhin wurden in dieser Arbeit Vorstufen für koppelfähige **COT**- und **DPH**-Derivate synthetisiert (siehe Kapitel 3.10.2.1 und 3.10.2.2). In zukünftigen Arbeiten könnten diese Syntheserouten vervollständigt werden und Bichromophore nach der Verknüpfungsstrategie (siehe Kapitel 3.10.1) mit **COT**- oder **DPH**-Einheit als Löscher hergestellt werden. Untersuchungen des Fluoreszenzverhaltens dieser neuen Verbindungen sollen an die durchgeführten Additivmessungen (siehe Kapitel 3.9.3.4 und 3.9.4.4) anknüpfen.

Auch der Einfluss von der Linkerkettenlänge soll studiert werden. Die in dieser Arbeit vorgestellten Bichromohoren **BC01** und **BC06** vom Fluorescein-Typ (siehe Kapitel 3.10.4.2.1 und 3.10.4.2.3) können hierzu untersucht werden.

Bei den FCS-Messungen am Bichromophor **BC03** konnten Reodx-Prozesse beobachtet werden. Dieses Verhalten lässt sich anhand der bestimmten Redoxpotentiale erklären. In fortführenden Arbeiten werden weitere FCS-Studien der anderen in dieser Arbeit synthetisierten Bichromophore neue Erkenntnisse über die Lösch- und Redoxprozesse bringen.

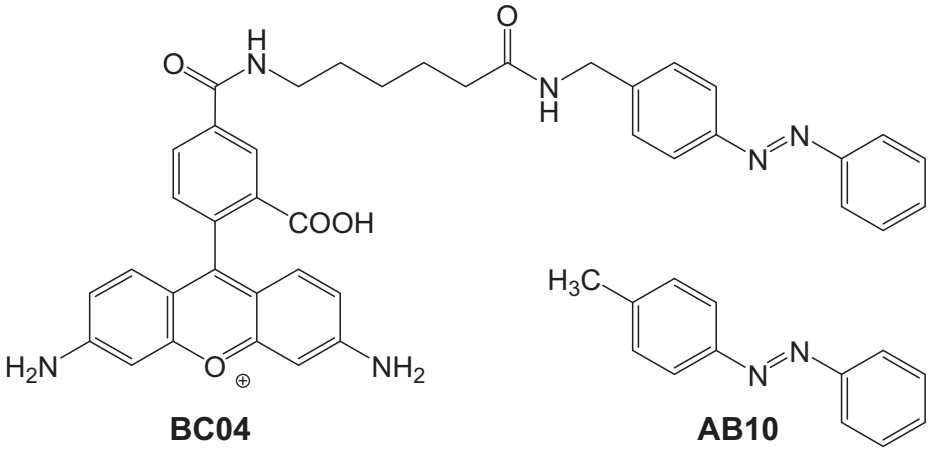


Abbildung 5.4: Strukturen des Bichromophors **BC04** und das Modellazobenzol **AB10** für die Quenchereinheit.

So lässt bei dem Bichromophor **BC04** mit 4-Methylazobenzol (**AB10**) als Modellverbindung für die Quenchereinheit (siehe Abbildung 5.4) der Vergleich der Redoxpotentiale des Azobenzols und Rhodamin 123 (**54**) keine intramolekularen Redoxreaktionen erwarten. Geplante FCS-Messungen an diesem Bichromophor **BC04** werden Aufschluss über die Quenchprozesse geben. Der Vergleich dieser Beobachtungen mit denen aus den FCS-Messungen vom Bichromophor **BC03** sollte es ermöglichen, Lösch- und Redoxprozesse von einander zu trennen.

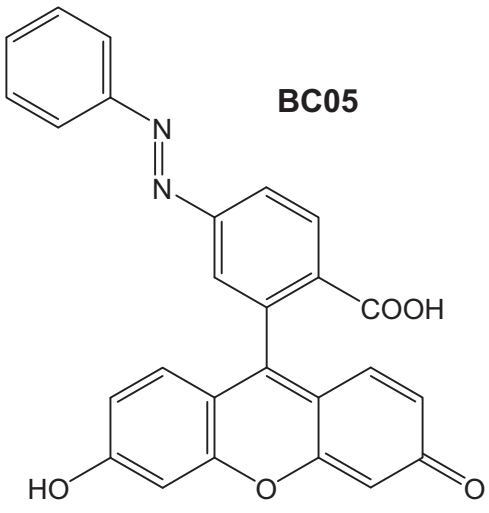
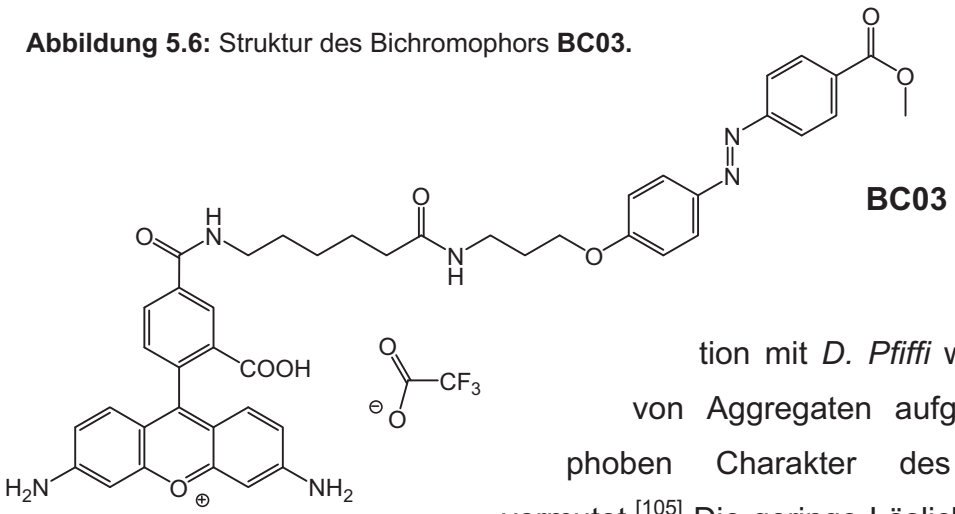


Abbildung 5.5: Strukturen des Bichromophors **BC05.**

Auch FCS-Studien des Bichromophors **BC05,** welches nach der Modifikationsstrategie hergestellt wurde, sollen durchgeführt werden (siehe Abbildung 5.5). Sollte hier ebenso eine Fluoreszenzsteigerung durch Löschung des Triplettzustands beobachtet werden, wären weitere Bichromophore dieses Typs von Interesse. Auch Derivate mit einer **DPH**-Einheit als Teil des Rhodamins durch Modifikation an dem einzelnen Phenylrings sollten synthetisiert werden.

Aus den FCS-Untersuchungen des Bichromophors **B03** (siehe Abbildung 5.6) in Koopera-

Abbildung 5.6: Struktur des Bichromophors **BC03.**



tion mit *D. Pfiffi* wurde die Bildung von Aggregaten aufgrund des hydrophoben Charakter des Bichromophors vermutet.[105] Die geringe Löslichkeit von Fluoreszenzfarbstoffen in wässrigen Puffersystemen ist auch aus Studien mit den herkömmlichen Rhodaminen bekannt. Übliche Essays schreiben daher ein Lösungsmittelgemisch aus PBS-Puffer fürs Protein und DMF oder DMSO für den Fluoreszenzmarker vor.[139, 140] Eine Erhöhung der Hydrophilie der Farbstoffe durch strukturelle Modifikationen am Löscher unter Erhalt der Fluoreszenzeigenschaften ist wenig aussichtsreich (vergleich Kaptitel 3.5).

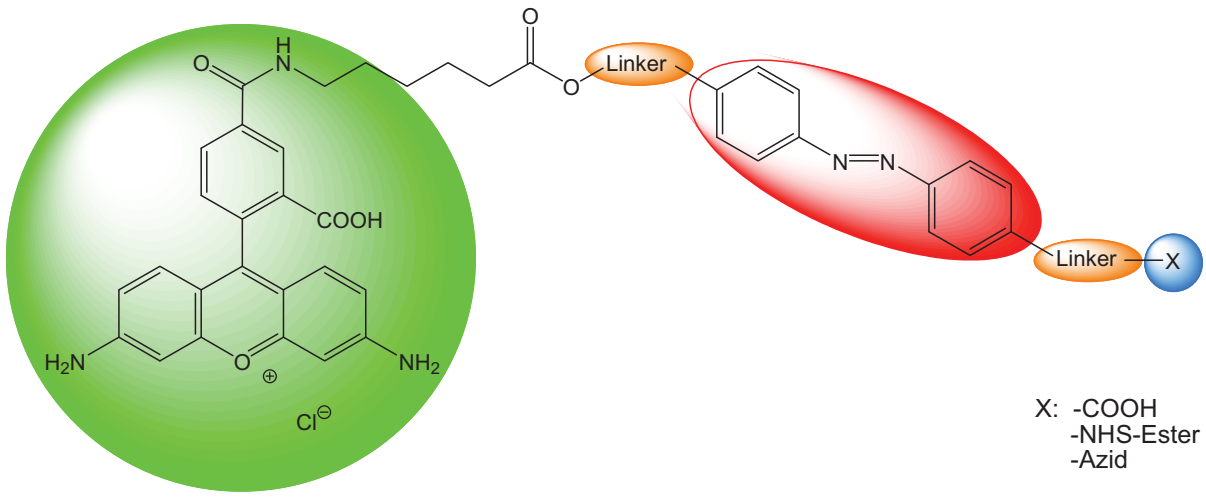


Abbildung 5.7: Modellstruktur eines koppelfähigen Bichromophors vom Rhodamin 123-Typ mit einer Azobenzolquenchereinheit nach der Verknüpfungsstrategie. (Grün: Fluoreszenzfarbstoff, Orange: Linker, Rot: Quencher, Blau: Koppelstelle).

Für einzelmolekülspektroskopische Untersuchungen an biochemischen Systemen werden Fluoreszenzsonden häufig als Label verwendet. Für die Bichromophore setzt die Verwendung als Label die kovalente Koppelfähigkeit an z. B. Proteine voraus.[141] Koppelgruppen, wie freie Carbonsäuren, aktivierte NHS-Ester oder Azide

für Klick-Verknüpfungen, bieten sich hierfür an. Um den Fluorophor möglichst wenig zu beeinflussen, würde sich die Einführung dieser neuen Funktionalität an der Quenchereinheit am besten eignen (siehe Abbildungen 5.7 und 5.8). Solche Systeme können in weiterführenden Arbeiten aufgebaut werden.

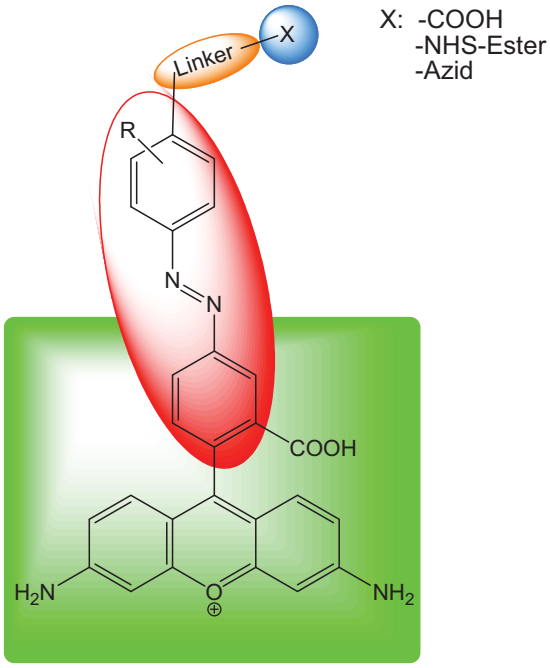


Abbildung 5.8: Modellstruktur eines koppelfähigen Bichromophors vom Rhodamin 123-Typ mit einer Azobenzolquenchereinheit nach der Modifikationsstrategie. (Grün: Fluoreszenzfarbstoff, Orange: Linker, Rot: Quencher, Blau: Koppel¬stelle).

6 Experimentalteil

6.1 Geräte

6.1.1 Allgemeines

UV-Vis-Spektrometer: Die in dieser Arbeit abgebildeten UV-Vis-Spektren wurden mit einem Perkin Elmer Lambda 19 Spektrometer oder einem UV-Vis DAD der Firma Agilent aufgenommen.

Fluoreszenz-Spektrometer: Die in dieser Arbeit abgebildeten Fluoreszenzspektren wurden einem Fluroeszenz-DAD der Firma Agilent oder mit einem Fluorolog-3 Spektrometer von Jobin Yvon aufgenommen.[1]

Fluoreszenz-Korrelations-Spektrometer: Für die apparativen Details der in dieser Arbeit vorgestellten FCS-Messungen, die in Kooperation mit dem AK Seidel von Frau D. Pfiffi durchgeführt wurden, siehe *Pfiffi et al.*, 2010[1] und *Pfiffi*, 2010[105].

Cyclovoltametrie: Die in dieser Arbeit vorgestellten Redox-Potentiale wurden von D. Pfiffi gemessen. Die apparativen Details sind in *Pfiffi et al.*, 2010[1] und *Pfiffi*, 2010[105] beschrieben.

IR-Spektrometer: Die in dieser Arbeit abgebildeten IR-Spektren wurden mit einem Vector 22 IR-Spektrometer der Firma Bruker aufgenommen.

Massenspektrometer: Die in dieser Arbeit beschriebenen Massenanalysen wurden mit einem Flugzeit-Massenspektrometer Bruker Ultraflex TOF und einer Ionisierungsenergie von 70 eV durchgeführt.

NMR-Spektrometer: Im Rahmen dieser Arbeit sind NMR-Spektren unterschiedlicher Kerne auf verschiedenen Spektrometer aufgenommen worden. Die Zuordnung der Spektrometer zu spezifischen Meßfrequenzen der einzelnen Kerne kann Tabelle 6-1 entnommen werden.

Tabelle 6-1: Übersicht der gemessen NMR-Spektren und den dazu verwendeten Spektrometer.

Spektrum	v/MHz	Spektrometer
^{1}H-NMR	200	Bruker Advance DRX 200
^{1}H-NMR	500	Bruker Advance DRX 500
^{13}C-NMR	75	Varian MAT 311A
^{13}C-NMR	125	Bruker Advance DRX 500
^{19}F-NMR	470	Bruker Advance DRX 500
^{31}P-NMR	81	Bruker Advance DRX 500

Die Auswertung der NMR-Spektren erfolgt mit der Software: MestReC 4.7.0.0, copyright © 1996-2005.

Refraktometer: Die Brechungsindizes in dieser Arbeit wurden mit einem Refraktormeter 90213 der Firma Carl Zeiss gemessen.

Schmelzpunktbestimmungsgerät: Die Schmelzpunkte in dieser Arbeit wurden mit einem Schmelzpunktbestimmungsgerät Thermovar der Firma Reichert oder einem SMP-20 von Büchi gemessen. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Elementaranalyse: Die in dieser Arbeit vorgestellten Elementaranalysen wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt.

Quantenchemische Rechnungen: Im Rahmen dieser Arbeit wurden Übergangsenergien vorgestellt, die mittels quantenmechanischen Rechnungen ermittelt wurden. Diese Werte wurden von C. M. Marian bestimmt. [1]

6.1.2 Bestrahlungsapparatur nach Gräntzel

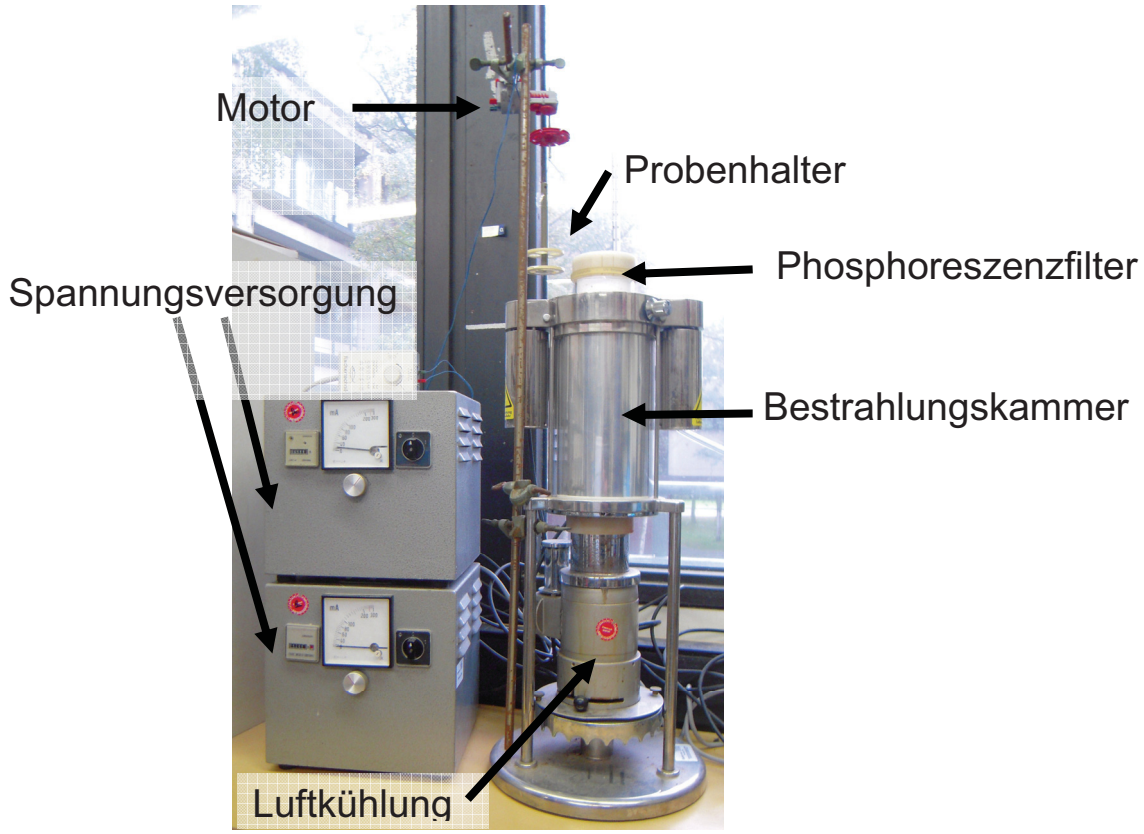


Abbildung 6.1: Bestrahlungsapparatur nach Gräntzel.



Abbildung 6.2: Ansicht des Inneren der Bestrahlungskammer.

Die Gräntzelapparatur ist eine hohlzylindrische Strahlungsquelle. Die Röhren von zwei Quecksilberdampflampen mit der Emissionswellenlänge λ_{Em} = 254 nm sind schlangenförmig gebogen und bilden den Zylinder.

Die Leistung der Lampen werden über zwei Spannungsversorger geregelt. In den beschriebenen Versuchsreihen wurden jeweils 100 mA benutzt. Der Innenraum des Zylinders hat einen Durchmesser von ca. 6 cm und eine Höhe von 25 cm. Er stellt das mögliche Bestrahlungs-

volumen dar. Es gibt Probenhalter zur Bestrahlung von Küvetten und NMR-Röhrchen. Der Probenhalter für die NMR-Röhrchen wurde speziell für die Bestrahlungsversuche selbst entwickelt und angefertigt (siehe Abbildung 2.26).
Die Probenhalter können an eine Aufhängung gehangen werden, welche über einen Motor rotiert. Diese Rotation der Proben gewährleistet eine gleichmäßige Bestrahlung aller Proben.

Ebenfalls zylinderförmige Phosphoreszenzfilter aus Glas können in den Innenraum gestellt werden. Die Phosphoreszenzfarbstoffe in den Filtern absorbieren das Licht der Lampen und phosphoreszieren bathochrom zur Anregungswellenlänge. Die verschiedenen Filter enthalten verschiedene Phosphoreszenzfarbstoffe. Der Farbstoff bestimmt die Emissionswellenlänge. Es sind Filter für Emissionswellenlängen von 320, 350, 410, 445, 475, 525 und 615 nm vorhanden. Die Emissionsspektren der aller Phosphoreszenzfilter sind in Abbildung 6.4 des folgenden Kapitels abgebildet.
Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausschließlich Bestrahlungen mit dem 350 nm-Filter durchgeführt.



Abbildung 6.3: Phosphoreszenzfilter für die Gräntzelapparatur.

6.1.2.1 Emission der Bestrahlungsapparatur nach Gräntzel

Zur Interpretation der experimentellen Ergebnisse der Bestrahlungsversuche sind die Emissionsspektren der Strahlungsquellen und die Intensität des eingestrahlten Lichts von großem Interesse.

Der Abbau der *caged* Acetate wurde durch die Bestrahlung der Messlösungen mit der Gräntzelapparatur ausgelöst. Der Geräteaufbau ist oben beschrieben. Das Emissionsspektrum der Strahlungsquelle kann durch den Einsatz von Phosphoreszenzfiltern verändert werden. Die verschiedenen Filter enthalten verschiedene Phosphoreszenzfarbstoffe. Der Farbstoff bestimmt die Emissionswellenlänge. Es gibt Filter für Emissionswellenlängen von 320, 350, 410, 445, 475, 525 und 615 nm. Es wurden Emissionsspektren der Gräntzelapparatur ohne und mit den diversen Phosphoreszenzfiltern aufgenommen. Sie sind in Abbildung 6.4 dargestellt.

Da bei den Bestrahlungsversuchen im Rahmen dieser Arbeit das Abbauverhalten der *caged* Acetate durch langwelliges Licht ($\lambda > 300$ nm) von Interesse ist, wird ein Filter verwendet, der bei 350 nm emittieren soll. Aus den Emissionsspektren erkennt man jedoch, dass die Bestrahlungsapparatur keineswegs monochromatisches Licht emittiert. Es handelt sich vielmehr um ein komplexes Emissionsspektrum. Dies muss bei der Interpretation der Bestrahlungsexperimente berücksichtigt werden.

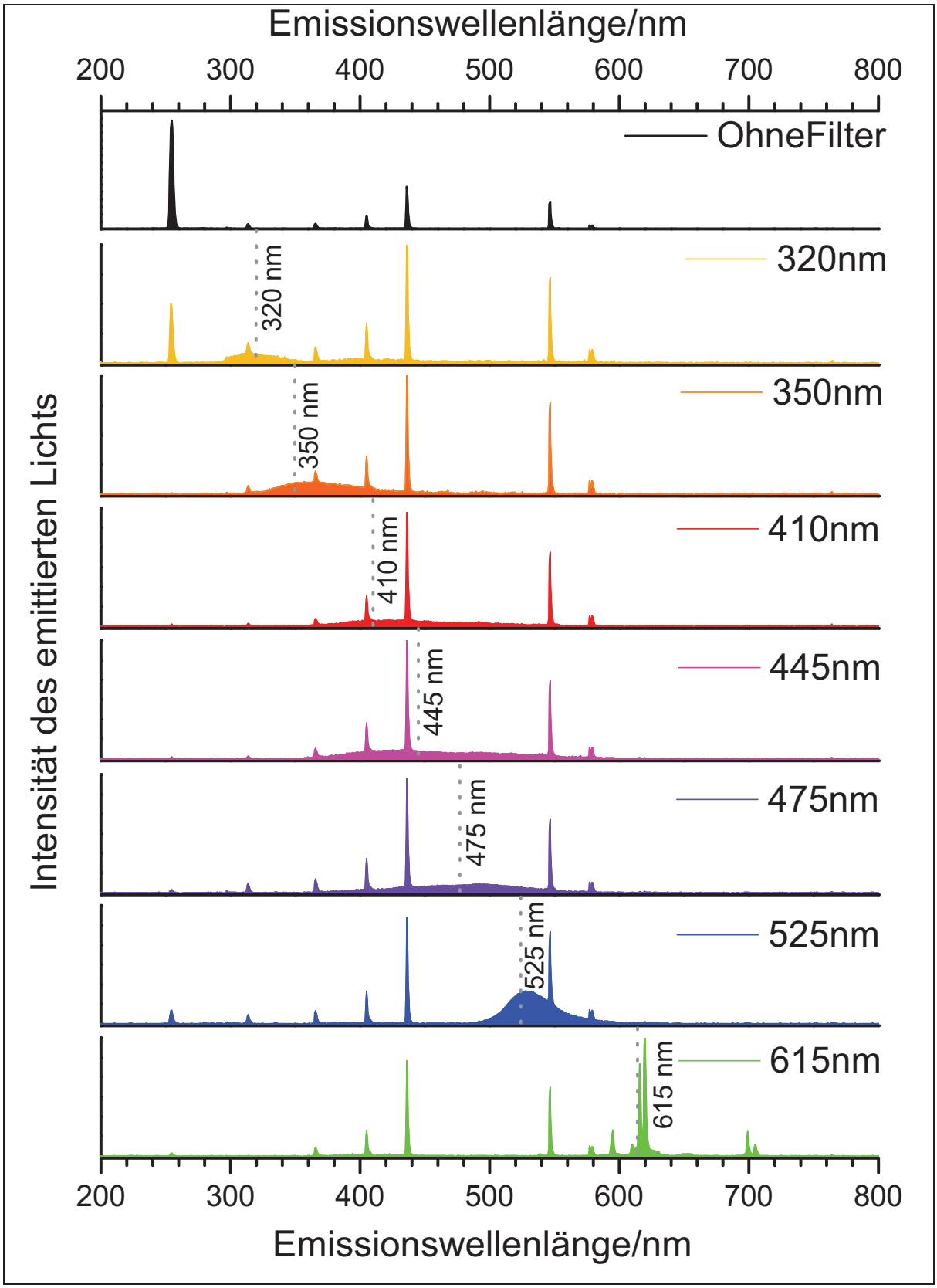


Abbildung 6.4: Emissionsspektren der Gräntzelapparatur mit verschiedenen eingesetzten Phosphoreszenzfiltern. Die Spektren wurden mit einem portablen DAD gemessen.[142]

6.1.3 Bestrahlungsapparatur: LUMOS 43[36]

Die LUMOS 43 von Atlas Photonics ist eine Bestrahlungsapparatur mit 4 Dioden als Lichtquellen. Sie besteht aus zwei Komponenten (siehe Abbildung 6.5). Die Untere enthält die Spannungsversorgungs- und die Steuereinheit; die Obere die Dioden und die Bestrahlungskammer. Im Lieferumfang ist ein Küvettenhalter für handelsübliche 1.0 cm x 1.0 cm Küvetten enthalten. Die Bestrahlungsfläche bei einer derartigen Küvette beträgt ca. 1 cm^2. Setzt man die Bestrahlungseinheit auf einen Magnetrührer, so ist es möglich die Lösungen in der Apparatur während der Bestrahlung mit einem Magnetrührstab zu rühren.



Abbildung 6.5: Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 von Atlas Photonics.

Die Dioden emittieren Licht der Wellenlängen 255, 360, 405 und 525 nm. Von dem Hersteller wird der Monochromatismus mit einer Genauigkeit von 5 nm angegeben (siehe Emissionsspektren in Abbildung 6.6). Im Rahmen dieser Arbeit wurden die 255, 360 und 405 nm-Dioden verwendet. Die optischen Leistungen der 360 und 405 nm Dioden sollen typischerweise bei P(360 nm/405 nm) = 200 mW/cm^2 liegen. Die optische Leistung der 255 nm wurde mit etwa bei P(255 nm) = 10 mW/cm^2 angegeben. Um präzisere Werte für die anschließende Quantenausbeutebestimmung zu erhalten, wurden die optischen Leistungen P_λ mit einem Aktinometer bestimmt. Diese Versuche sind detailliert im folgenden Kapitel 6.1.3.2 beschrieben.

Optische Leistungen der Dioden

Bestrahlungswellenlänge	***P_λ(exp)***	***P_λ(Hersteller)***
255 nm	1.37 mW	ca. 10 mW/cm^2
360 nm	8.45 mW	ca. 200 mW/cm^2
405 nm	95.1 mW	ca. 200 mW/cm^2

6.1.3.1 Emission der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43

Die Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 ist mit 4 Dioden der Wellenlängen 255, 360, 405 und 525 nm ausgestattet. In den Bestrahlungsversuchen der hier vorgestellten Studien wurden die drei kurzwelligeren Dioden verwendet. Abbildung 6.6 zeigt ihre relativen Emissionsspektren.[143]

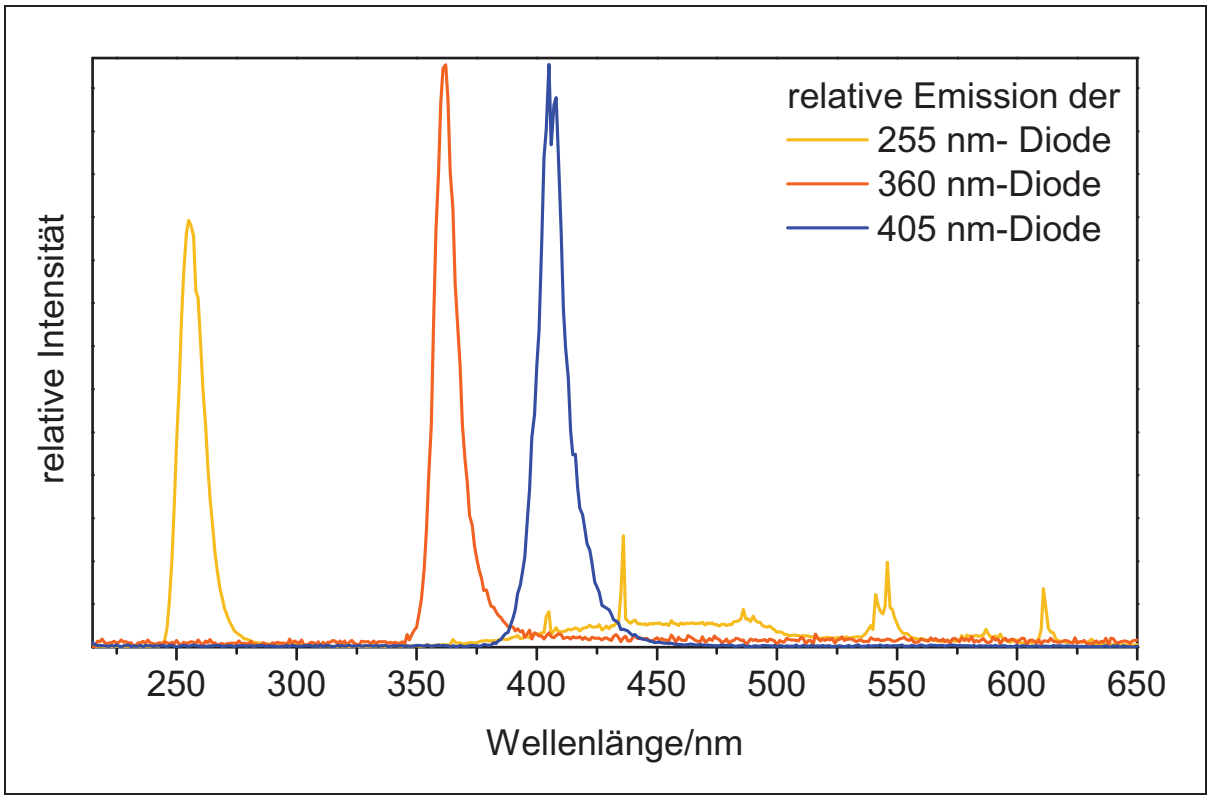


Abbildung 6.6:[143] Relative Emissionsspektren der 255, 360 und 405 nm Dioden der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43.

Von dem Hersteller wird der Monochromatismus mit einer Genauigkeit von 5 nm angegeben. Betrachtet man die Halbwertsbreite so findet man Werte von ca. 12 nm, also λ_{max} +/- 6 nm. Da die Emissionspeaks aber im Bereich niederer Intensität einen Wellenlängenbereich von bis zu 70 nm abdecken und die 255 nm-Diode eine zusätzliche Emissionsbande von 375-500 nm aufweist, werden die Emissionskurven integriert.

Für die drei Dioden erhält man folgende Werte:

Tabelle 6-2: Integrationsflächen der Emissionskurven der 255, 360 und 405 nm Dioden der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43.

λ_{max}/nm	Integrationsfläche
255	193600
360	214400
405	221600

Die Flächen unter den Kurven sind ein Maß für die Menge des emittierten Lichts. Sie werden in späteren Rechnungen zur Bestimmung der Quantenausbeuten der *caged Compounds* verwendet.

6.1.3.2 Strahlungsquantifizierung mittels Aktinometer der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43

Hier soll die Lampenleistung von drei Dioden einer Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 von Atlas Photonics bestimmt werden. Es handelt sich um Dioden mit den Wellenlängen 255, 360 und 405 nm. Die optischen Leistungen der 360 und 405 nm Dioden liegen laut Herstellerangaben typischerweise bei P(360 nm/405 nm) = 200 mW/cm^2 liegen. Die optische Leistung der 255 nm wurde mit etwa bei P(255 nm) = 10 mW/cm^2 angegeben. Die Bestrahlungsfläche bei einer Küvette mit 1 cm Durchmesser kann auf ca. 1 cm^2 abgeschätzt werden. Zur Überprüfung werden die Leistungen mit Hilfe eines Aktinometers bestimmt.

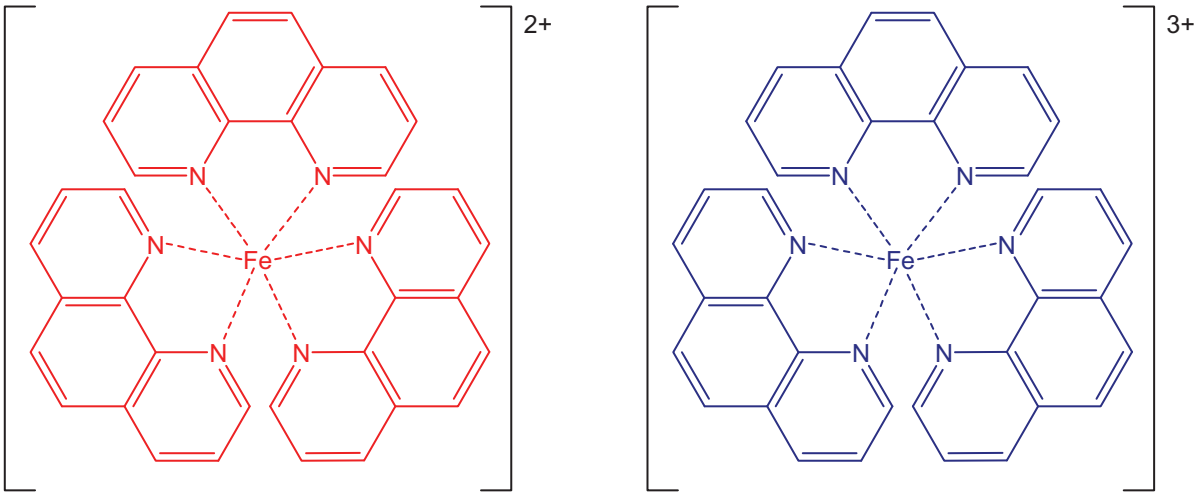
Ein Aktinometer ist ein chemisches System mit dessen Hilfe man die Photonenzahl bestimmen kann.[144, 145] Es handelt sich hierbei um Substanzen, die unter Lichteinwirkung einen Stoffumsatz erfahren. Die Kenntnis von u. a. der genauen Quantenausbeute dieser Photoreaktion, der Bestrahlungszeit und des erfolgten Stoffumsatzes ermöglicht dann die Berechnung der Menge zuvor absorbierter Photonen.

Hatchard-Parker Aktinometer: Aktinometer können aus vielen verschiedenen Verbindungsklassen stammen. So kann man den reversiblen Photoringschluss von Fulgiden, wie z. B. des Aberchrome 540 (**191**)[146], *cis/trans*-Isomerisierung von Azobenzolen[147], die Photoreduktion von Uranyloxalat (**192**)[148] oder die Endoperoxidbildung von Diphenylhelianthrenen (**193**)[149, 150] zur Bestimmung von Strahlungsmengen verwenden. Der wohl am häufigsten verwendete Aktinometer ist der Hatchard-Parker Aktinometer [151, 152]. Dieses System wurde in den 1950er Jahren zuerst von Parker auf seine Verwendung als Aktinometer hin ausgiebig untersucht und Werte für die Quantenausbeute der Photoreaktion ermittelt. Es handelt sich hierbei um eine schwefelsaure wässrige Lösung von Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) (**194**). Induziert durch Lichteinstrahlung wird ein Oxalatrest zu Kohlendioxid oxidiert und im Gegenzug zwei Mol Eisen von der Oxidationsstufe III nach II reduziert[153].

$$2\ K_3[Fe(C_2O_4)_3] \longrightarrow 2\ Fe^{2+} + CO_2 + 5\ C_2O_4^{2-} + 6\ K^+$$

194

Um den erfolgten Stoffumsatz des Kalium-tris(oxalato)ferrats (III) (**194**) zu ermitteln, wird die bestrahlte Lösung mit 1.10-Phenanthrolin (**195**) versetzt. Das 1.10-Phenanthrolin komplexiert die Eisen(II)- und Eisen(III)ionen. Es entstehen der rote Ferroin(II)- (**196**) und der blaue Ferriin(III)komplex (**197**). Aus den Absorptionsspektrum der Lösung lässt sich die Menge an Eisen(II)- und Eisen(III)-Ionen bestimmen.



Ferroin(II)komplex (**196**) Ferriin(III)komplex (**197**)

Abbildung 6.7: Strukturen des roten Ferroinkomplex (rot) und des blauen Ferriinkomplex (blau).

Aus dem so bestimmten Stoffumsatz, der Quantenausbeute von Kalium-tris(oxalato)-ferrat (III) (**194**), der Bestrahlungszeiten und den Konzentrationen der eingesetzten Lösungen lässt sich der Photonenfluss N_p [mol Photonen/s] der Lichtquelle errechnen.

Zur Darstellung von Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) (**194**) werden 3 Volumenanteile einer wässrigen 1.5 M Kaliumoxalat Monohydrat-Lösung (**198**) mit einem Volumenanteil einer 1 M wässrigen Eisen(III)Chlorid-Lösung (**199**) bei Raumtemperatur unter Lichtausschuss einen Tag gerührt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und dreimal aus 50 °C warmen Wasser umkristallisiert.
Ausreichende Reinheit ist erreicht, wenn nach der Umkristallisation keine signifikante Zunahme des Extinktionssignals zu erkennen ist. [151]

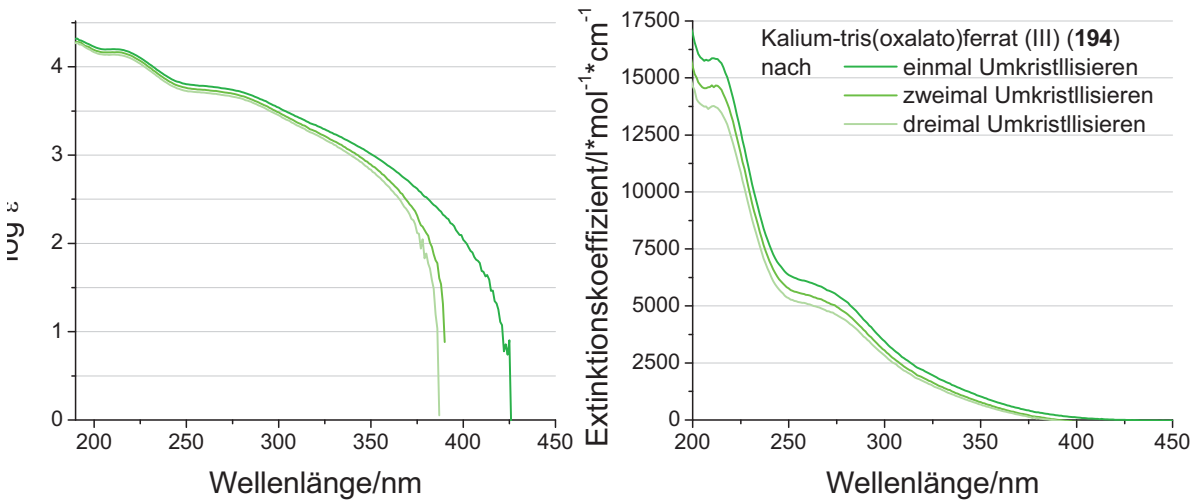


Abbildung 6.8: UV-Vis-Absorptionsspektren von Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) Trihydrat (**194**) in Wasser.

Nach dem Trocknen im Ölpumpenvakuum bei 50 °C erhält man das kristalline, grüne Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) (**194**) als Trihydrat. Um vorzeitige Photoredoxprozesse zu verhindern sollte das Produkt **194** unter Lichtausschluss gelagert werden.

Aktinometrische Untersuchung mit dem Hatchard-Parker Aktinometer[145]

Um Strahlungsmengen einer Lichtquelle zu bestimmen wird eine schwefelsaure wässrige Lösung vom Aktinometer **194** angesetzt. Die Konzentration dieser Lösung richtet sich nach ihrer Extinktion in dem gewählten Wellenlängenbereich bei gegebener Schichtdicke. Man misst unter Bedingungen der Totalabsorption. Es soll der Photonenfluß bei 255, 360 und 405 nm bestimmt werden.

Ansetzen der Messlösungen: Für die Messungen bei 255 und 360 nm wird eine 0.006 M Lösung des Aktinometers **194** angesetzt. Hierzu werden in einem 1 L Maßkolben 2.947 g Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) Trihydrat (**194**) und 100 ml 0.1 N Schwefelsäure gegeben und anschließend mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Da Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) (**194**) bei 405 nm einen viel kleineren Extinktionskoeffizienten hat bei 255 und 360 nm wird für die Messung eine Lösung höherer Konzentration benötigt. Für die Messung der 405 nm-Diode wird eine 0.0981 M Lösung verwendet; 2.41 g Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) Trihydrat (**194**) und 5 ml 0.1 N Schwefelsäure in einem 50 ml Maßkolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Um zu wissen wie groß der von den Aktinometerlösungen absorbierte Anteil des emittierten Lichts der Dioden ist, wird das Überlappungsintegral der Absorption des Aktinometers **194** I_{abs} und der relativen Diodenemission I_0 (siehe Abbildungen 6.9 und 6.10) verglichen

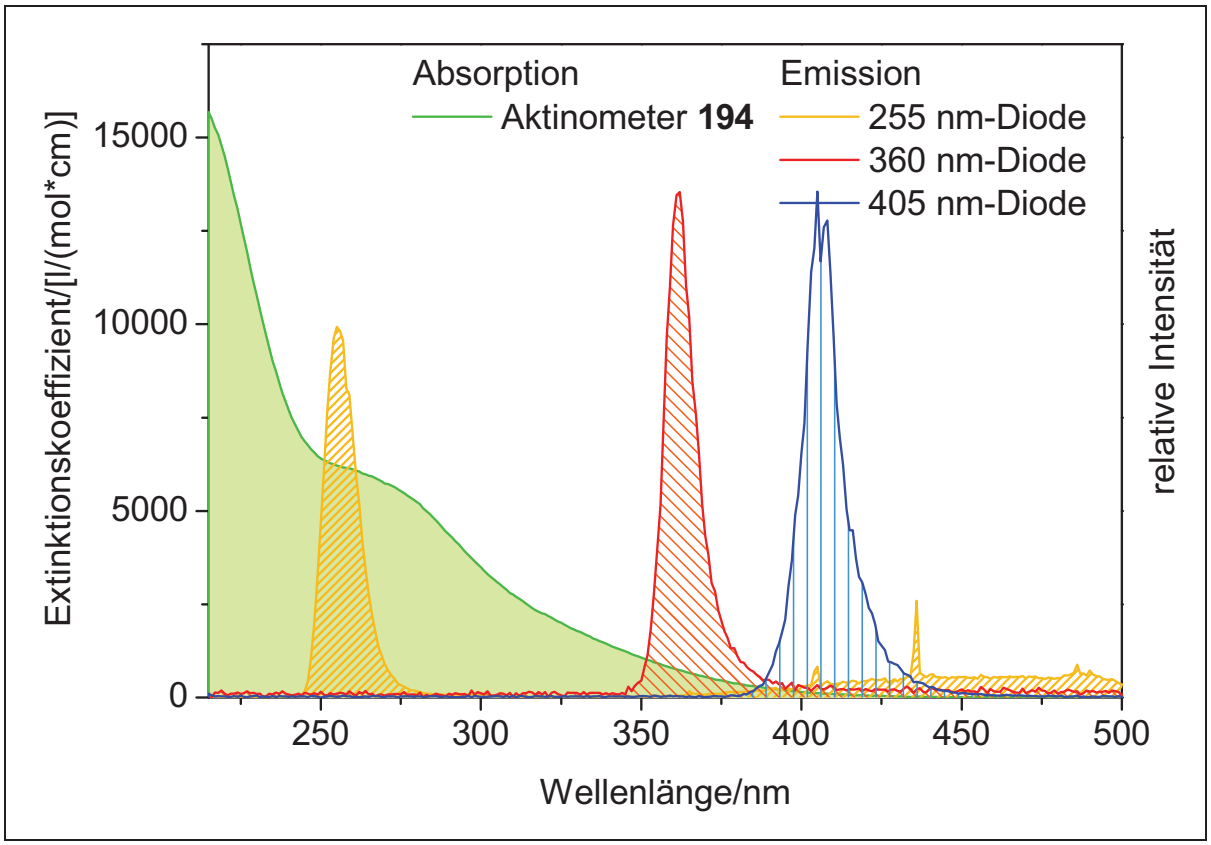


Abbildung 6.9: Absorptionsspektrum des Aktinometers **194** und relative Emissionsspektren der 255, 360 und 405 nm-Dioden der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43.

Zur Bestimmung der Überlappungsfunktion verwendet man folgende Funktion:

$$I_{abs}^{rel} = \int_{215}^{500} I_0^{rel}(\lambda) \cdot (1 - 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d}) d\lambda$$

Mit: I_{abs}^{rel} : Intensität des absorbierten Lichts

I_0^{rel} : relative Intensität des eingestrahlten Lichts

ε: Extinktionskoeffizient/(l·cm^{-1}·mol^{-1})

c: Konzentration/(mol·l^{-1}) der Aktinometerlösung

d: Schichtdicke/cm = 1 cm

Man erhält folgende Überlappungsfunktionen und –integrale.

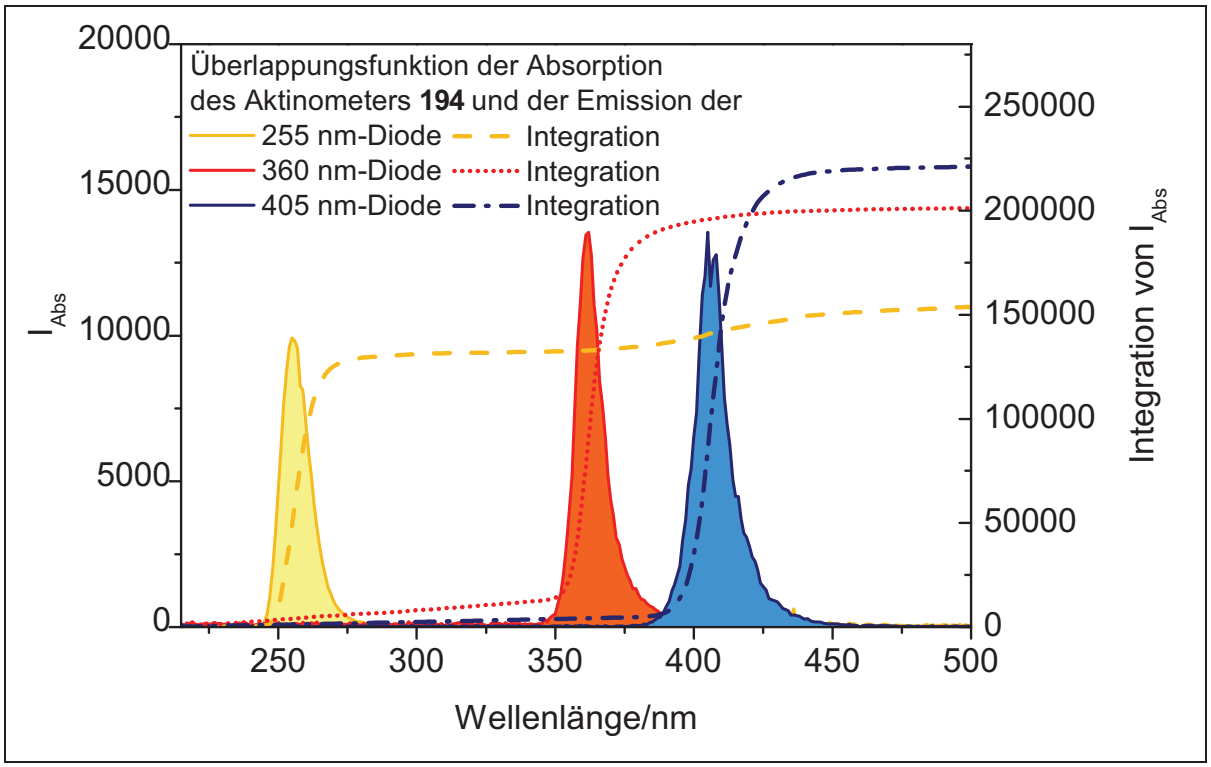


Abbildung 6.10.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der Aktinometerlösungen **194** mit den Emissionen der Dioden der LUMOS 43.

Tabelle 6-3: Vergleich des emittierten Lichts der Dioden und des absorbierten Lichts der Aktinometerlösungen.

λ der Diode/nm	I_{abs}(Aktinometer)	I_0(Diode)
255	153800	193600
360	201200	214400
405	221100	221600

Aus dem Vergleich des emittierten Lichts der Dioden und des absorbierten Lichts der Aktinometerlösungen erkennt man, dass im Falle der hochkonzentrierten 0.0981 M Lösung für die Messungen bei 405 nm die Absorbanz nahezu vollständig ist. Im Falle der Studie für die 360 nm-Diode wird 94 % absorbiert und von der Emission der 255 nm-Diode nur 79 %.

Bestrahlung der Messlösungen: Für die Bestrahlungen werden vier 1 cm Küvetten mit je 3 ml der Aktinometerlösung gefüllt und für ein bestimmtes Zeitintervall bei der

jeweiligen Wellenlänge bestrahlt (Bestrahlung A). Zur Kontrolle werden die Bestrahlungen jeweils einmal) an dem folgenden Tag wiederholt (Bestrahlung B). Bestrahlungszeiten werden so gewählt, dass der Stoffumsatz maximal 5 % beträgt.

Tabelle 6-4: Bestrahlungszeiten der Messlösungen bei verschieden Wellenlängen.

Bestrahlungszeit/s	A@255 nm	B@255 nm	A@360 nm	B@360 nm	A@405 nm	B@405 nm
	30	60	30	30	30	20
	60	120	60	60	60	40
	90	300	90	90	90	60
	120	600	120	120	120	90

Entwicklung der Messlösungen: Nach der Bestrahlung müssen die bestrahlten Lösungen entwickelt werden. Dazu wird eine wässrige 0.1%ige 1.10-Phenanthrolinlösung (**195**) und ein Puffer angesetzt. Der Puffer besteht aus 82 g Natriumpropionat (**199**) und 10 ml konzentrierter Schwefelsäure in einem 1 L-Maßkolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Bowman und *Demas* zeigten, dass die Zugabe der Lösungen in einer bestimmten Reihenfolge Fehler in den Messungen verringert.[154] So sollten 1.) die bestrahlten Lösungen vorgelegt, 2.) der Puffer, 3.) die Phenanthrolinlösung (**195**) und 4.) das Wasser zugegeben werden. Weiterhin sollte die 1.10-Phenanthrolinlösung (**195**) ebenfalls unter Lichtausschluss gelagert werden und nicht älter als 3 Monate sein. Eine Entwicklungszeit der Messlösungen von 0.5-1 h wird empfohlen.

Entwicklung der Messlösungen – 255 und 360 nm: Zuerst werden jeweils 1 ml der bestrahlten Lösungen bzw. 1 ml der unbestrahlten Lösung in je einen 10 ml-Maßkolben gefüllt. Dazu werden in jeden Maßkolben 0.5 ml des Puffers und 4 ml der 0.1%igen 1.10-Phenanthrolinlösung (**195**) pipettiert. Anschließend wird mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Lösungen lässt man nun 1 h unter Lichtausschluss entwickeln.

Entwicklung der Messlösungen – 405 nm: Zuerst werden jeweils 0.15 ml der bestrahlten Lösungen bzw. 0.15 ml der unbestrahlten Lösung in je einen 25 ml-Maß-

kolben gefüllt. Dazu werden in jeden Maßkolben 1.25 ml des Puffers und 10 ml der 0.1%igen 1.10-Phenanthrolinlösung (**195**) pipettiert. Anschließend wird mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Lösungen lässt man nun 1 h unter Lichtausschluss entwickeln.

Quantifizierung des Stoffumsatzes: Es werden UV-Vis-Spektren der entwickelten Messlösungen aufgezeichnet (siehe Abbildung 6.11). Die Extinktion bei 510 nm, $E_{510,}$ sollte idealerweise zwischen 0.4 - 1.0 liegen. Als Beispiel wird hier die Bestrahlung bei 255 nm diskutiert.

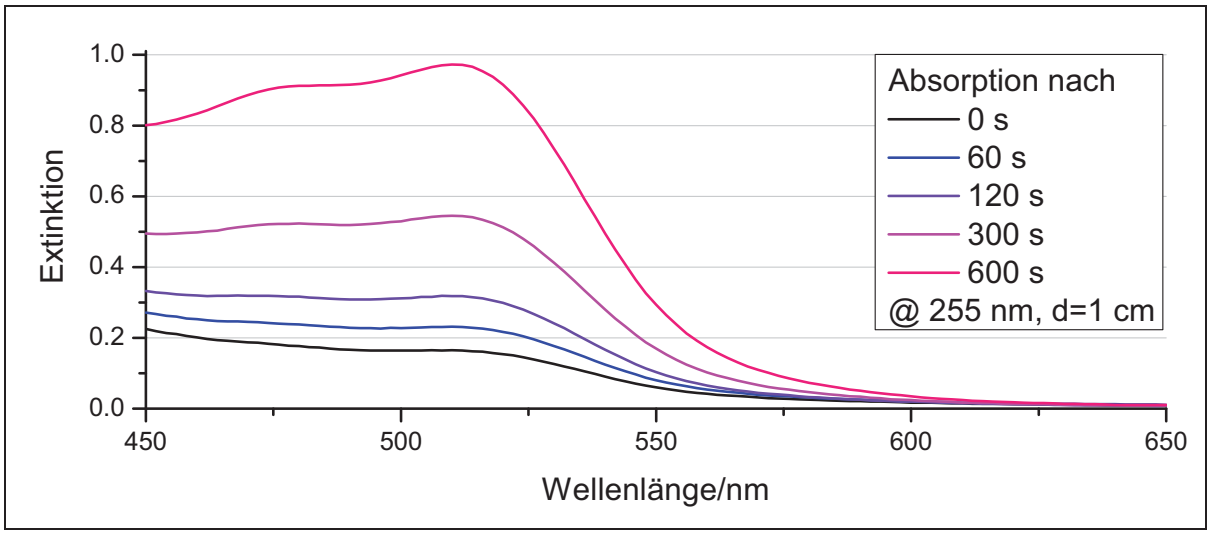


Abbildung 6.11: UV-Vis-Absorptionsspektren der entwickelten Messlösungen nach unterschiedlichen Bestrahlungszeit bei 255 nm.

Wie man aus Abbildung 6.11 erkennt, entstand auch in der unbestrahlten Probe der farbige Ferroin(II)komplex (**196**). Dies zeigt, dass sich die Photoreaktion nicht ausschließlich von der gezielten Bestrahlung, sondern auch von Umgebungslicht wie Laborlicht oder Sonneneinstrahlung erfolgt ist. Um nur den Anteil der von der Bestrahlungsapparatur entstandenen Eisen(II)ionen zu berücksichtigen wird das Spektrum der unbestrahlten Blindprobe von den Spektren der bestrahlten Proben abgezogen (siehe Abbildung 6.12).

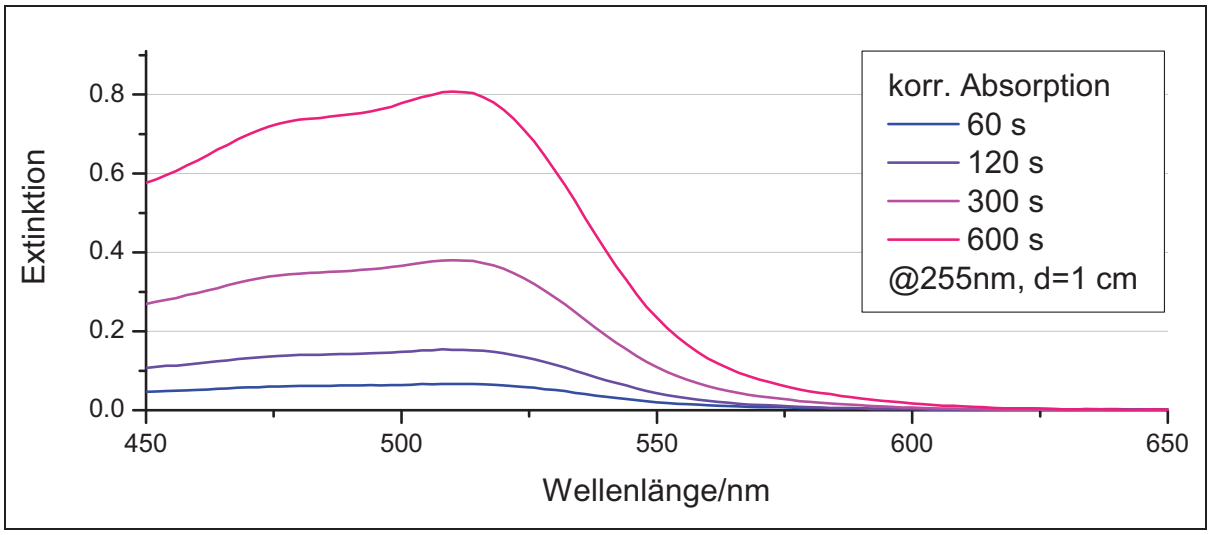


Abbildung 6.12: Korrigierte UV-Vis-Absorptionsspektren der entwickelten Messlösungen nach unterschiedlichen Bestrahlungszeit bei 255 nm.

Man betrachtet nun die Extinktion bei 510 nm, E_{510}. Hier absorbiert nur der gebildete Ferroin(II)komplex (**196**). Sie wird gegen die Bestrahlungszeit aufgetragen. Man erhält Abbildung 6.13.

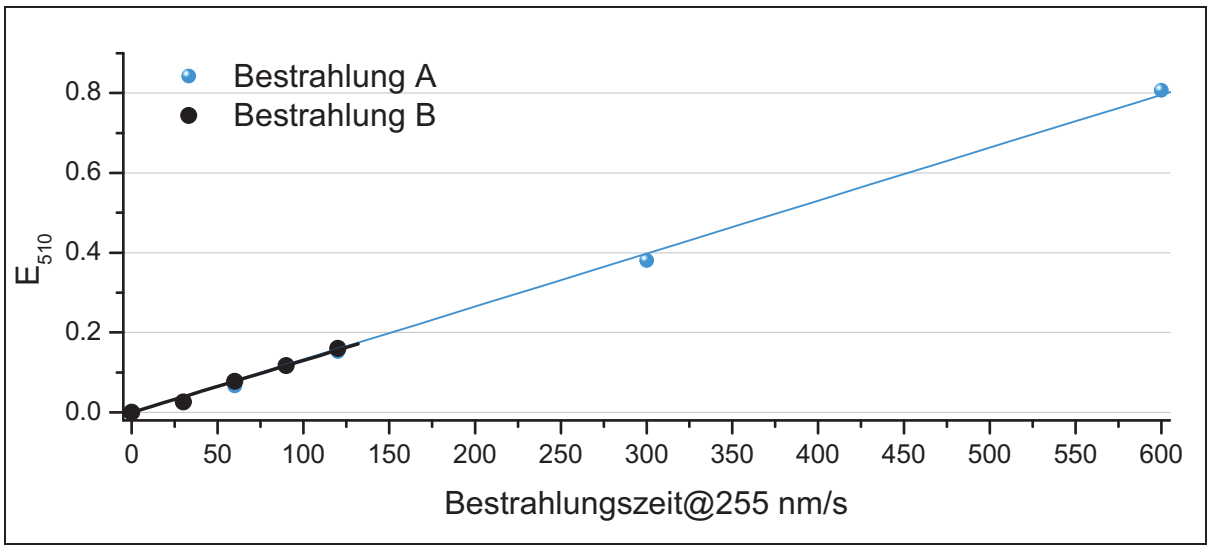


Abbildung 6.13: Auftragung der korrigierten Extinktion der bestrahlten Messlösungen bei 510 nm E_{510} gegen die Bestrahlungsdauer in Sekunden.

Lineare Fits ergeben für die Bestrahlungen bei 255 nm $1.33 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} bzw. $1.30 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} für die Extinktionsänderung bei 510 nm pro Zeit, dE_{510}/dt. Es wird mit dem Mittelwert

von $1.32 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} weitergerechnet. Analog ergibt sich für die Bestrahlungen bei 360 und 405 nm $1.11 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} bzw. $8.47 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}.

Tabelle 6-5: Extinktionsänderung bei 510 nm der entwickelten Messlösungen über die Bestrahlungszeit, dE_{510}/dt für die verwendeten Bestrahlungswellenlängen.

Bestrahlungswellenlänge	dE_{510}/dt
255 nm	$1.32 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}
360 nm	$11.1 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}
405 nm	$8.47 \cdot 10^{-3}$ s^{-1}

Stellt man nun die Gleichung des Lambert-Beerschen Gesetzes um und teilt durch die Zeit so ergibt sich für die Konzentrationsänderung pro Zeit, dc/dt:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{dE_{510}}{dt} \cdot \frac{1}{\varepsilon \cdot d}$$

Der Extinktionskoeffizient von Ferroin bei 510 nm unter diesen Umständen ist $\varepsilon_{510} = 11100$ $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. Für die UV-Vis-Spektren wurden Küvetten mit einer Schichtdicke von d = 1 cm verwendet. Es ergeben sich folgende Konzentrationszunahme an Ferroin pro Bestrahlungszeit:

Tabelle 6-6: Konzentrationsänderung der entwickelten, für die UV-Vis-Messungen verdünnte Messlösungen über die Bestrahlungszeit, dc/dt für die verwendeten Bestrahlungswellenlängen.

Bestrahlungswellenlänge	dc(Ferroin)/dt
255 nm	0.119 µmol/l·s
360 nm	1.00 µmol/l·s
405 nm	0.763 µmol/l·s

Die UV-spektroskopisch untersuchten Lösungen befanden sich in 10 ml-Maßkolben bei den Bestrahlungen bei 255 und 360 nm und in 25 ml-Maßkolben bei den

Bestrahlungen bei 405 nm. Die Menge an Ferroin (II) (**196**) pro UV-Maßkolben ist in Tabelle 6-7 gezeigt.

Tabelle 6-7: Konzentrationsänderung des gebildeten Ferroins (II) (**196**) in der entnommenen Probe der bestrahlten Aktinometerlösung über die Bestrahlungszeit, dc/dt für die verwendeten Bestrahlungswellenlängen.

Bestrahlungswellenlänge	dc(Ferroin)/dt
255 nm	1.19 nmol/s
360 nm	10.0 nmol/s
405 nm	19.1 nmol/s

Für die UV-Vis-Spektren wurde nur ein Teil (1 ml bzw. 0.15 ml) der bestrahlten 3 ml Aktinometerlösungen **194** mit Phenanthrolinlösung **195**, Puffer und Wasser versetzt, d.h. dass bei den Bestrahlungen die 3- bzw. 20-fache Mengen an Eisen(II) gebildet wurde.

Tabelle 6-8: Konzentrationsänderung des gebildeten Eisens (II) in den 3 ml der bestrahlten Aktinometerlösungen über die Bestrahlungszeit, dc/dt für die verwendeten Bestrahlungswellenlängen.

Bestrahlungswellenlänge	dc(FeII)/dt
255 nm	3.57 nmol/s
360 nm	30.0 nmol/s
405 nm	382 nmol/s

Berechnung des Photonenflusses NP: Die Quantenausbeute Φ für die Reduktion von Eisen(III) in Kalium-tris(oxalato)ferrat (III) (**194**) zu Eisen(II) beträgt je nach eingestrahlter Wellenlänge:

Tabelle 6-9: Werte für die Quantenausbeuten der Eisenreduktion, Φ, bei 255, 360 und 405 nm.

Bestrahlungswellenlänge	$\Phi^{[151, 155, 156]}$
255 nm	1.23
360 nm	1.18
405 nm	1.13

Die Quantenausbeute wird definiert als:

$$\Phi = \frac{\text{Anzahl_von_Ereignissen}}{\text{Anzahl_absorbierter_Photonen}}$$

Für den Photonenfluss N_P ergibt sich somit:

$$N_P = \frac{\text{Mol_von_Ereignissen}}{dt} \cdot \frac{1}{\Phi}$$

In diesem Fall ist das Ereignis die Bildung des Eisen(II). Der Photonenfluss der 3 Dioden ist in Tabelle 6-10 gezeigt.

Tabelle 6-10: Berechneter Photonenfluss der Dioden, N_p, bei 255, 360 und 405 nm.

Bestrahlungswellenlänge	N_p
255 nm	2.90 nmol/s
360 nm	25.4 nmol/s
405 nm	338 nmol/s

Da ein Vergleich Integration der Emissionsspektren mit der Integration der Überlappungsspektren der Diodenemission und Aktinometerabsorption gezeigt haben, dass 79 % des Lichts bei 255 nm, 94 % bei 360 nm und 100 % bei 405 nm absorbiert werden, müssen diese Korrekturwerte noch berücksichtigt werden.

Tabelle 6-11: Korrigierter Photonenfluss der Dioden, N_p, bei 255, 360 und 405 nm.

Bestrahlungswellenlänge	N_p
255 nm	3.67 nmol/s
360 nm	27.0 nmol/s
405 nm	338 nmol/s

Berechnung der optischen Leistung: Möchte man nun die optische Leistung der Dioden bestimmen benötigt man die Energie der Photonen. Diese ergibt sich aus:

$$E = h \cdot v = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Mit: h: Plancksche Wirkungsquantum; $6.6260 \cdot 10^{-34}$ J·s
v: Wellenzahl bzw. Frequenz des Lichts
c: Lichtgeschwindigkeit; $3.00 \cdot 10^{8}$ m/s
λ: Wellenlänge des Lichts

Tabelle 6-12: Optische Leistungen der Dioden der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43.

Bestrahlungswellenlänge	P_λ(exp)	P_λ(Hersteller)
255 nm	1.73 mW	ca. 10 mW/cm^2
360 nm	8.99 mW	ca. 200 mW/cm^2
405 nm	95.1 mW	ca. 200 mW/cm^2

Setzt man eine Bestrahlungsfläche von 1 cm^2 voraus, liegen die tatsächlichen optischen Leistungen der Dioden bei 17 %, 5 % bzw. 48 % der Herstellerangaben von Atlas Photonics. Es ist daher anzunehmen, dass die tatsächliche Bestrahlungsfläche merklich geringer ist.
Da sich die optischen Leistungen der drei Dioden untereinander so stark unterscheiden, müssen die jeweilige Leistung beim Vergleich von Bestrahlungen bei verschiedenen Wellenlängen in Betracht gezogen werden.

6.1.4 Bestrahlungsgefäße

Es wurden Bestrahlungen in NMR-Röhrchen und Quarzglasküvetten durchgeführt.

NMR-Röhrchen

Bezeichnung	NMR-Röhrchen Economics
Hersteller	Duran Group GmbH
Material	Borsilikatglas
Länge	178 mm
Durchmesser aussen	4.97 mm
Durchmesser innen	4.20 mm

Quarzglasfluoreszenzküvette

Bezeichnung	111-QS
Hersteller	Hellma
Material	Quarzglas
Schichtdicke	10 mm x 10 mm
Volumina	3500 µl
Maße	4.6x12.5x12.5 mm
Durchmesser innen	10 mm
Bodendicke	1.25 mm
Fenster	4 Stück

6.1.5 HPLC-Anlage

6.1.5.1 HPLC-Software

Zur Auswertung der HPLC-Daten wird Software der Firma Agilent verwendet:

ChemStation for LC 3D systems
Rev. B.04.02 [96]
Copyright©Agilent Technologies [2001-2009]

6.1.5.2 Hardwarekomponenten der HPLC-Anlage



Abbildung 6.14: HPLC-Anlage der Firma Agilent Technologies.

Es handelt sich um eine HPLC-Anlage von der Firma Agilent Technologies der 1100/1200 Serie. Sie besteht aus folgenden Komponenten:

HPLC-Anlage

Lösungsmittelwanne	1100 Series Artikelnummer: 5062-8581
Entgaser	1200 Series Artikelnummer: G1322A
Quarternäre Pumpe *(aufgerüste Isokratische Pumpe)*	1100 Series Artikelnummer: G1310A
Autosampler	1200 Series Artikelnummer: G1329A
manuelles Injektionsventil	Rheodyneventil Artikelnummer: 7725i
UV-Vis-DAD	1100 Series Artikelnummer: G1315B
Fluoreszenz-DAD	1200 Series Artikelnummer: G1321A
Fraktionssammler	1100 Series Artikelnummer: G1364C

6.1.5.3 HPLC-Säulen

Im Rahmen dieser Arbeit kamen verschiedene HPLC-Säulen zum Einsatz.

YMC-Pack Pro C18 (semipräperativ)

Vorsäulenhalter	Artikelnummer: YMC XPGCH-Q1
Vorsäule	Länge: 10 mm Artikelnummer: AS12S050104
Säule	Art: semipräperativ Porendurchmesser:12 nm Partikeldurchmesser: 5 µm, sphärisch Länge x Innendurchmesser: 150 X 4.6 mm Oberfläche: 340 m^2/g Kohlenstoffgehalt: 17 % Optimaler pH-Bereich: 2.0-8.0 Artikelnummer: AS12S051546WT

YMC-Pack ODS-AQ (Methodenentwicklung)

Säule	Art: Methodenentwicklung Porendurchmesser:12 nm Partikeldurchmesser: 3 µm Länge x Innendurchmesser: 50 X 4.0 mm Oberfläche: 300 m^2/g Kohlenstoffgehalt: 14 % Optimaler pH-Bereich: 2.0-7.5 Artikelnummer: AQ12S030504KT

YMC-Pack ODS-AQ (semipräperativ)

Vorsäulenhalter	Artikelnummer: YMC XPGCS-Q1
Vorsäule	Porendurchmesser:12 nm
	Partikeldurchmesser: 3 µm
	Länge x Innendurchmesser: 10 X 4.0 mm
	Artikelnummer: AQ12S030104
Säule	Art semipräperativ
	Porendurchmesser:12 nm
	Partikeldurchmesser: 5 µm
	Länge x Innendurchmesser: 150 X 10 mm
	Oberfläche: 300 m^2/g
	Kohlenstoffgehalt: 14 %
	Optimaler pH-Bereich: 2.0-7.5
	Artikelnummer: AQ12S051510WT

YMC-Pack ODS-AQ (präperativ)

Vorsäulenhalter	Artikelnummer: YMC XPGCE20
Vorsäule	Porendurchmesser:12 nm
	Partikeldurchmesser: 9-11 µm
	Länge x Innendurchmesser: 10 X 20 mm
	Artikelnummer: AQ12S11-1520WT
	Artikelnummer: AQ12S110120FC
Säule	Art präperativ
	Porendurchmesser:12 nm
	Partikeldurchmesser: 10 µm
	Länge x Innendurchmesser: 150 X 20 mm
	Oberfläche: 300 m^2/g
	Kohlenstoffgehalt: 14 %
	Optimaler pH-Bereich: 2.0-7.5
	Artikelnummer: AQ12S11-1520WT

6.2 Bestrahlungsexperimente

Die Entwicklung von Messprozeduren, die für die jeweiligen Bestrahlungsexperimente optimiert wurden, ermöglicht den Gewinn zuverlässiger und aufschlussreicher Informationen. Eine unkomplizierte und damit reproduzierbare Vorgehensweise macht einen Vergleich dieser neuen Ergebnisse mit Zukünftigen möglich.

6.2.1 Photolyseuntersuchungen an *caged* Acetaten mittels HPLC

In diesem Kapitel wird die Photolyseuntersuchung der synthetisierten *caged* Acetate aus Kapitel 2.91 bei der die Gräntzelapparatur als Strahlungsquelle und die HPLC zur Quantifizierung benutzt wurden beschrieben. Die verwendeten Geräte werden in Kapitel 6.1.2, 6.1.3 und 6.1.5beschrieben.
Bei dieser Studie wurden Messlösungen von **NB**- (**CC01**), **MDNB**- (**CC02**) und **MDdiNB**-Acetat (**CC03**)bestrahlt.

Messlösungen

Konzentration	4.51 µM
Lösungsmittel	Acetonitril, HPLC-grade
Bestrahlungsgefäß	Quarzglasfluoreszenzküvette Hellma 111-QS
Volumina	4 ml

Der Abbau des jeweiligen *caged* Acetats wird mittels HPLC-Analyse bestimmt. Für alle Messungen gilt:

HPLC-Einstellungen

Vorsäule/Säule	YMC-Pack Pro C18
Laufmittel	100 % Acetonitril, HPLC-grade
Flussrate	1 ml/min
Probenschleife	20 µl
manuelles Injektionsvolumen	50 µl
Laufdauer	2.5 min

Die Detektionswellenlänge wird an das Absorptionsspektrum der einzelnen Verbindung angepasst. Der Integrationsbereich zur Bestimmung der Signalfläche wird durch die Retentionszeit des jeweiligen Acetats bestimmt.

Individuelle HPLC-Parameter

caged Compound	**NB**-Ac (**CC01**)	**MDNB**-Ac (**CC02**)	**MDdiNB**-Ac (**CC03**)
Integrationsbereich/min	1.90-2.20	1.92-2.10	1.80-2.10
$\lambda_{detek.}$/nm	260	347	361
t_R/min	2.08	1.99	1.92

Relative Menge des absorbierten Lichts

Für die Berechnung der relativen Quantenausbeuten in Kapitel 2.91 (Tabelle 2-13) wird ein Maß für die Menge an Photonen benötigt, welches vom *caged* Acetat absorbiert wird. Das Integral der Überlappungsfunktion der Absorption der *caged Compounds* und der Emission der Gräntzelapparatur kann dazu herangezogen werden.

Zur Bestimmung der Überlappungsfunktion verwendet man folgende Funktion:

$$I_{abs}^{rel} = \int_{215}^{500} I_0^{rel}(\lambda) \cdot (1 - 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d}) d\lambda$$

Mit: I_{abs}^{rel} : Intensität des absorbierten Lichts

I_0^{rel} : relative Intensität des eingestrahlten Lichts

ε: Extinktionskoeffizient/(l·cm^{-1}·mol^{-1})

c: Konzentration/(mol·l^{-1}) der Aktinometerlösung

d: Schichtdicke/cm = 1 cm

Man erhält folgende Überlappungsfunktionen und –integrale.

Tabelle 6-13: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *caged* Acetat-Lösungen bei Bestrahlung mit der Gräntzelapparatur mit eingesetztem 350 nm-Filter.

***caged* Acetat**	**Konzentration/µM**	**Integrationsfläche**
NB-Ac (**CC01**)	4.51	370
MDNB-Ac (**CC02**)	4.51	4269
MDdiNB-Ac (**CC03**)	4.51	4706

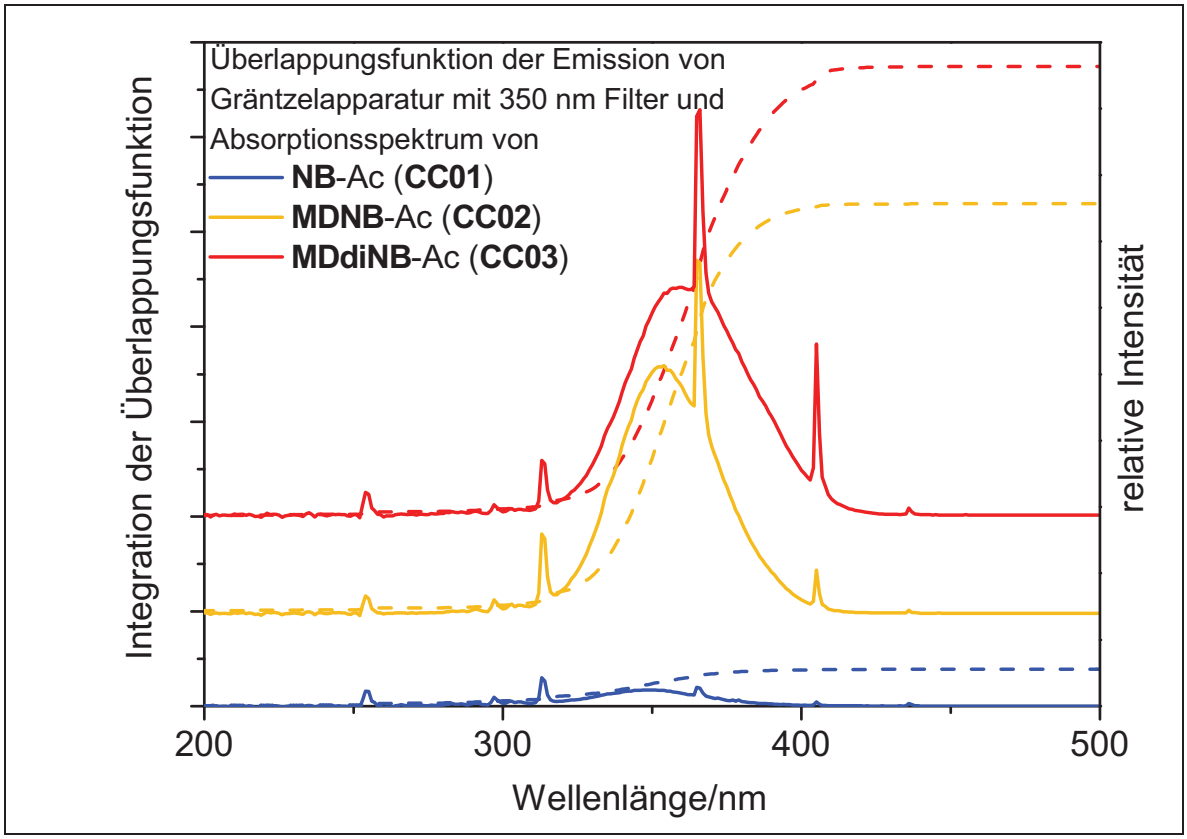


Abbildung 6.15.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *caged* Acetat-Lösungen mit der Emissionen der Gräntzelapparatur mit 350 nm-Filter.

6.2.2 Photolyseuntersuchungen an *caged* Benzoaten mittels HPLC

Die folgenden Bedingungen beziehen sich auf die Photolyseuntersuchungen der *caged* Benzoate, welche im Kapitel 2.9.2 beschrieben werden. Bei diesen Versuchen wurden Lösungen von *caged* Benzoaten, Bz, und 4-Nitrobenzoaten, 4NBz, mit der Bestrahlungsapparatur LUMOS 43 bestrahlt. Es wurde der photolytische Abbau bei Bestrahlungen mit Licht der Wellenlängen 255, 360 und 405 nm untersucht. Die quantitative Analyse erfolgte mittels HPLC. Die entsprechenden Gerätebeschreibungen bzw. –parameter befinden sich in Kapitel 6.1.3-5.

HPLC-Einstellungen:

Der Abbau des jeweiligen *caged* Benzoats bzw. 4-Nitrobenzoats untersucht wird mittels HPLC-Analyse bestimmt. Für alle Messungen gilt:

HPLC-Einstellungen

Vorsäule/Säule	YMC-Pack Pro C18
Laufmittel	80 % Acetonitril, HPLC-grade 20 % Wasser/TFA (pH 3)
Flussrate	1 ml/min
Probenschleife	20 µl
Injektionsvolumen	50 µl
Laufdauer	3.65 min (4.0 min für **MDdiNB**-4NBz (**CC09**))

Die Detektionswellenlänge wird an das Absorptionsspektrum der einzelnen Verbindung angepasst. Der Integrationsbereich zur Bestimmung der Signalfläche wird durch die Retentionszeit bestimmt.

Individuelle HPLC-Parameter

caged Compound	**NB**-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
Integrations-bereich /min	3.30-3.65	3.05-3.40	3.20-3.60	3.00-3.25	2.70-3.00
$\lambda_{detek.}$/nm	230	260	232	250	255
t_R/min	3.46	3.20	3.37	3.11	2.82

Messlösungen:

Bei dieser Studie wurden jeweils Messlösungen von **NB**- (**CC05**) und **MDNB**-Bz (**CC06**), sowie von **NB**- (**CC08**), **MDNB**- (**CC10**) und **MDdiNB**-4NBz (**CC09**) bestrahlt.

Messlösungen

Lösungsmittel	Acetonitril, HPLC-grade
Bestrahlungsgefäß	Quarzglasfluoreszenzküvette Helma 111-QS
Volumina	4 ml

Die Konzentrationen der Messlösungen wurden an die Absorbanzen bei λ_{max} der jeweiligen Diode angepasst. Es soll gelten $A = \varepsilon \cdot c \cdot d < 0.2$.

Konzentration Messlösungen für die Bestrahlung@255 nm

caged Compound	**NB**-Bz (**CC05**)	**NB**-4NBz (**CC08**)	**MDNB**-Bz (**CC06**)	**MDNB**-4NBz (**CC10**)	**MDdiNB**-4NBz (**CC09**)
c/µM	12.9	4.80	13.1	4.68	4.60
ε@255 nm	7350	20900	11500	20800	15000
A@255 nm	0.0948	0.100	0.150	0.0975	0.0909

Konzentration Messlösungen für die Bestrahlung@360 nm

caged Compound	**NB-**Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)
c/µM	207	276	20.4	18.0	23.4
ε@360 nm	440	348	6470	5000	4000
A@360 nm	0.0911	0.0960	0.132	0.0900	0.0936

Konzentration Messlösungen für die Bestrahlung@405 nm

caged Compound	**NB-**Bz (**CC05**)	**NB-**4NBz (**CC08**)	**MDNB-**Bz (**CC06**)	**MDNB-**4NBz (**CC10**)	**MDdiNB-**4NBz (**CC09**)
c/µM	207	276	291	360	52.0
ε@405 nm	/	/	211	311	1559
A@405 nm	/	/	0.0614	0.112	0.0811

Relative Menge des absorbierten Lichts der *caged Compounds*:

Für die Berechnung der relativen Quantenausbeuten in Kapitel 2.9.2 wird ein Maß für die Menge an Licht benötigt, welches von den *caged* Benzoaten und 4-Nitrobenzoaten absorbiert wird. Das Integral der Überlappungsfunktion der Absorption der *caged Compounds* und der Emission der LUMOS 43 ist ein solches Maß.
Zur Bestimmung der Überlappungsfunktion verwendet man folgende Funktion:

$$I_{abs}^{rel} = \int_{215}^{500} I_0^{rel}(\lambda) \cdot (1 - 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d}) d\lambda \qquad (\mathbf{6.1})$$

Mit: I_{abs}^{rel} : Intensität des absorbierten Lichts

I_0^{rel} : relative Intensität des eingestrahlten Lichts

ε: Extinktionskoeffizient/(l·cm^{-1}·mol^{-1})

c: Konzentration/(mol·l^{-1}) der Aktinometerlösung

d: Schichtdicke/cm = 1 cm

Man erhält die in den Abbildungen 6.16-18 abgebildeten Überlappungsfunktionen und –integrale.

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@255 nm

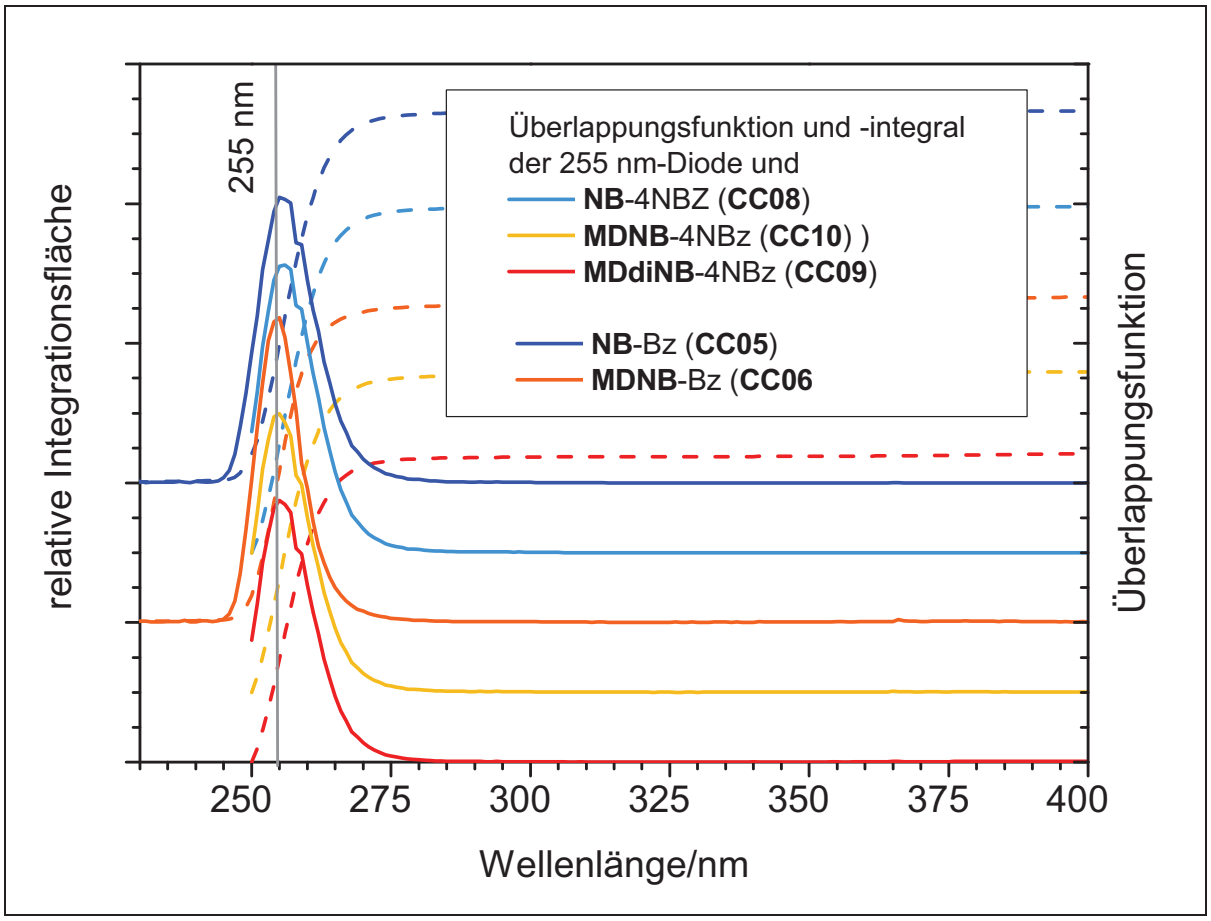


Abbildung 6.16.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen mit der Emissionen der 255 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-14: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen bei Bestrahlung mit der 255 nm-Diode der LUMOS 43.

caged Compound	**Integrationsfläche**
NB-Bz (**CC05**)	26647
NB-4NBz (**CC08**)	26509
MDNB-Bz (**CC06**)	23419
MDNB-4NBz (**CC10**)	24981
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	24433

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@360 nm

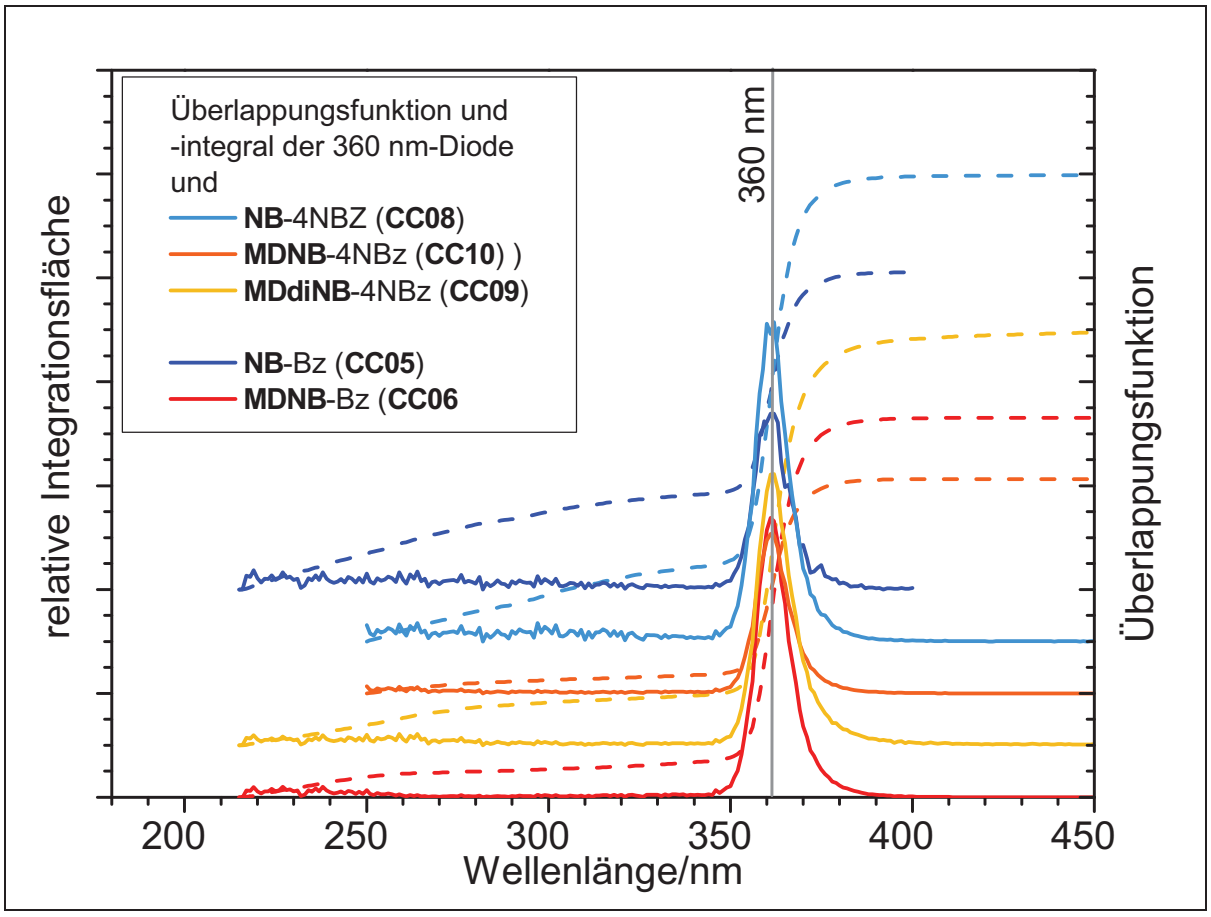


Abbildung 6.17.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen mit der Emissionen der 360 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-15: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen bei Bestrahlung mit der 360 nm-Diode der LUMOS 43.

caged Compound	**Integrationsfläche**
NB-Bz (**CC05**)	30568
NB-4NBz (**CC08**)	48390
MDNB-Bz (**CC06**)	36547
MDNB-4NBz (**CC10**)	33545
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	40174

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@405 nm

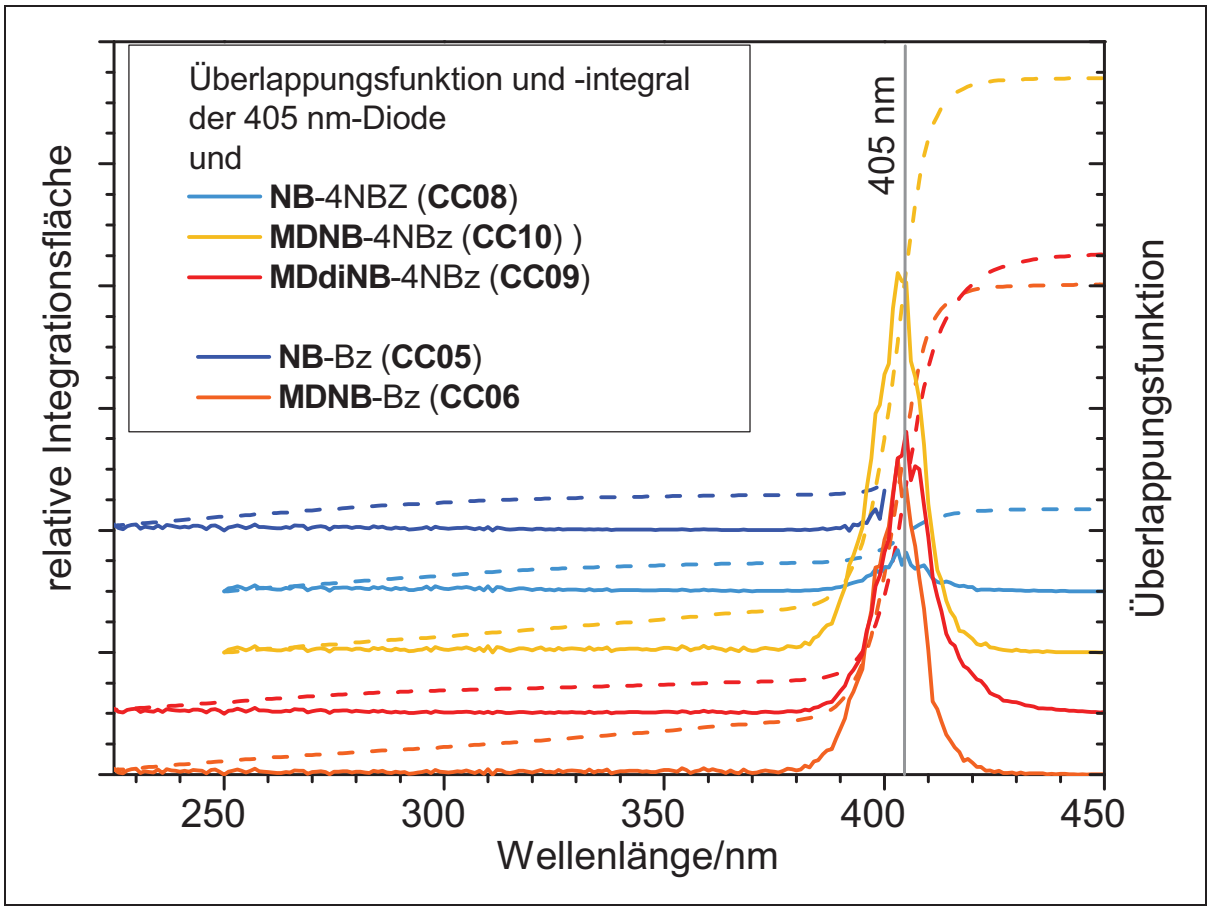


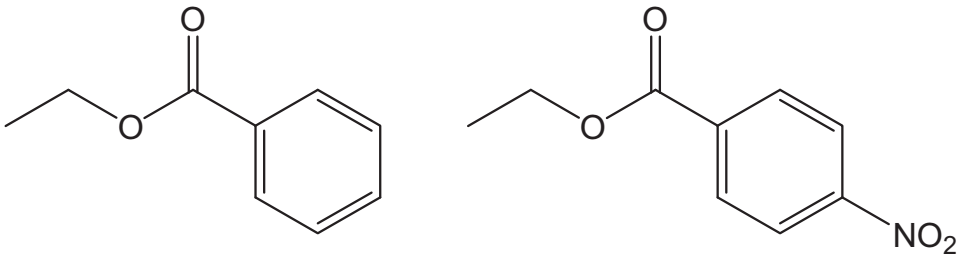
Abbildung 6.18.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen mit der Emissionen der 405 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-16: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *caged* Benzoat- und 4-Nitrobenzoat-Lösungen bei Bestrahlung mit der 405 nm-Diode der LUMOS 43.

caged Compound	**Integrationsfläche**
NB-Bz (**CC05**)	3804
NB-4NBz (**CC08**)	7832
MDNB-Bz (**CC06**)	40155
MDNB-4NBz (**CC10**)	50448
MDdiNB-4NBz (**CC09**)	37829

Relative Menge des absorbierten Lichts der *Caging*-gruppen:

Für die Berechnung der relativen Quantenausbeuten der photolabilen Schutzgruppen in Kapitel 2.10 wird ein Maß für den Anteil an Photonen benötigt, welcher von den *Caging*gruppen **NB** (**7**), **MDNB** (**15**) und **MDdiNB** (**21**) absorbiert wird. Üblicherweise verwendet man die Anzahl der absorbierten Photonen des gesamten Moleküls. In den Bestrahlungsversuchen dieser Arbeit werden neben Acetaten auch Benzoate und 4-Nitrobenzoate eingesetzt. Diese Chromophore können ebenfalls Photonen absorbieren, welche jedoch nicht zur Photolyse des *caged Compounds* führen können. Nur Photonen welche von der *Caging*gruppe absorbiert werden sind dazu in der Lage. Daher wird hier nur der Anteil der Photonen berücksichtigt, die von der photolabilen Schutzgruppe selbst absorbiert werden.
Das Integral der Überlappungsfunktion der Absorption der *Caging*gruppe und der Emission der LUMOS 43 kann hierzu verwendet werden.
Die Absorption der *Caging*gruppe erhält man in dem von den UV-Vis-Spektren der *caged Compounds* die Spektren von Modellverbindungen der geschützten Substrate abgezogen werden. Als Modellverbindungen für die Substratchromophore, die Benzoat- und 4-Nitrobenzoateinheiten, werden die Ethylester der Benzoesäure und der 4-Nitrobenzoesäure verwendet: Ethylbenzoat (**Et**-Bz, **49**) und Ethyl-4-Nitrobenzoat (**Et**-4NBz, **50**).



Et-Bz — Ethylbenzoat (**49**)

Et-4NBz — Ethyl-4-nitrobenzoat (**50**)

Abbildung 6.19: Modellverbindungen **49** und **50** für die Substratchromophore, die Benzoat- und 4-Nitrobenzoateinheiten der *caged Compounds*.

Die resultierenden Differenzspektren (siehe Abbildung 6.20) geben das Absorptionsverhalten der *Caging*gruppen wieder.

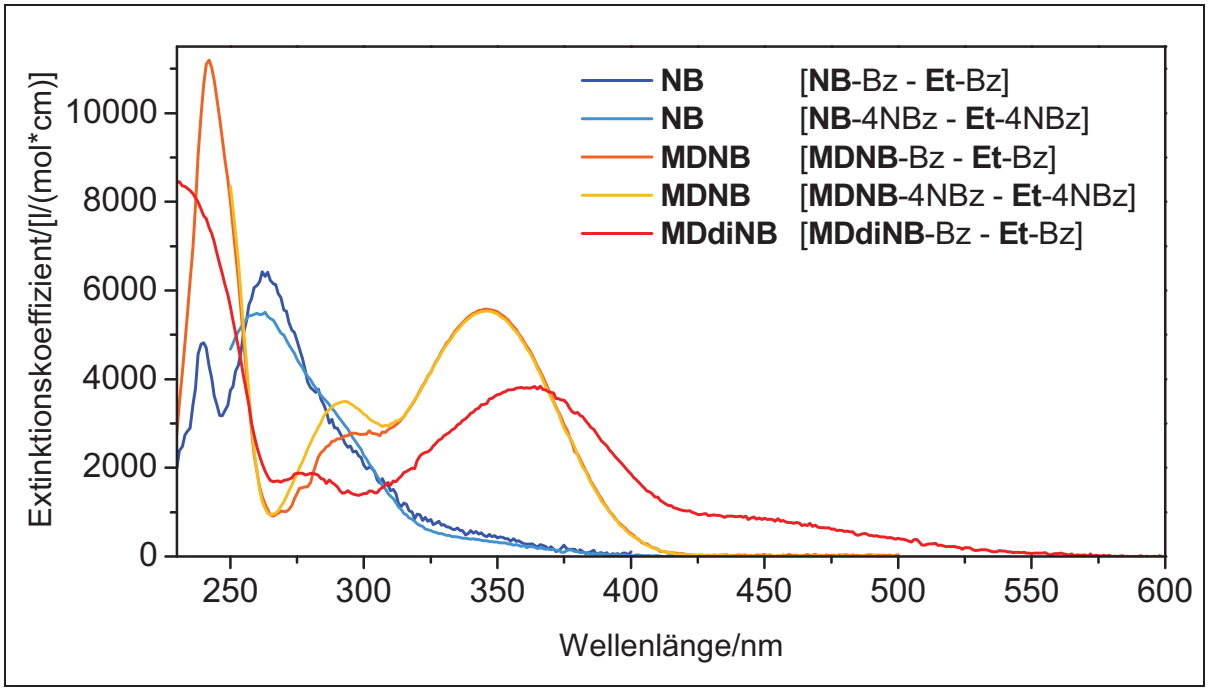


Abbildung 6.20: Absorptionsspektren der *Caging*gruppen als Differenzspektren der *caged* Benzoate und 4-Nitrobenzoate und der Modellsubstrate **Et**-Bz (**49**) bzw. **Et**-4NBz (**50**).

Zur Bestimmung der Überlappungsfunktion verwendet man wie zuvor folgende Funktion:

$$I_{abs}^{rel} = \int_{230}^{500} I_0^{rel}(\lambda) \cdot (1 - 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d}) d\lambda \qquad (\mathbf{6.2})$$

Mit: I_{abs}^{rel} : Intensität des absorbierten Lichts

I_0^{rel} : relative Intensität des eingestrahlten Lichts

ε: Extinktionskoeffizient/(l·cm^{-1}·mol^{-1})

c: Konzentration/(mol·l^{-1}) der Aktinometerlösung

d: Schichtdicke/cm = 1 cm

Man erhält folgende Überlappungsfunktionen und –integrale. Die angegebene Integrationsfläche ergibt sich aus der Gesamtfläche abzüglich der Fläche, die bedingt durch das Rauschen bis zum Onset des Peaks entsteht.

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@255 nm

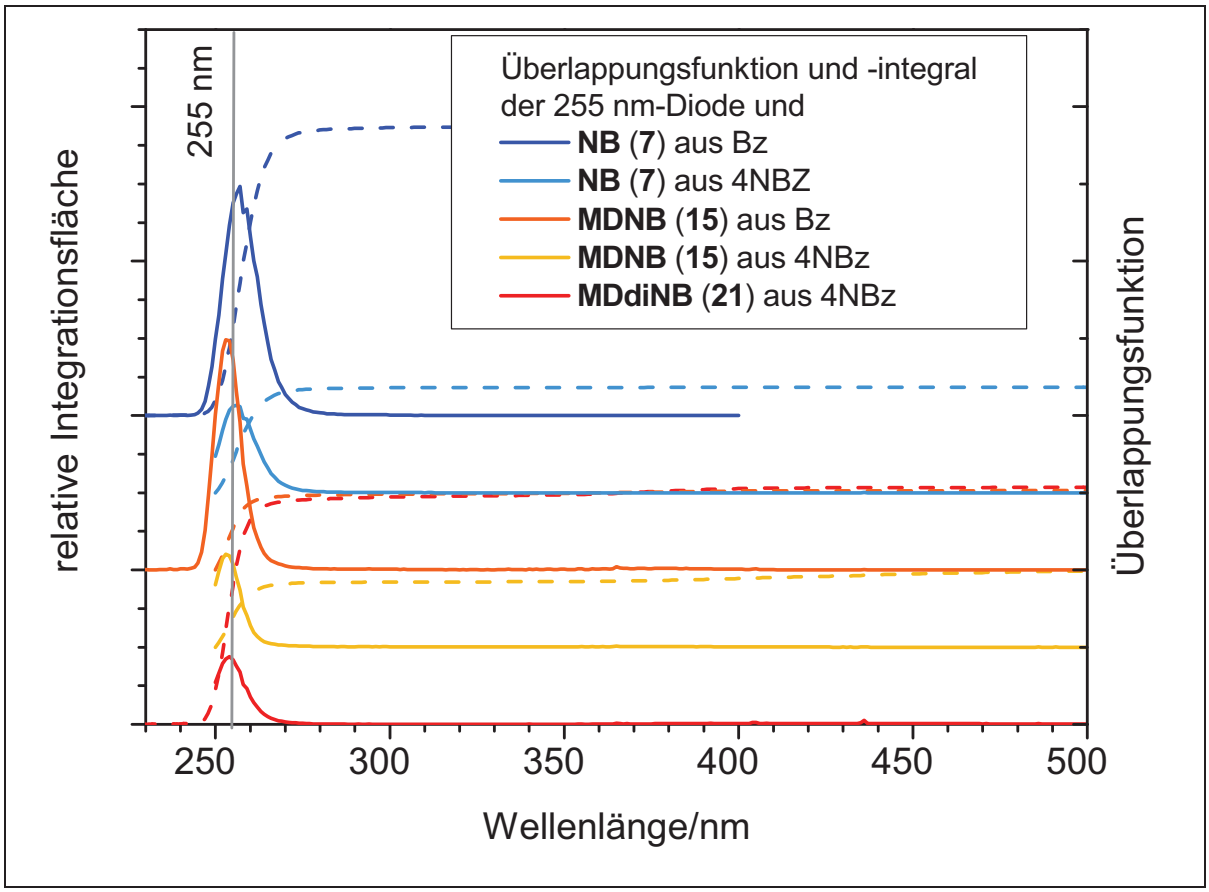


Abbildung 6.21.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *Caging*gruppen **NB** (**7**), **MDNB** (**15**) und **MDdiNB** (**21**) mit der Emissionen der 255 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-17: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *Caging*gruppen **NB**, **MDNB** und **MDdiNB** bei Bestrahlung mit der 255 nm-Diode der LUMOS 43.

***Caging*gruppe**	***aus***	**Integrationsfläche**
NB (**7**)	= **NB**-Bz – **Et**-Bz	18718
NB (**7**)	= **NB**-4NBz – **Et**-4NBz	7305
MDNB (**15**)	= **MDNB**-Bz – **Et**-Bz	15357
MDNB (**15**)	= **MDNB**-4NBz – **Et**-4NBz	5137
MDdiNB (**21**)	= **MDdiNB**-4NBz – **Et**-4NBz	5578

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@360 nm

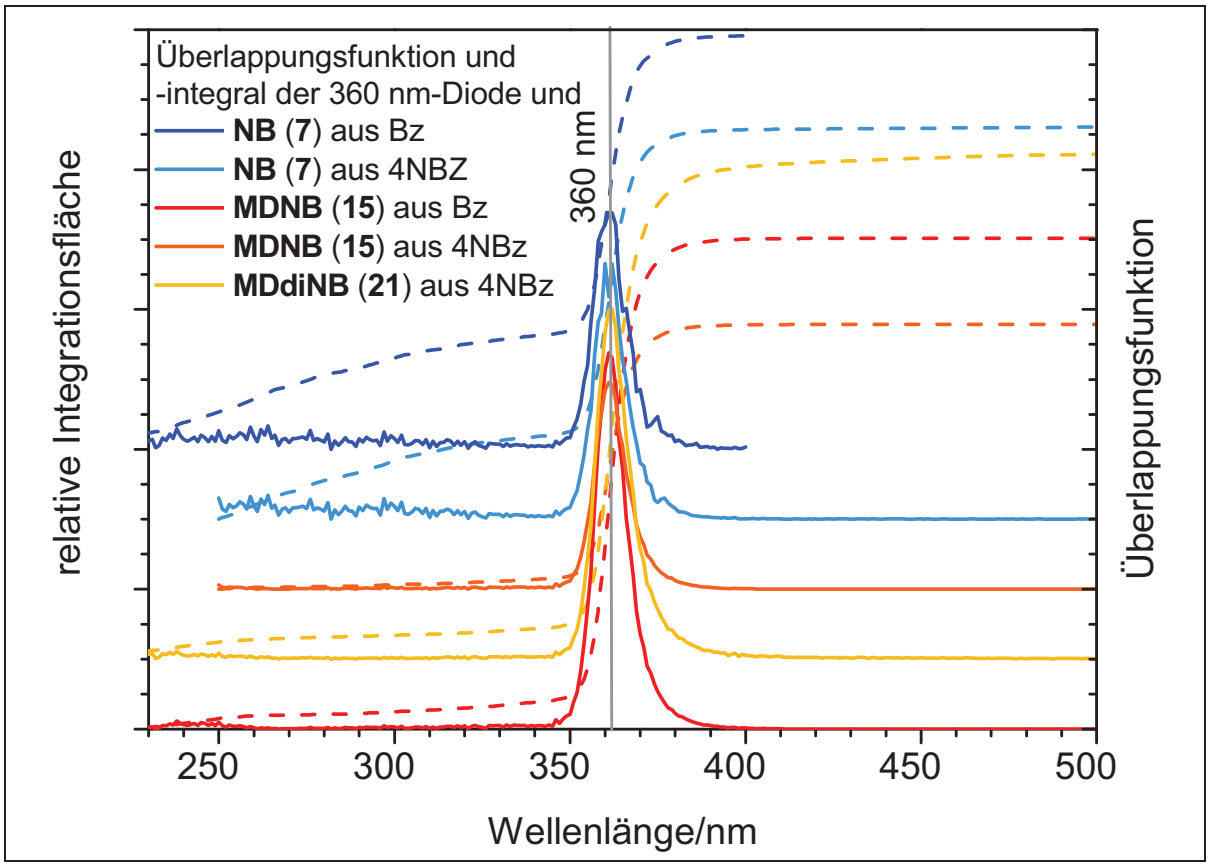


Abbildung 6.22.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *Caging*gruppen **NB** (**7**), **MDNB** (**15**) und **MDdiNB** (**21**) mit der Emissionen der 360 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-18: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *Caging*gruppen **NB**, **MDNB** und **MDdiNB** bei Bestrahlung mit der 360 nm-Diode der LUMOS 43.

***Caging*gruppe**	***aus***	**Integrationsfläche**
NB (**7**)	= **NB**-Bz – **Et**-Bz	29569
NB (**7**)	= **NB**-4NBz – **Et**-4NBz	28036
MDNB (**15**)	= **MDNB**-Bz – **Et**-Bz	35091
MDNB (**15**)	= **MDNB**-4NBz – **Et**-4NBz	18926
MDdiNB (**21**)	= **MDdiNB**-4NBz – **Et**-4NBz	36200

Überlappungsfunktionen und –integrale der Bestrahlungsversuche@405 nm

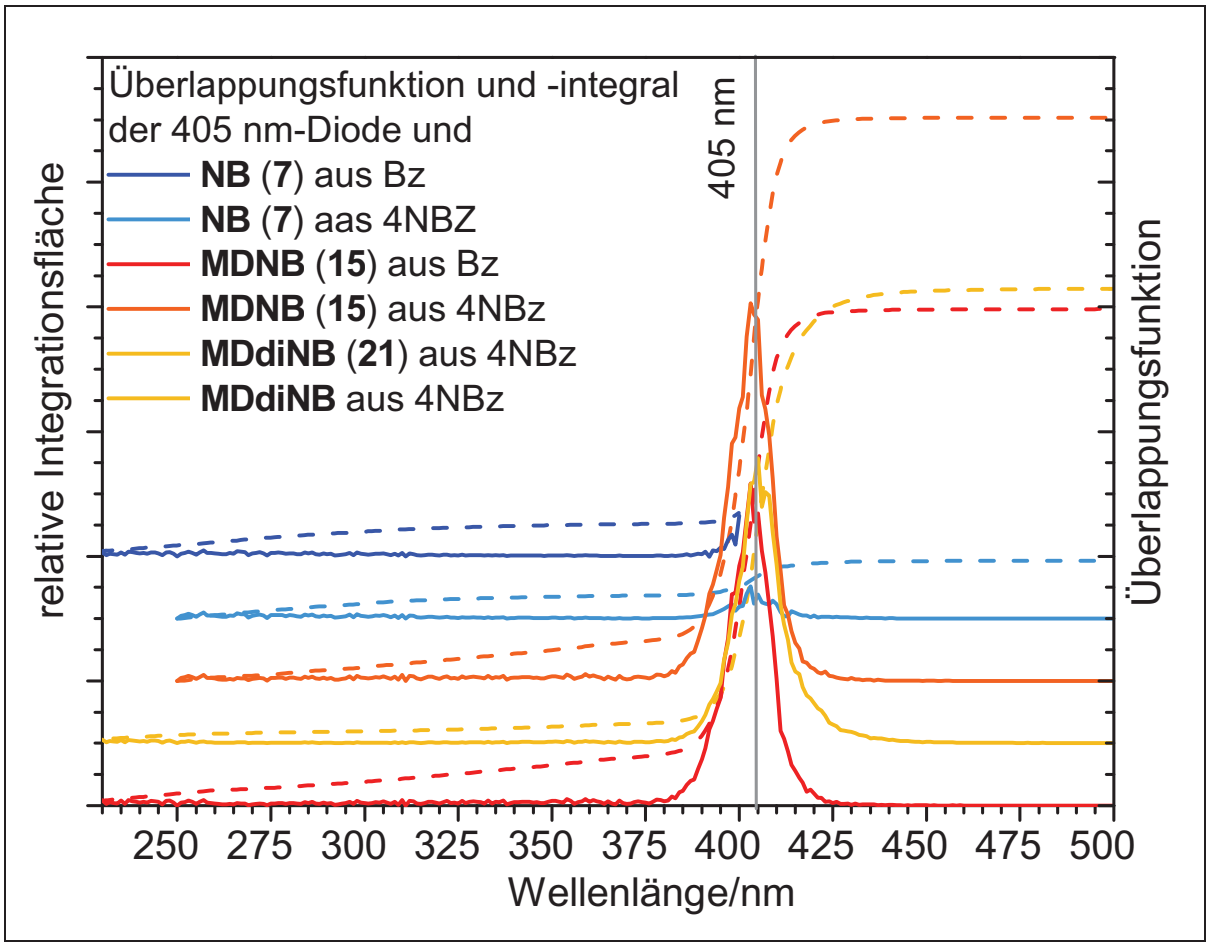


Abbildung 6.23.: Überlappungsfunktionen und –integrale der Absorption der *Caging*gruppen **NB** (**7**), **MDNB** (**15**) und **MDdiNB** (**21**) mit der Emissionen der 405 nm-Diode der LUMOS 43. Offset der Kurven in 5000er bzw. 500er Schritten.

Tabelle 6-19: Integrationsflächen des absorbierten Lichts der *Caging*gruppen **NB**, **MDNB** und **MDdiNB** bei Bestrahlung mit der 405 nm-Diode der LUMOS 43.

***Caging*gruppe**	***aus***	**Integrationsfläche**
NB (**7**)	= **NB**-Bz – **Et**-Bz	3510
NB (**7**)	= **NB**-4NBz – **Et**-4NBz	5462
MDNB (**15**)	= **MDNB**-Bz – **Et**-Bz	39822
MDNB (**15**)	= **MDNB**-4NBz – **Et**-4NBz	45177
MDdiNB (**21**)	= **MDdiNB**-4NBz – **Et**-4NBz	36493

6.3 Synthesen

6.3.1 Allgemeines

DPD-Kettenbaustein: Das in den Diphenyldecapentaensynthesen als Kettenbaustein verwendete 2,7-Dimethyl-2,4,6-trien-1,8-dial (**97**) wurde von der BASF zur Verfügung gestellt.

Dimethylformamid: Das in dieser Arbeit als „aminfrei“ bezeichnetes Dimethylformamid wurde vorgereinigt. 250 ml technisches Dimethylformamid wurden mit 30 ml Benzol und 6 ml Wasser versetzt. Die Lösung wird fraktioniert destilliert. Zuerst werden mit dem Wasser und Benzol vorhandene Amine und Ammoniak abdestilliert. Anschließend erhält man neutrales und geruchloses Dimethylformamid. Dieses wurde unter Argon gelagert und wurde in den Bichromophorsynthesen eingesetzt.[157]

Dünnschichtchromatographie: Für die dünnschichtchromatographischen Voruntersuchungen der säulenchromatographischen Reinigung werden mit Kieselgel 60 beschichtete DC-Aluminiumplatten mit UV-Indikator F_{254} von Merck verwendet.

DY495-X5-NHS-Ester (142) und DY505-X5-NHS-Ester (143): Die in dieser Arbeit verwendeten Fluorescein- und Rhodaminfarbstoffbausteine DY495-X5-NHS Ester und DY505-X5-NHS Ester wurden isomerenrein von der Firma Dyomics erworden.

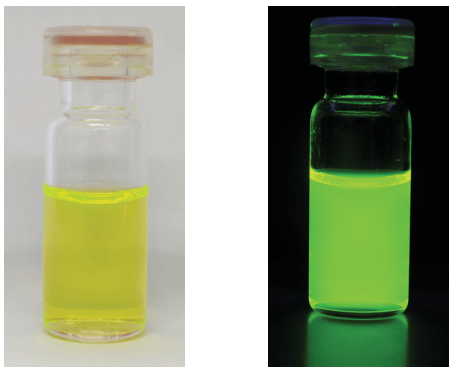


Abbildung 6.24: Methanolisch Lösung von **DY505-X5-NHS Ester** (**143**).

Kieselgel: In dieser Arbeit wurden folgende Kieselgele für säulenchromatographische Reinigungen verwendet:

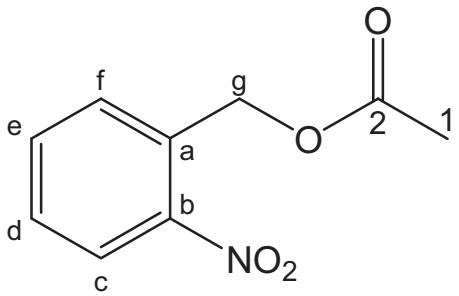
Kieselgel 60	60 Å, 40-63 µm, 230-400 mesh	Merck
Kieselgel 60	60 Å, 40-63 µm	Fluka
ODS-AQ	Porendurchmesser: 12 nm, Partikeldurchmesser: 5 µm, Oberfläche: 300 m^2/g, C-gehalt: 14 %, Optimaler pH-Bereich: 2.0-7.5	YMC

Natriumhydrid: Als Natriumhydrid wird in den folgenden Synthesen eine 60%ige Suspension in Mineralöl eingesetzt.

6.3.2 Versuchsbeschreibungen

6.3.2.1 *Caged Compounds*

Versuch 1: (2-Nitrobenzyl)-acetat (CC01)[23]#



CC01

Unter Lichtausschluss werden 3.0 g (20 mmol) 2-Nitrobenzylalkohol (**25**) in 9.0 ml Pyridin gelöst. Die Reaktionslösung wird auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 1.6 ml (22 mmol) Acetylchlorid (**26**) werden langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt.
Unter Eiskühlung wird die Lösung mit 25 ml destilliertem Wasser hydrolysiert und dreimal mit je 75 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 100 ml verdünnter Salzsäure und einmal mit 100 ml destilliertem Wasser gewaschen, um noch vorhandenes Pyridin zu entfernen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt.
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 aufgereinigt. Als Laufmittel dient Methylenchlorid.

$C_9H_9NO_4$ (M = 195.17 g/mol)

Ausbeute: 3.3 g (17 mmol, 85 %) **CC01** **Lit**: 88 % [23]

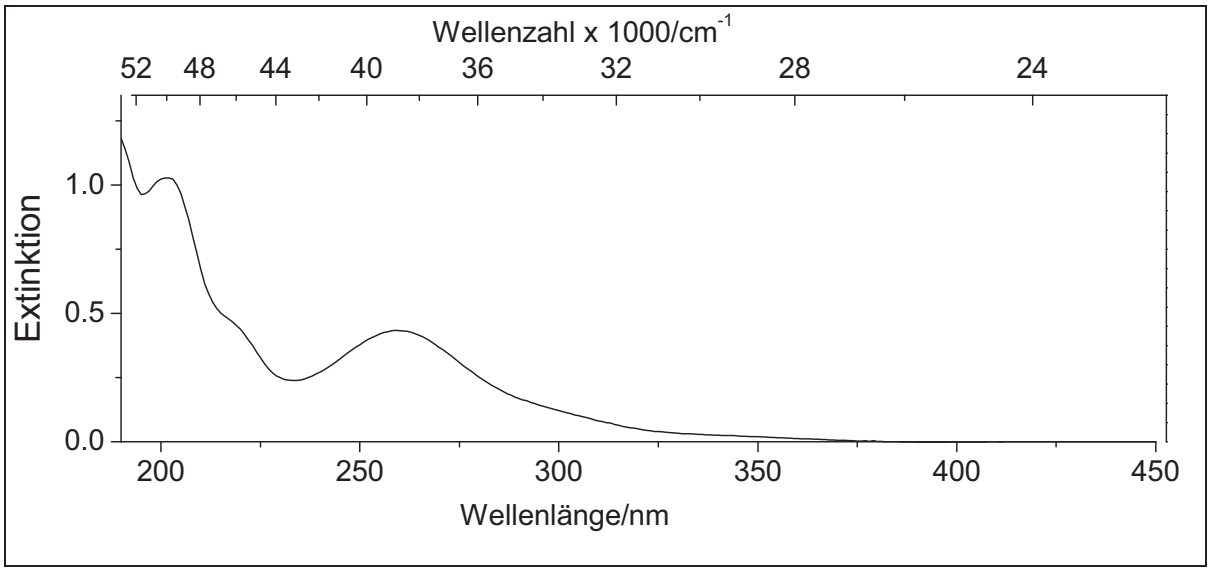


Abbildung 6.25: UV-Vis-Spektrum von **CC01** in Acetonitril (c = 166 µM, d = 0.25 cm).

UV-Vis (Acetonitril):[23]*

λ_{max} (ε_{max}) = 202 (24800 (l/mol)*cm-1), 259 (10500 (l/mol)*cm-1) nm.

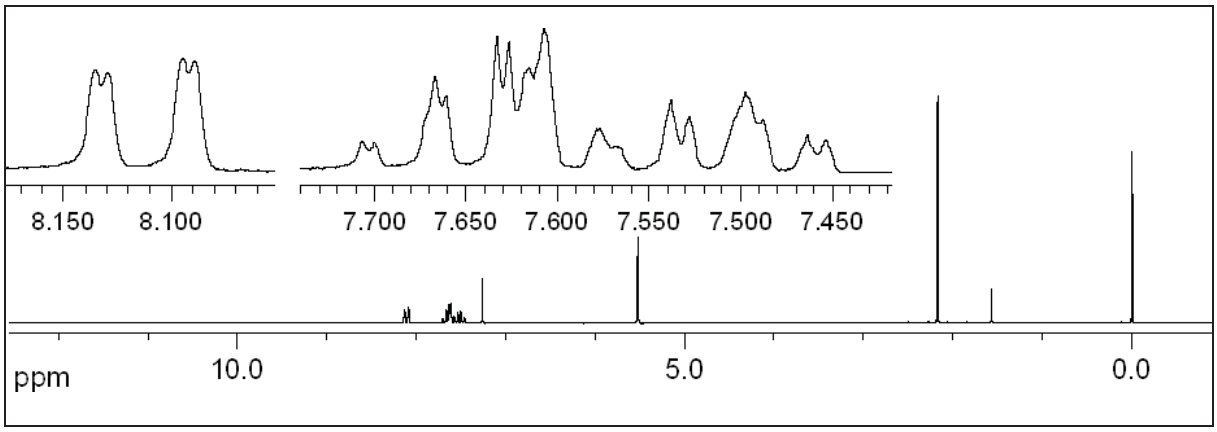
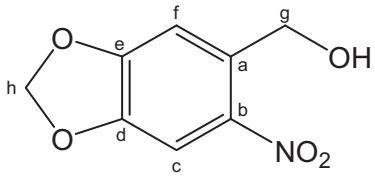


Abbildung 6.26: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **CC01**.

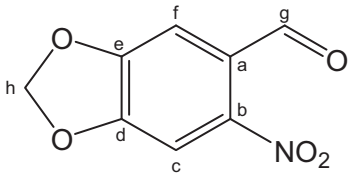
^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[23]*

δ = 8.11 (dd, 1 H, $^3J_{cd}$ = 8.1 Hz, $^4J_{ce}$ = 1.1 Hz H-c), 7.63 – 7.72 (m, 1 H, H-d), 7.60 (dd, 1 H, $^3J_{fe}$ = 8.0 Hz, $^4J_{fd}$ = 1.8 Hz H-f), 7.44 – 7.56 (m, 1 H, H-e), 5.52 (s, 2 H, H-g), 2.17 (s, 3 H, H-1) ppm.

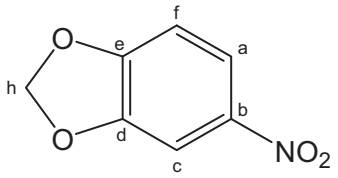
Versuch 2: 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylalkohol (28), 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (29) und 3,4-(Methylendioxy)-1-nitrobenzol (30)[23]#



28



29



30

Unter Lichtausschluss werden 16 ml einer Mischung aus Eisessig und rauchende Salpetersäure im Verhältnis 3:1 auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 4.04 g (26.2 mmol) Piperonylalkohol (**27**) werden portionsweise zugegeben, so dass die Temperatur nicht über 0 °C steigt. Man lässt die Reaktionslösung 10 min rühren.
Der Reaktionsansatz wird mit Eis hydrolysiert. Die Mischung der Produkte fällt in Form eines gelben Feststoffes aus. Er wird abfiltriert und mit 100 ml Diethylether gewaschen. Die Mischung der Produkte unter vermindertem Druck getrocknet.
Zur Identifikation der Produkte wurde nur ein Teil der Mischung säulenchromatographisch mit Methylenchlorid an Kieselgel 60 aufgereinigt. Aufgrund der Vielzahl an entstandenen Verbindungen wurde auf eine quantitative Aufarbeitung verzichtet.

4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylalkohol (**MDNB**-OH, **28**) :

$C_8H_7NO_5$ (M = 197.14 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.18

4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylaldehyd (**MDN**-Benzaldehyd, **29**):

$C_8H_5NO_5$ (M = 195.13 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.71

3,4-(Methylendioxy)-1-nitrobenzol (**MDN**-Benzol, **30**):

$C_7H_5NO_4$ (M = 167.12 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.84

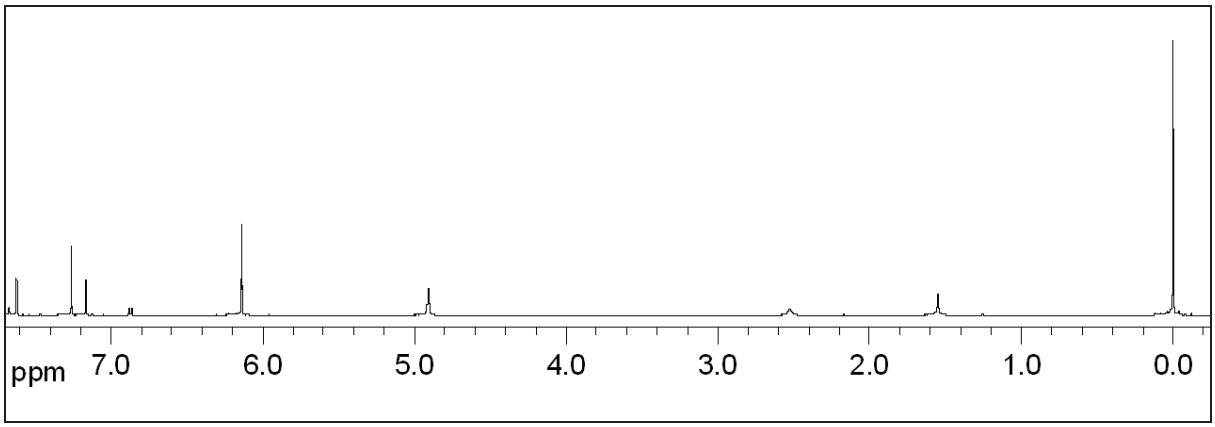


Abbildung 6.27: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **MDNB**-OH (**28**).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[23]*

δ = 7.62 (s, 1 H, H-c), 7.16 (s, 1 H, H-f), 6.14 (s, 2 H, H-g), 4.91 (s, 2 H, H-h), 2.53 (s, 1 H, -OH) ppm[23].

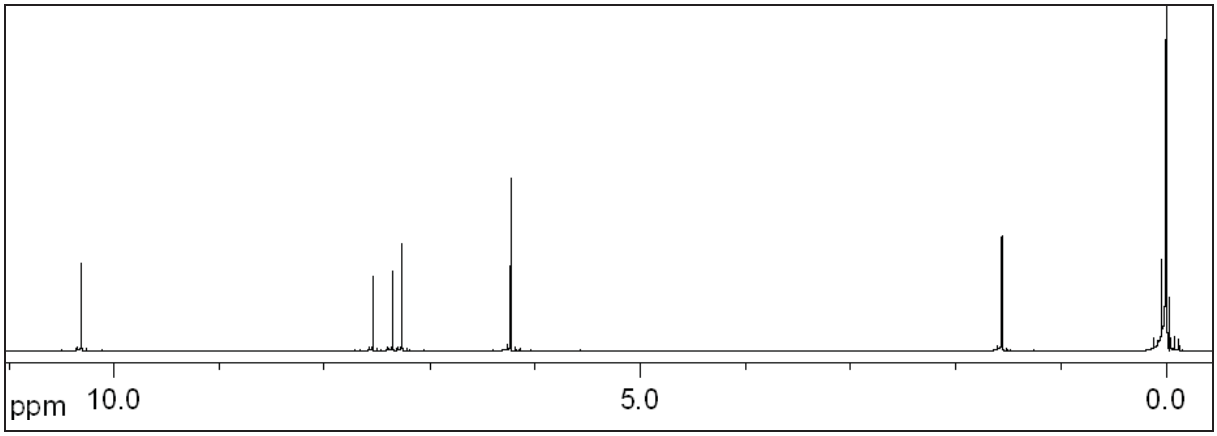


Abbildung 6.28: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **MDN**-Benzaldehyd (**29**).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[158]*

δ = 10.31 (s, 1 H, H-g), 7.54 (s, 1 H, H-c), 7.35 (s, 1 H, H-f), 6.22 (s, 2 H, H-h) ppm.

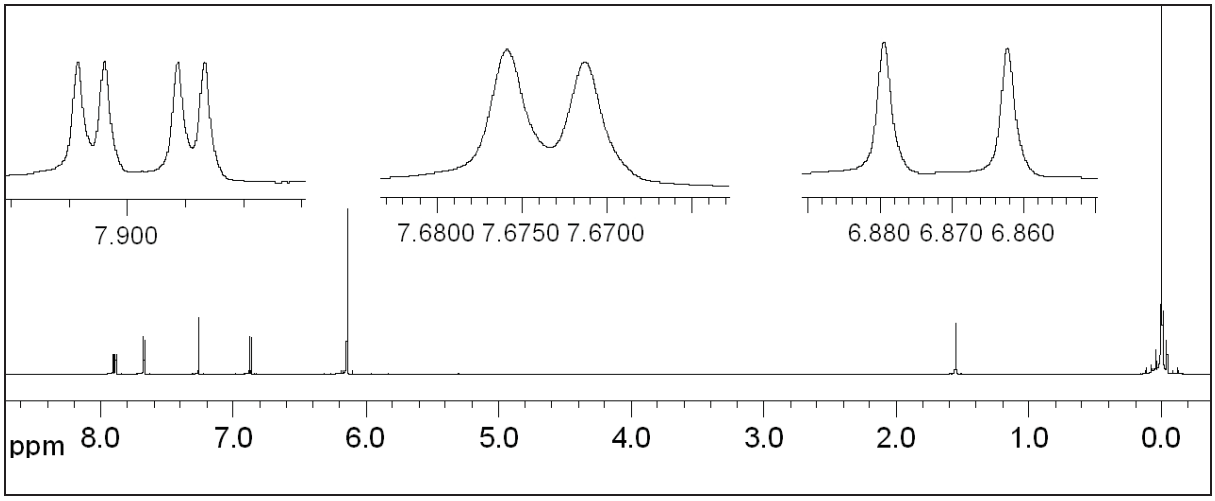
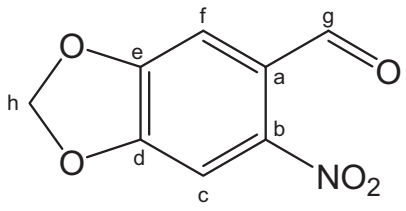


Abbildung 6.29: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **MDN**-Benzol (**30**).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[159]*

δ = 7.90 (dd, 1 H, $^{3}J_{af}$ = 8.6 Hz, $^{4}J_{ab}$ = 2.2 Hz, H-a), 7.67 (d, 1 H, $^{4}J_{ca}$ = 2.2 Hz, H-c), 6.87 (d, 1 H, $^{3}J_{fa}$ = 8.6 Hz, H-a), 6.14 (s, 2 H, H-h) ppm.

Versuch 3: 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (29)



29

Unter Lichtausschluss werden 12 ml einer Mischung aus Eisessig und rauchende Salpetersäure im Verhältnis 3:1 vorgelegt. Die Lösung wird mit einem Wasserbad auf 10 °C abgekühlt. 2.00 g (13.1 mmol) Piperonylalkohol (**27**) werden in einer Portion zugegeben. Man lässt die Reaktionslösung 10 min rühren. Der Reaktionsansatz wird auf 150 ml Eiswasser gegossen. Das Rohprodukt **27** fällt in Form eines gelben Feststoffes aus. Dieser wird abfiltriert und mit 50 ml kaltem Wasser und 50 ml eiskaltem Diethylether gewaschen. Der Rückstand wird in 30 ml 30 °C warmen Ethanol gelöst. Die Lösung wird abfiltriert und mit 100 ml Wasser versetzt. Nach 12 h bei 5 °C wird ausgefallener Feststoff abfiltriert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Methylenchlorid aufgereinigt.

$C_8H_5NO_5$ (M = 195.13 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.71

Ausbeute: 1.01 g (5.18 mmol, 40 %) **29**

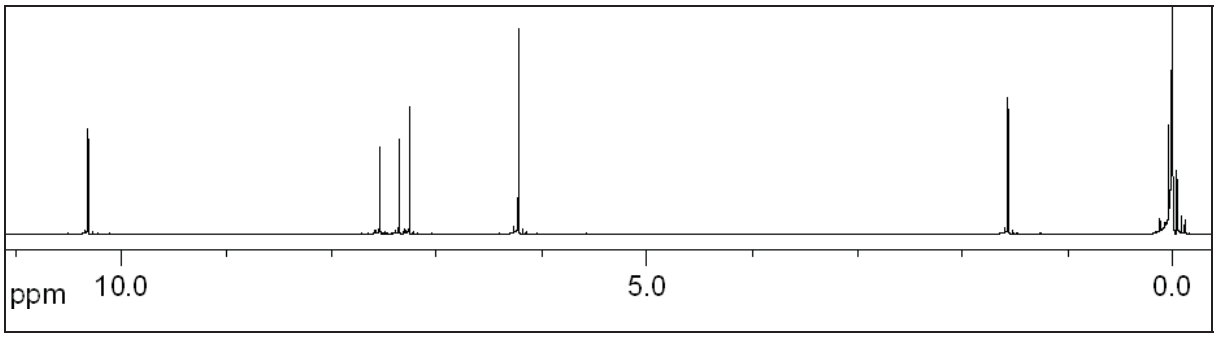
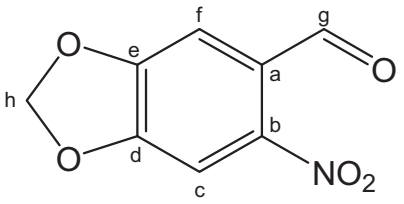


Abbildung 6.30: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **29**.

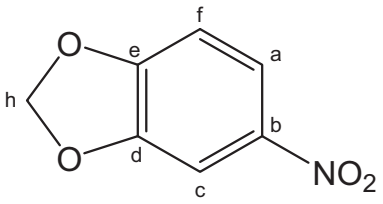
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[158]*

δ = 10.31 (s, 1 H, H-g), 7.54 (s, 1 H, H-c), 7.35 (s, 1 H, H-f), 6.22 (s, 2 H, H-h) ppm.

Versuch 4: 4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (29) und 3,4-(Methylendioxy)-1-nitrobenzol (30)



29



30

Unter Lichtausschluss werden 35 ml Eisessig und 10 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 5.00 g (33.3 mmol) Piperonal (**31**) werden portionsweise zugegeben, so dass die Temperatur nicht über 0 °C steigt. Man lässt die Reaktionslösung 45 min rühren.

Der Reaktionsansatz wird zur Hydrolyse auf Eis gegossen. Das Rohprodukt fällt in Form eines gelben Feststoffes aus. Er wird unter vermindertem Druck getrocknet.

Die Rohprodukte werden säulenchromatographisch mit Methylenchlorid an Kieselgel 60 aufgereinigt.

4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzylaldehyd (**29**):

$C_8H_5NO_5$ (M = 195.13 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.40

3,4-(Methylendioxy)-1-nitrobenzol (**30**):

$C_7H_5NO_4$ (M = 167.12 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.57

Ausbeute: 1.43 g (7.33 mmol, 22 %) **MDN**-Benzaldehyd (**29**)

247 mg (1.48 mmol, 4 %) **MDN**-Benzol (**30**)

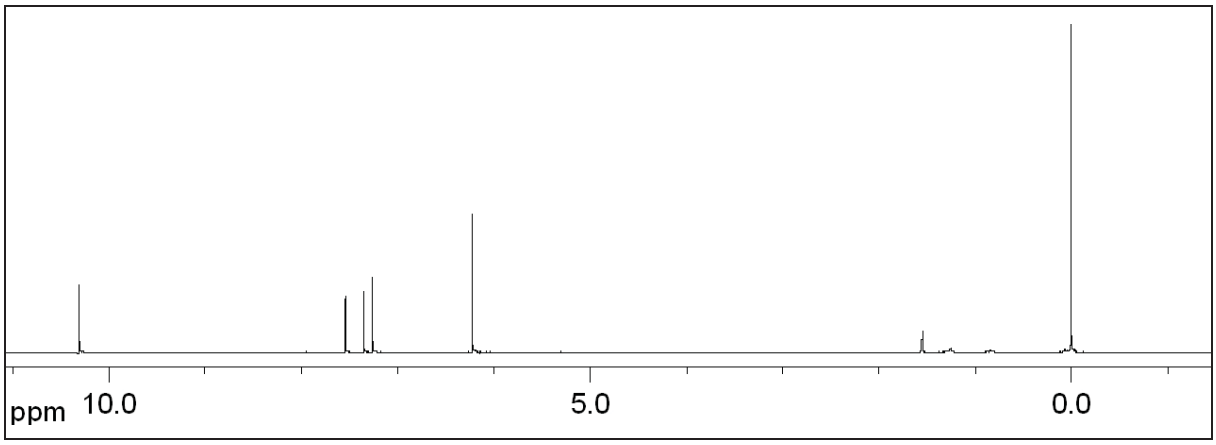


Abbildung 6.31: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **MDN**-Benzaldehyd (**29**).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[158]*

δ = 10.31 (s, 1 H, H-g), 7.54 (s, 1 H, H-c), 7.35 (s, 1 H, H-f), 6.22 (s, 2 H, H-h) ppm.

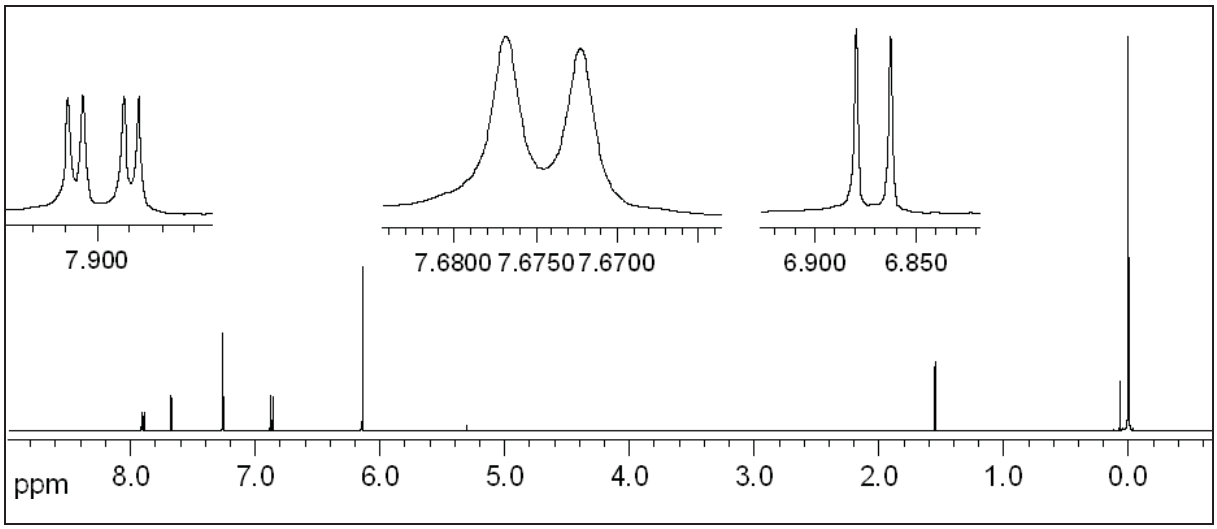
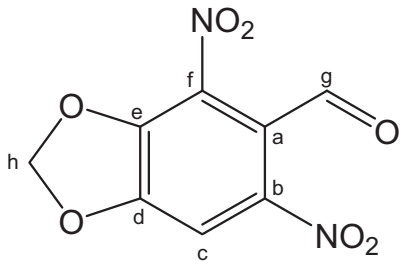


Abbildung 6.32: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **MDN**-Benzol (**30**).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[159]*

δ = 7.90 (dd, 1 H, $^{3}J_{af}$ = 8.6 Hz, $^{4}J_{ac}$ = 2.3 Hz, H-a), 7.68 (d, 1 H, $^{4}J_{ca}$ = 2.3 Hz, H-c), 6.87 (d, 1 H, $^{3}J_{fa}$ = 8.6 Hz, H-f), 6.14 (s, 2 H, H-h) ppm.

Versuch 5: 3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzaldehyd (32)



32

Unter Lichtausschluss werden 3 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C gekühlt. 500 mg (2.56 mmol) 3,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzaldehyd (**29**) werden portionsweise zugegeben. Man lässt die gekühlte Reaktionslösung 30 min rühren.

Der Reaktionsansatz wird auf 50 ml Eis gegossen. Die wässrige Suspension wird dreimal mit je 75 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt **32** wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Diethylether als Laufmittel aufgereinigt.

$C_8H_4N_2O_7$ (M = 240.13 g/mol)

$R_f(Et_2O) \approx 0.45$

Ausbeute: ~ 5 mg (20 µmol, < 1 %) **32**

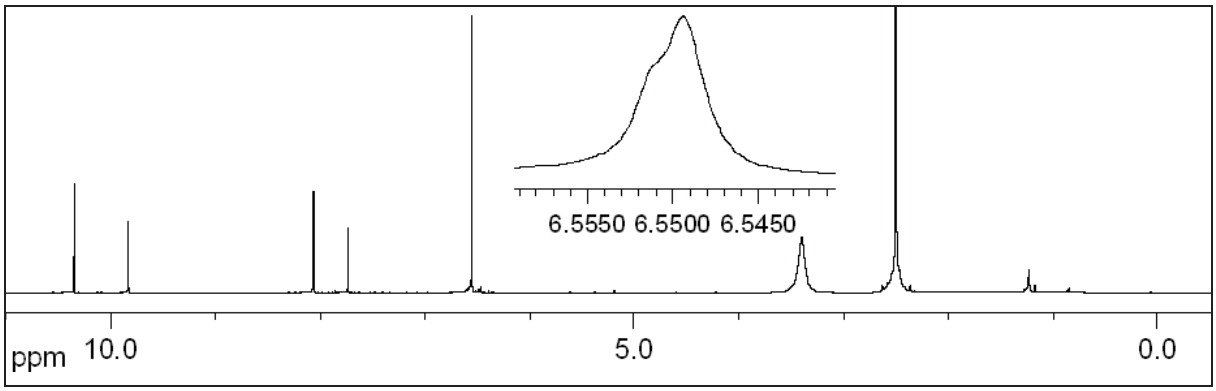


Abbildung 6.33: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO), **32**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO):

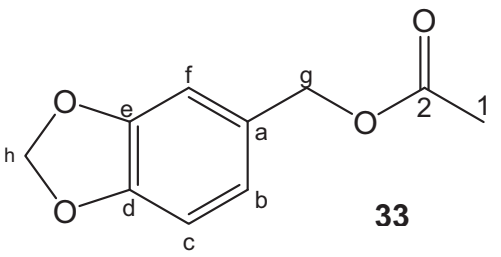
δ (Monomer) = 10.34 (s, 1 H, H-g), 8.06 (s, 1 H, H-c), 6.55 (s, 2 H, H-h) ppm.

δ (Dimer) = 9.83 (s, 1 H, H-g), 7.53 (s, 1 H, H-c), 6.55 (s, 2 H, H-h) ppm.

Das Dimer entsteht durch Aggregation in Lösung. Ein Wechsel des Lösungsmittels in NMR-Proben verschiebt das Monomer-Dimer-Gleichgewicht.

Versuch 6: Piperonylacetat (33)

Unter Lichtausschluss werden 1.93 g (12.7 mmol) Piperonylalkohol (**27**) in 6 ml Pyridin vorgelegt. Bei 0 °C werden 1.0 ml (1.1 g, 14.0 mmol) Acetylchlorid (**26**) langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 12 h bei Raumtemperatur gerührt.



33

Zur Hydrolyse werden 30 ml destilliertes Wasser zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 100 ml destilliertem Wasser und einmal mit 100 ml verdünnter Salzsäure (pH ~ 1) gewaschen. Die Lösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit Diethylether an Kieselgel 60 aufgereinigt.

$C_{10}H_{10}O_4$ (M = 194.18 g/mol)

$R_f(Et_2O) \approx 0.67$

Ausbeute: 2.44 g (12.6 mmol, 99 %) **33**

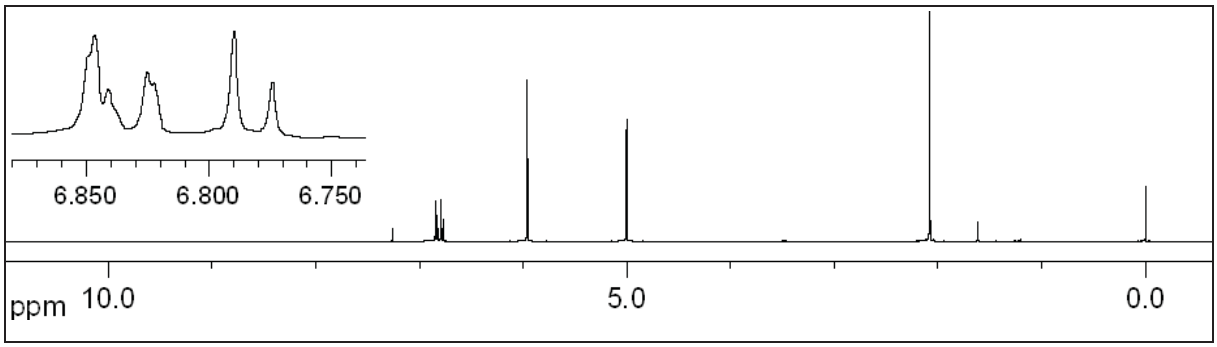
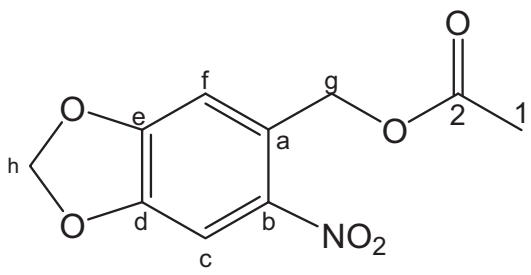


Abbildung 6.34: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **33**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[160]*

δ = 6.85 (s, 1 H, H-f), 6.83 (d, 1 H, $^3J_{bc}$ = 7.9 Hz, H-b), 6.78 (d, 1 H, $^3J_{cb}$ = 7.8 Hz, H-c), 5.96 (s, 2 H, H-h), 5.00 (s, 2 H, H-g), 2.08 (s, 3 H, H-1) ppm.

Versuch 7: [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-acetat (CC02)



CC02

Unter Lichtausschluss werden 13.5 ml Eisessig und 4 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 1.53 g (7.88 mmol) Piperonalacetat (**33**) werden so zugetropft, dass die Temperatur nicht über 0 °C steigt. Man lässt die Reaktionslösung 1 h bei 0 °C rühren.

Das Reaktionsgemisch wird mit 20 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Das Rohprodukt fällt als Feststoff aus. Er wird abfiltriert, mit 150 ml Wasser gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Diethylether aufgereinigt. Man erhält das Produkt als hellgelben Feststoff.

$C_{10}H_9NO_6$ (M = 239.18 g/mol)

$R_f(Et_2O) \approx 0.48$

Ausbeute: 1.81 g (7.56 mmol, 96 %) **CC02**

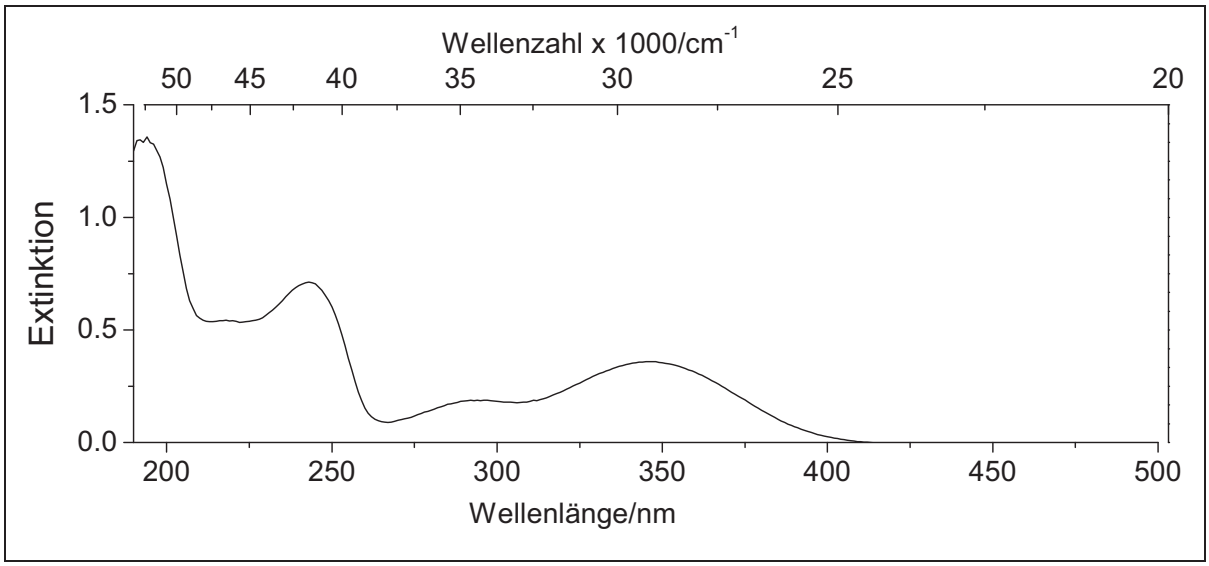


Abbildung 6.35: UV-Vis-Spektrum von **CC02** in Acetonitril (c = 147 µM, d = 0.25 cm).

UV-Vis (Acetonitril):[23]*

λ_{max} (ε_{max}) = 194 (36900 (l/mol)*cm-1), 218 (14700 (l/mol)*cm-1), 243 (19400 (l/mol)*cm-1), 294 (5080 (l/mol)*cm-1), 347 (9750 (l/mol)*cm-1) nm.

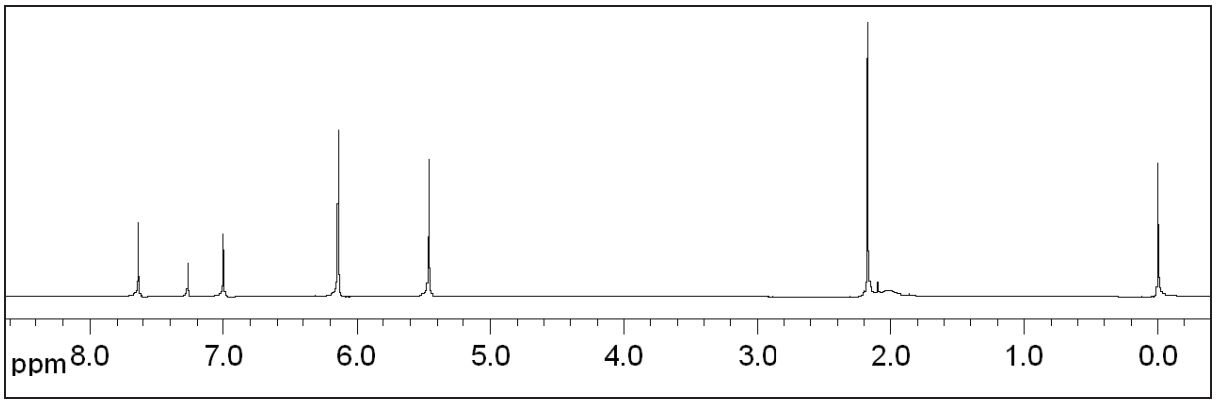
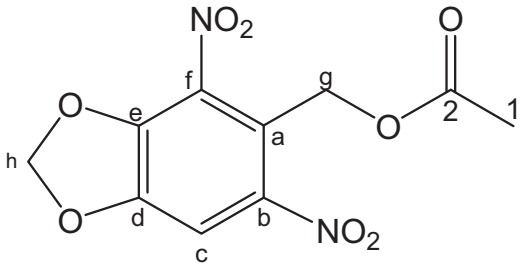


Abbildung 6.36: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **CC02**.

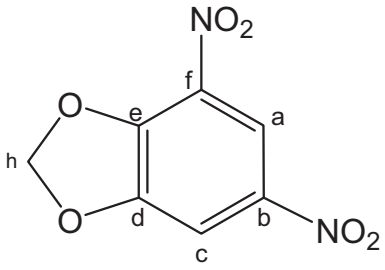
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[23]*

δ = 7.64 (s, 1 H, H-c), 7.00 (s, 1 H, H-f), 6.14 (s, 2 H, H-h), 5.46 (s, 2 H, H-g), 2.17 (s, 3 H, H-1) ppm.

Versuch 8: [3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-acetat (CC03) und 1,2-(Methylendioxy)-3,5-dinitrobenzol (34)



CC03



34

Unter Lichtausschluss werden 15 ml rauchende Salpetersäure auf 0 °C abgekühlt. 2.50 g (12.9 mmol) Piperonylacetat (**33**) werden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 12 h bei Raumtemperatur gerührt.

Der Reaktionsansatz wird zur Hydrolyse auf 150 ml Eis gegossen. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Diethylether aufgereinigt.

[3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-acetat (**MDdiNB**-Ac, **CC03**):

$C_{10}H_8N_2O_8$ (M = 248.18 g/mol)

$R_f(Et_2O) \approx 0.30$

1,2-(Methylendioxy)-3,5-dinitrobenzol (**MDdiNB**-Benzol, **34**):

$C_7H_4N_2O_6$ (M = 212.12 g/mol)

$R_f(Et_2O) \approx 0.45$

Ausbeute: 620 mg (2.50 mmol, 19 %) **MDdiNB**-Ac (**CC03**)

36 mg (170 µmol, 1 %) **MDdiNB**-Benzol, (**34**)

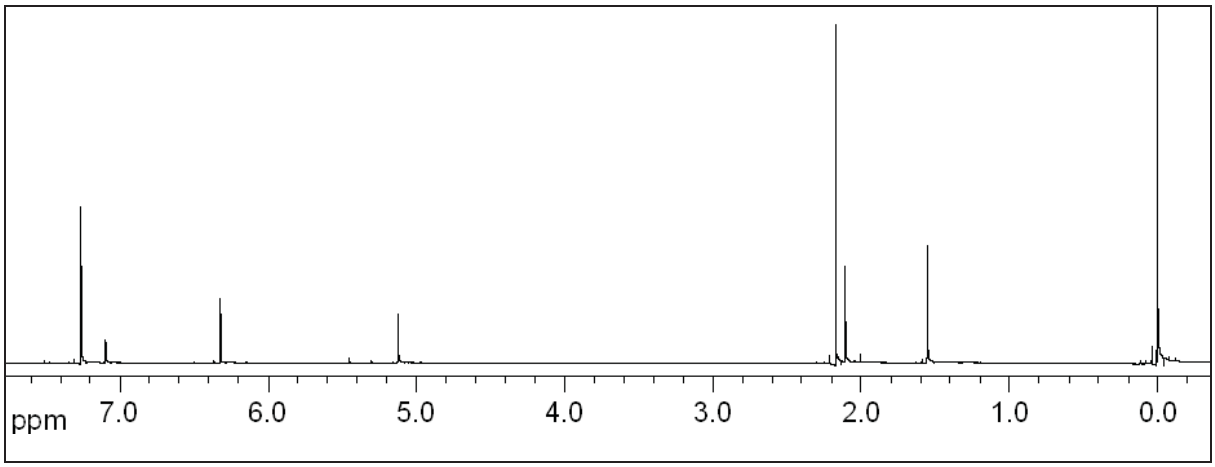


Abbildung 6.37: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **CC03**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):
δ = 7.10 (s, 1 H, H-c), 6.32 (s, 2 H, H-h), 5.12 (s, 2 H, H-g), 2.11 (s, 3 H, H-1), 2.17 (Aceton) ppm.

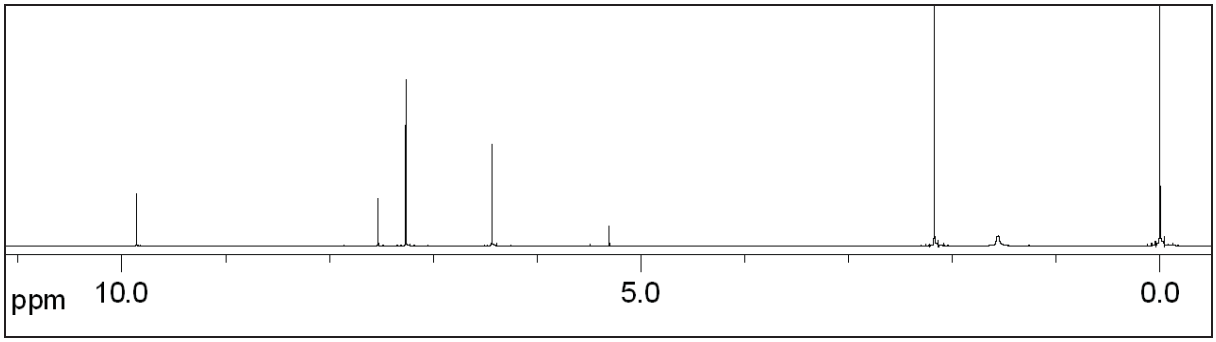
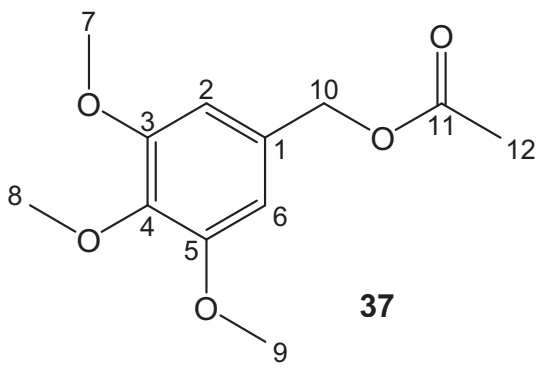


Abbildung 6.38: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **34**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[161]*
δ = 9.86 (s, 1 H, H-a), 7.53 (s, 1 H, H-c), 6.43 (s, 2 H, H-h), 2.17 (Aceton) ppm.

Versuch 9: (3,4,5-Trimethoxybenzyl)-acetat (37)[162]

4.04 g (20.4 mmol) 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (**36**) werden in 10.0 ml Pyridin gelöst. 1.7 ml (23.8 mmol) Acetylchlorid (**26**) werden langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird 2 d bei Raumtemperatur gerührt.



37

Unter Eiskühlung wird die Lösung mit 25 ml destilliertem Wasser hydrolysiert und dreimal mit je 75 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 100 ml verdünnter Salzsäure und einmal mit 100 ml destilliertem Wasser gewaschen, um noch vorhandenes Pyridin zu entfernen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **37** wird an Kieselgel 60 mit Ethylacetat filtriert.

$C_{12}H_{16}O_5$ (M = 240.25 g/mol)
R_f(EtOAc) ≈ 0.57

Ausbeute: 4.35 g (18.1 mmol, 89 %) **37**

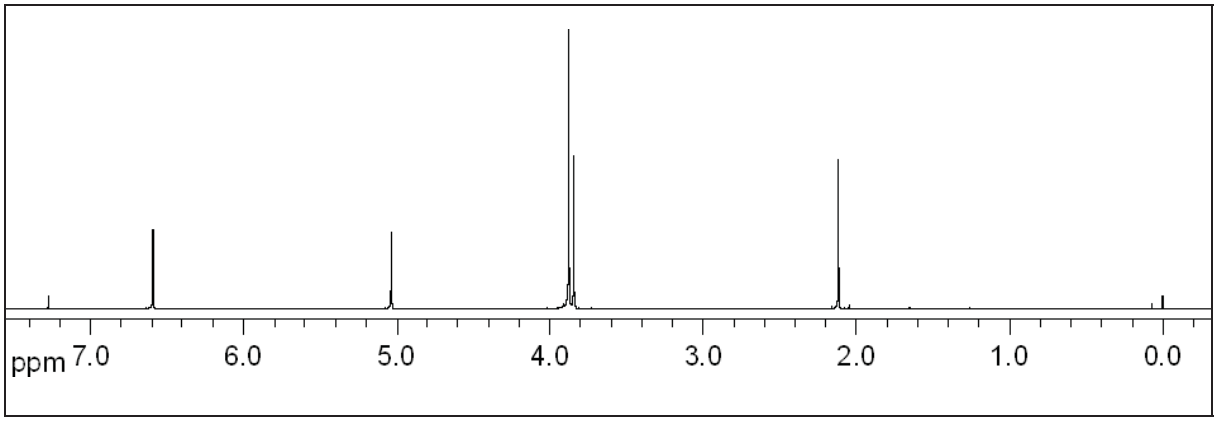


Abbildung 6.39: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **37**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[163, 164]*
δ = 6.59 (s, 2 H, H-2/6), 5.04 (s, 2 H, H-10), 3.88 (s, 6 H, H-7/9), 3.85 (s, 3 H, H-8), 2.12 (s, 3 H, H-12) ppm.

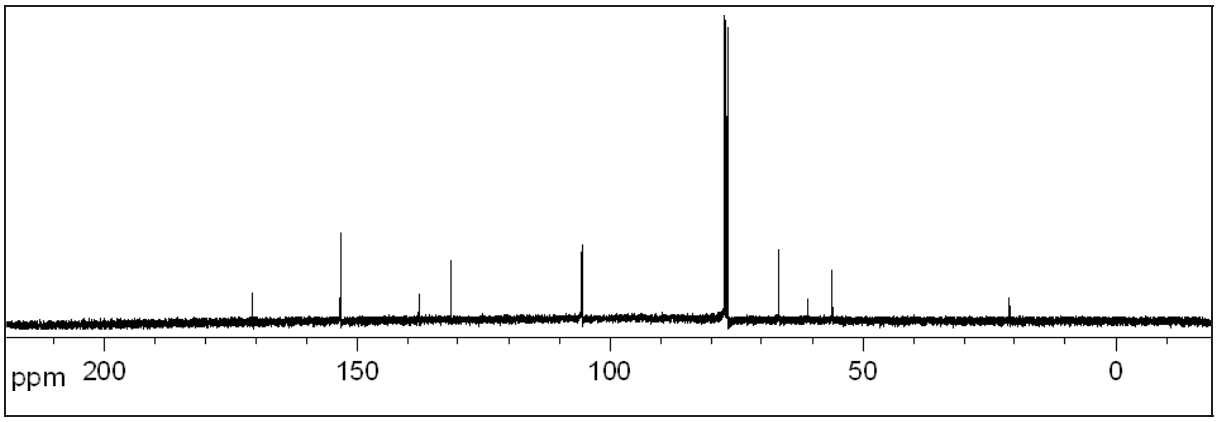
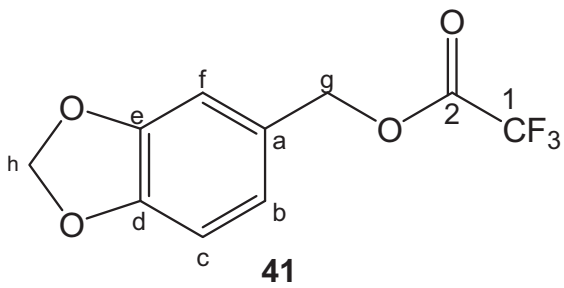


Abbildung 6.40: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **37**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[163, 164]*

δ = 170.8 (s, C-11), 153.3 (s, C-3/5), 137.9 (s, C-4), 131.4 (s, C-1), 105.5 (s, C-2/6), 66.6 (s, C-10), 60.8 (s, C-8), 56.1 (s, C-7/9), 21.1 (s, C-12) ppm.

Versuch 10: [3,4-(Methylendioxy)-benzyl]-trifluoracetat (41)[33]#



41

In 15 ml Methylenchlorid werden 1.9 ml (13.7 mmol) Trifluoressigsäureanhydrid (**40**), 2.1 ml Triethylamin und eine Spatelspitze DMAP (**200**) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 1.44 g (9.46 mmol) Piperonylalkohol (**27**) in 5 ml Methylenchlorid wird langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Der Reaktionsansatz wird mit 20 ml Wasser hydrolysiert. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 50 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 20 ml 1M Natronlauge und einmal mit 50 ml Wasser gewaschen Anschließend werden sie über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt **41** wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Methylenchlorid aufgereinigt

$C_{10}H_7F_3O_4$ (M = 248.16 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.70

Ausbeute: 825 mg (3.32 mmol, 35 %) **41**

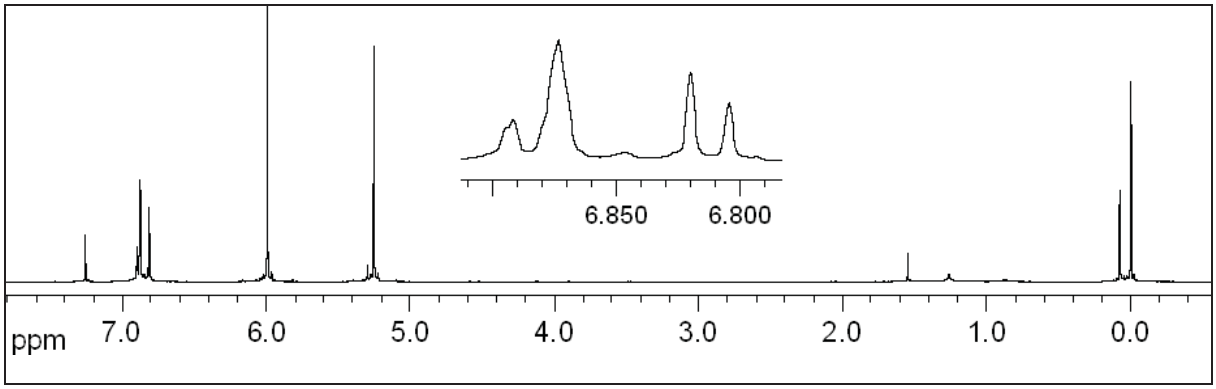
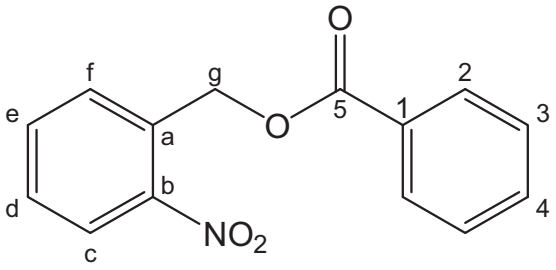


Abbildung 6.41: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **41**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):
δ = 6.89 (d, 1 H, $^{3}J_{bc}$ = 7.8 Hz, H-b), 6.87 (s, 1 H, H-f), 6.81 (d, 1 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.8 Hz, H-c), 5.99 (s, 2 H, H-h), 5.25 (s, 2 H, H-g) ppm.

Versuch 11: (2-Nitrobenzyl)-benzoat (CC05)[23]

Unter Lichtausschluss werden 3.05 g (19.9 mmol) 2-Nitrobenzylalkohol (**25**) in 12.0 ml Pyridin gelöst. Die Reaktionslösung wird auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 2.50 ml (21.5 mmol) Benzoylchlorid (**42**) werden langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt.



CC05

Unter Eiskühlung wird die Lösung mit 25 ml destilliertem Wasser hydrolysiert und zweimal mit je 100 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 100 ml verdünnter Salzsäure und einmal mit 100 ml destilliertem Wasser gewaschen, um noch vorhandenes Pyridin zu entfernen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.
Das Rohprodukt **CC05** wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Methylenchlorid aufgereinigt.

$C_{14}H_{11}NO_4$ (M = 257.24 g/mol)

Ausbeute: 4.81 g (18.7 mmol, 94 %) **CC05** **Lit**: 97 % [23]

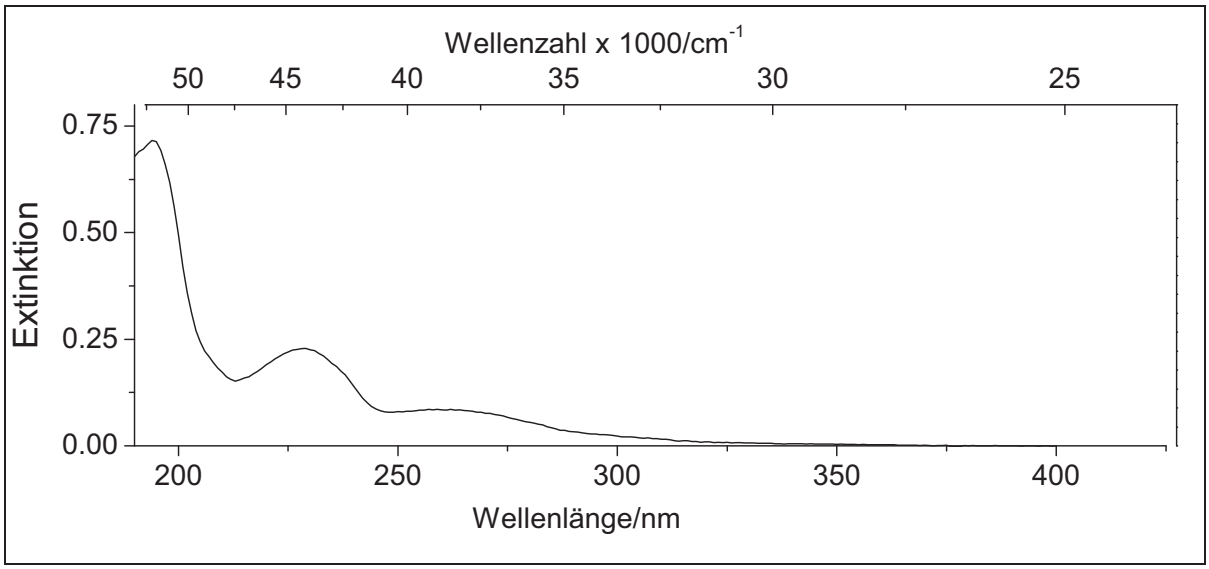


Abbildung 6.42: UV-Vis-Spektrum von **CC05** in Acetonitril (c = 109 µM, d = 0.1 cm).

UV-Vis (Acetonitril):[23]*

λ_{max} (ε_{max}) = 197 (65800 (l/mol)*cm-1), 229 (21000 (l/mol)*cm-1), 262 (7850 (l/mol)*cm-1) nm.

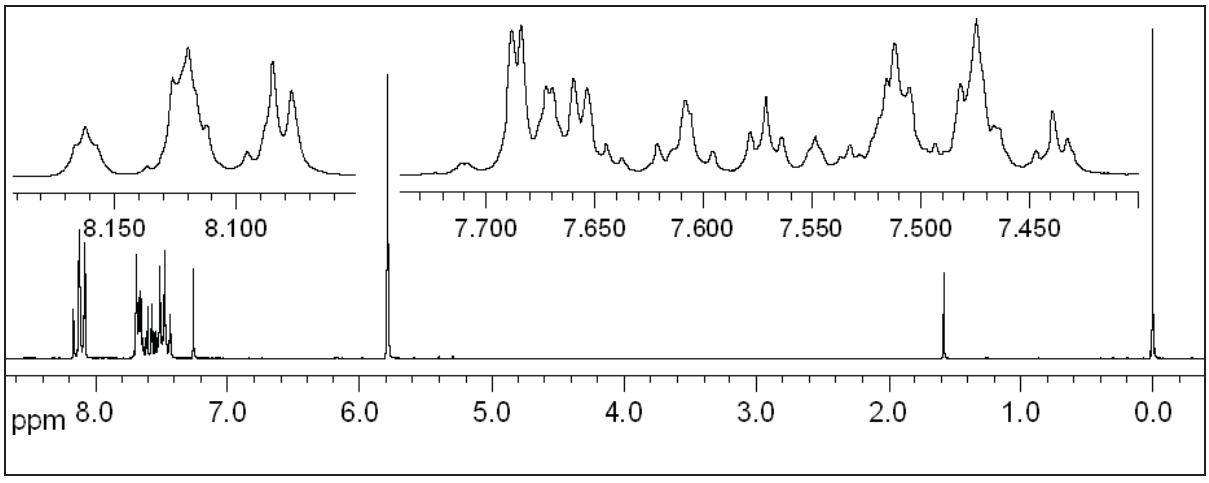


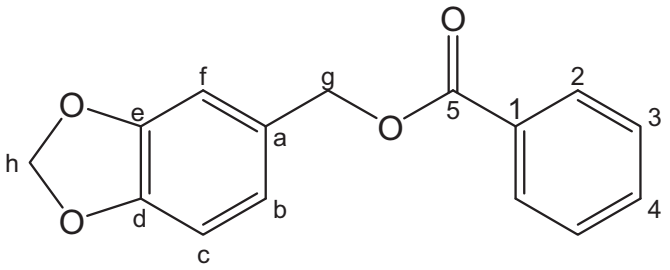
Abbildung 6.43: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **CC05**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[23]*

δ = 8.07 - 8.18 (m, 3 H, H-c und H-2), 7.42 - 7.72 (m, 6 H, H-3, H-4, H-d, H-e und H-f), 5.79 (s, 2 H, H-g) ppm[23].

Versuch 12: Piperonylbenzoat (43)

10.00 g (65.69 mmol) Piperonylalkohol (**27**) werden in 35 ml Pyridin vorgelegt. Unter Eiskühlung werden 17.0 ml (20.6 g/ 146 mmol) Benzoylchlorid (**42**) langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei gerührt.



43

Zur Hydrolyse werden 100 ml destilliertes Wasser zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit 200 ml Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit je 50 ml destilliertem Wasser und zweimal mit 50 ml verdünnter Salzsäure gewaschen. Die Lösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.Das Rohprodukt **43** wurde nicht weiter aufgereinigt.

$C_{15}H_{12}O_4$ (M = 256.25 g/mol)

Ausbeute: 16.72 g (65.25 mmol, 99 %) **43**

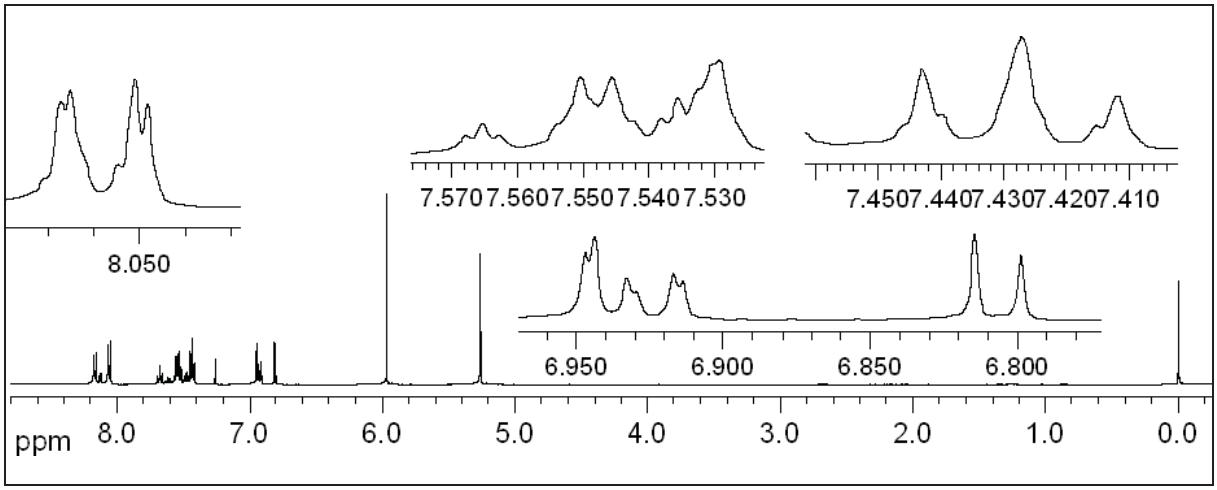
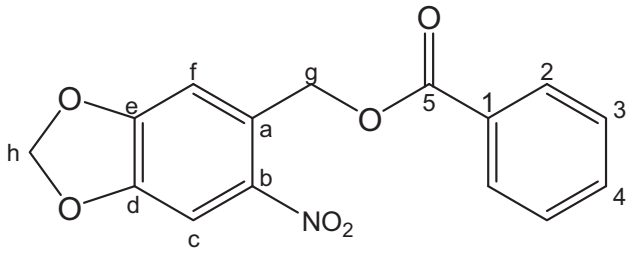


Abbildung 6.44: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **43**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.04 - 8.08 (m, 2 H, H-2), 7.53 - 7.57 (m, 1 H, H-4), 7.41 - 7.46 (m, 2 H, H-3), 6.95 (d, 1 H, $^5J_{fb}$ = 1.3 Hz, H-f), 6.92 (dd, 1 H, $^5J_{bf}$ = 1.3 Hz, $^3J_{bc}$ = 7.9 Hz H-b), 6.81 (d, 1 H, $^3J_{cb}$ = 7.9 Hz, H-c), 5.97 (s, 2 H, H-h), 5.29 (s, 2 H, H-g) ppm.

Versuch 13: [4,5-(Methylendioxy)-2-nitrobenzyl]-benzoat (CC06)



CC06

Unter Lichtausschluss werden 13 ml Eisessig und 4 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C gekühlt. 2.00 g (7.80 mmol) Piperonylbenzoat (**43**) werden portionsweise zugegeben. Man lässt die gekühlte Reaktionslösung 1 h rühren.

Der Reaktionsansatz wird auf 100 ml Eis gegossen. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert. Das Rohprodukt **CC06** wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Methylenchlorid aufgereinigt.

$C_{15}H_{11}NO_6$ (M = 301.25 g/mol)

R_f(DCM) ≈ 0.60

Ausbeute: 1.35 g (4.48 mmol, 57 %) **CC06**

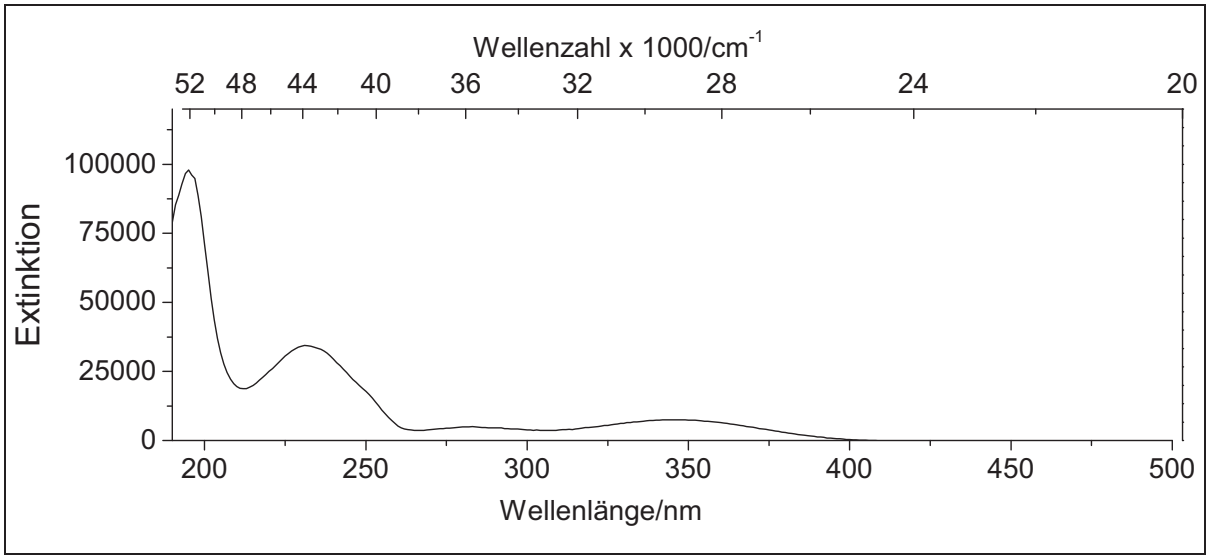


Abbildung 6.45: UV-Vis-Spektrum von **CC06** in Acetonitril (c = 73.0 µM, d = 0.25 cm).

UV-Vis (Acetonitril):[23]*

λ_{max} (ε_{max}) = 231 (34400 (l/mol)*cm-1), 283 (5030 (l/mol)*cm-1), 347 (7510 (l/mol)*cm-1) nm.

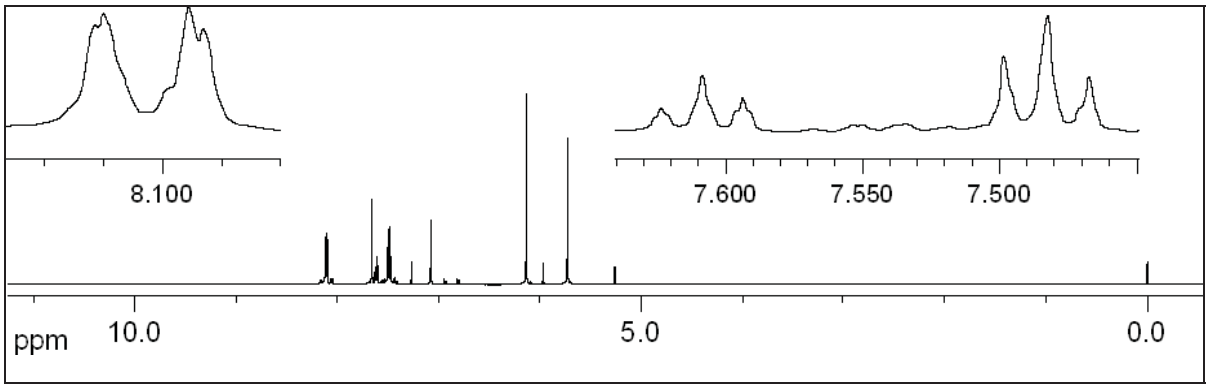


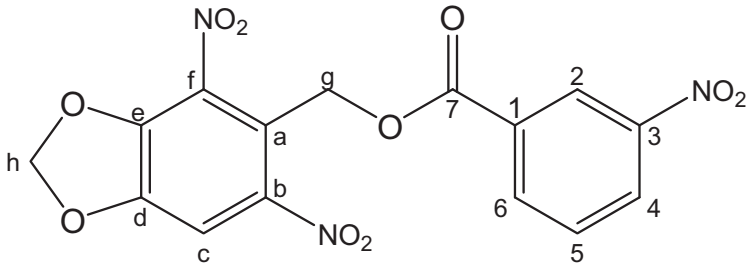
Abbildung 6.46: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **CC06.**

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[23]*

δ = 8.09 – 8.12 (m, 2 H, C-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.66 (s, 1 H, H-f), 7.58 – 7.63 (m, 1 H, B-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-4), 7.45 – 7.52 (m, 2 H, A-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-3), 7.08 (s, 1 H, H-c), 6.13 (s, 2 H, H-h), 5.73 (s, 2 H, H-g) ppm.[23]

Versuch 14: [3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-3-nitrobenzoat (CC07)

Unter Lichtausschluss werden 15 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 3.00 g (11.7 mmol) Piperonylbenzoat (**43**) werden portionsweise zugegeben. Man lässt die gekühlte Reaktionslösung 1 h rühren.



CC07

Der Reaktionsansatz wird auf 100 ml Eis gegossen. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert. Das Rohprodukt **CC07** wird über Kieselgel 60 mit Methylenchlorid filtriert.

Es handelt sich um noch leicht verunreinigtes [3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-3-nitrobenzoat (**CC07**). Auf weitere Reinigung wurde verzichtet.

$C_{15}H_{10}N_2O_8$ (M = 346.25 g/mol)

Ausbeute: 2.35 g (max. 6.78 mmol, max. 58 %) **CC07**

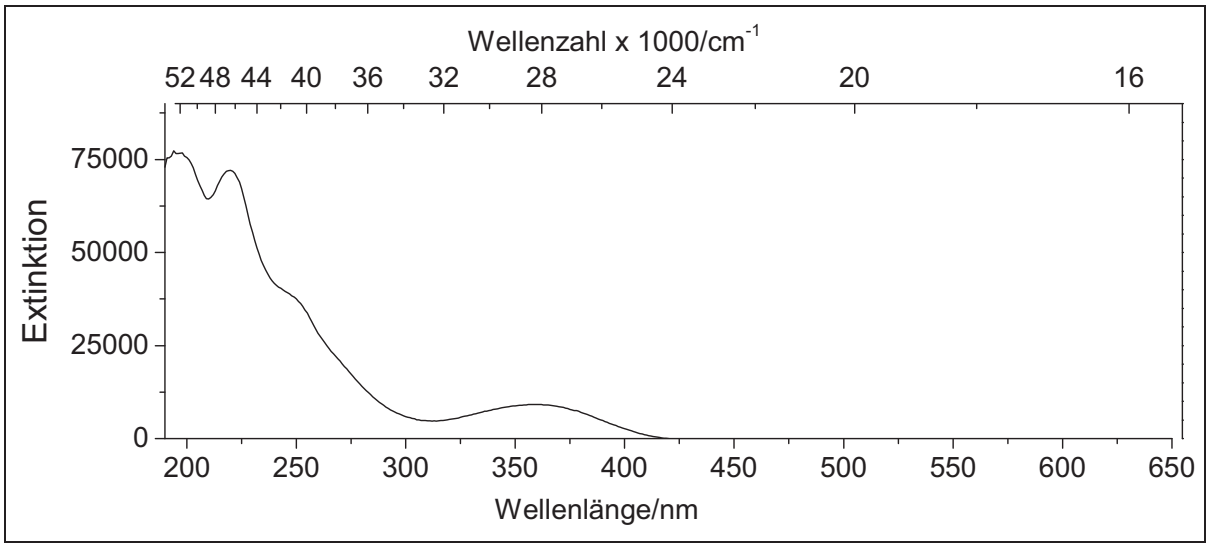


Abbildung 6.47: UV-Vis-Spektrum von **CC07** in Acetonitril (c = 69.3 µM, d = 0.25 cm).

UV-Vis (Acetonitril):

λ_{max} (ε_{max}) = 220 (72100 (l/mol)*cm-1), 359 (9180 (l/mol)*cm-1) nm.

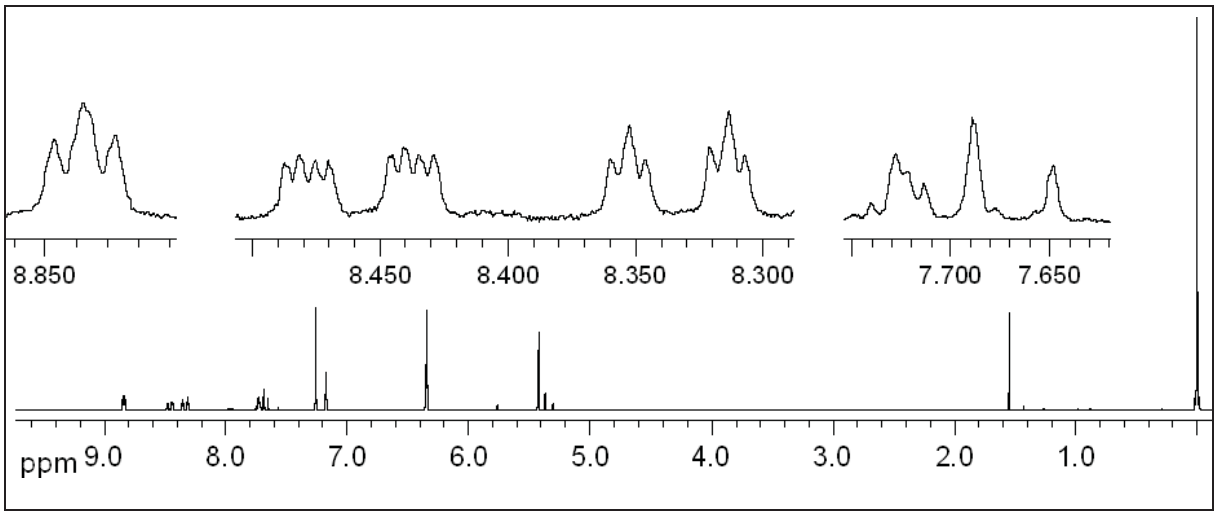
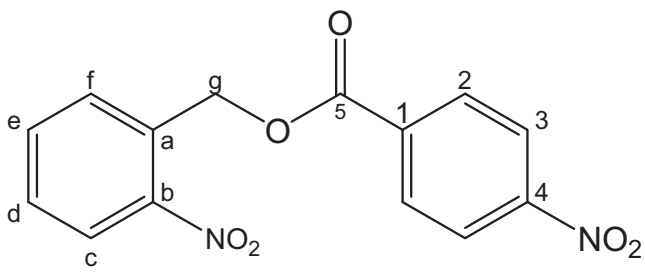


Abbildung 6.48: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **CC07**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.83 (dd, 1 H, $^4J_{26}$ = 1.9 Hz, $^4J_{24}$ = 2.0 Hz, H-2), 8.46 (ddd, 1 H, $^4J_{46}$ = 1.0 Hz, $^4J_{42}$ = 2.2 Hz, $^3J_{45}$ = 8.3 Hz, H-4), 8.33 (ddd, 1 H, $^4J_{62}$ = 1.6 Hz, $^4J_{64}$ = 1.2 Hz, $^3J_{65}$ = 7.8 Hz, H-6), 7.69 (dd, 1 H, $^3J_{56}$ = 7.8 Hz, $^3J_{54}$ = 8.0 Hz, H-5), 7.18 (s, 1 H, H-c), 6.35 (s, 2 H, H-h), 5.43 (s, 2 H, H-g) ppm.

Versuch 15: 2-Nitrobenzyl-4-nitrobenzoat (CC08)



CC08

3.00 g (19.6 mmol) 2-Nitrobenzylalkohol (**25**) werden in 10 ml Pyridin gelöst und auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 4.75 g (25.6 mmol) 4–Nitrobenzoylchlorid (**44**) werden über einen Zeitraum von 15 min portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wird mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert, dreimal mit je 50 ml verdünnter Salzsäure (pH ≈ 2), dreimal mit je 50 ml destilliertem Wasser und einmal mit 100 ml Hexan gewaschen. Das Rohprodukt **CC08** wird in wenig Dichlormethan gelöst und mit Dichlormethan über Kieselgel 60 filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{14}H_{10}N_2O_6$ (M = 302.24 g/mol)

Ausbeute: 5.65 g (18.7 mmol, 95 %) **CC08**

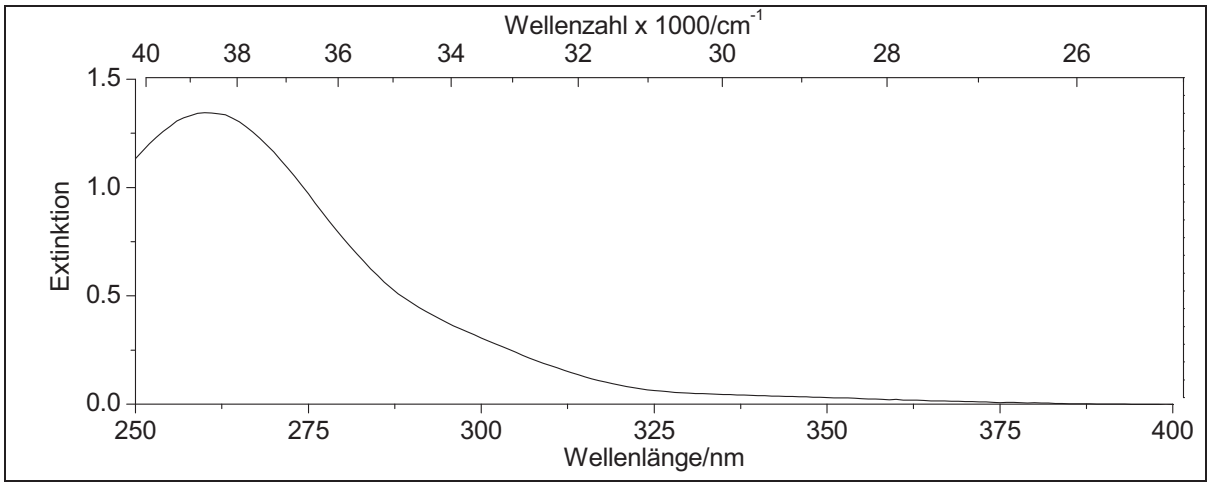


Abbildung 6.49: UV-Vis-Spektrum von **CC08** in Acetonitril (c = 12.3 µM, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Acetonitril):

λ_{max} (ε_{max}) = 260 (21900 (l/mol)*cm-1) nm.

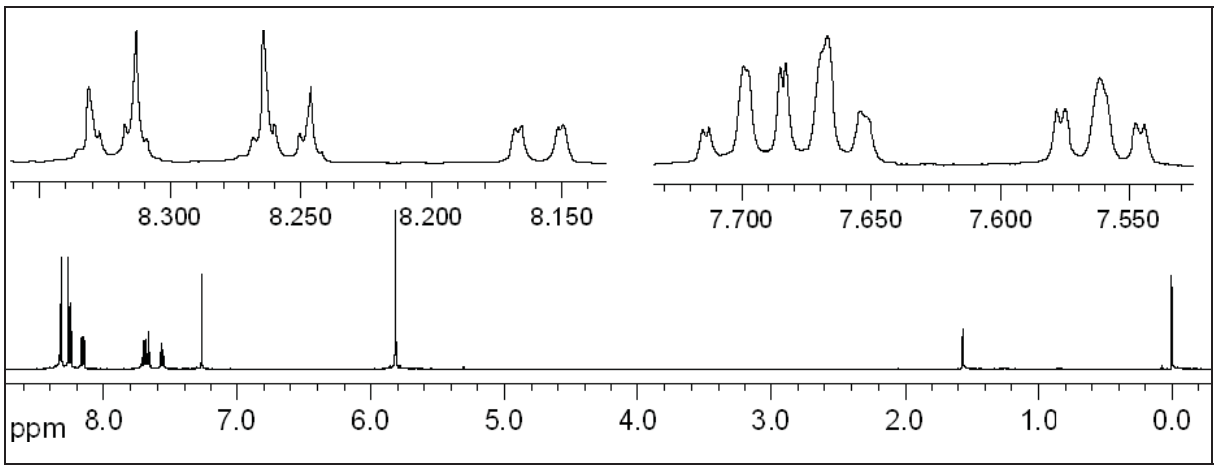


Abbildung 6.50: ^{1}H-NMR (500 MHz, CDCl3), **CC08**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.32 (m, 2 H, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 9.0 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.26 (m, 2 H, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 9.0 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 8.16 (dd, 1 H, $^{3}J_{cd}$ = 8.2 Hz, $^{5}J_{ce}$ = 1.1 Hz, H-c), 7.68 - 7.72 (m, 1 H, H-e), 7.66 (dd, 1 H, $^{3}J_{fe}$ = 7.5 Hz, $^{5}J_{fd}$ = 1.1 Hz, H-f), 7.54 - 7.58 (m, 1 H, H-d), 5.82 (s, 2 H, H-2) ppm.

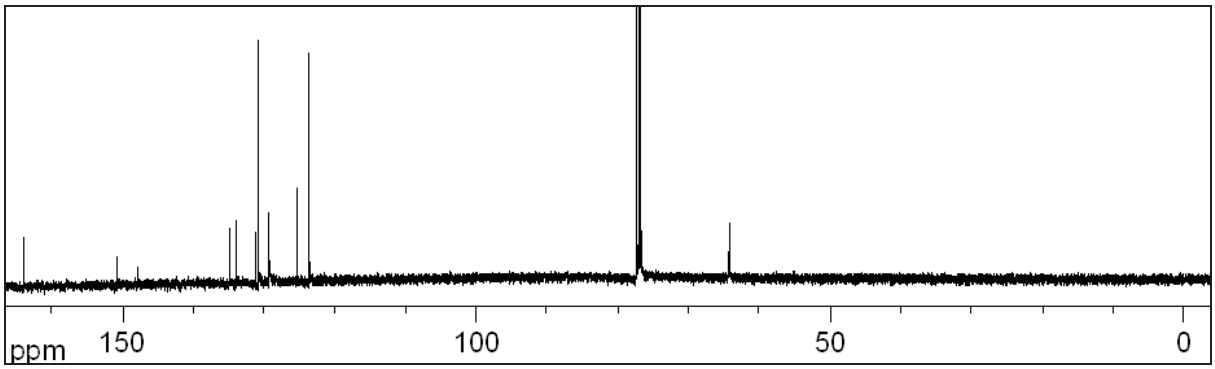
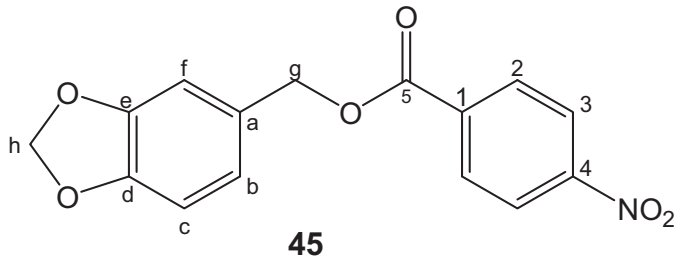


Abbildung 6.51: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **CC08**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):
δ = 164.1 (s, C-5), 150.7 (s, C-4), 147.8 (s, C-b), 134.8 (s, C-1), 133.8 (s, C-a), 131.2 (s, C-e), 130.9 (s, C-2), 129.3 (s, C-d), 129.3 (s, C-f), 125.3 (s, C-c), 123.7 (s, C-3), 64.3 (s, C-g) ppm.

Versuch 16: [3,4-(Methylendioxy)benzyl]-4-nitrobenzoat (45)



45

10.00 g (65.69 mmol) Piperonylalkohol (**27**) werden in 35 ml Pyridin gelöst und auf T ≤ 0 °C abgekühlt. Über einen Zeitraum von 15 min werden 15.07 g (81.21 mmol) 4-Nitrobenzoylchlorid (**44**) portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wird mit 150 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert, dreimal mit je 100 ml verdünnter Salzsäure (pH ≈ 2), dreimal mit je 100 ml destilliertem Wasser und einmal mit 200 ml Hexan gewaschen. Das Rohprodukt **45** wird in wenig Dichlormethan gelöst und mit Dichlormethan an Kieselgel 60 filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{15}H_{11}NO_6$ (M = 301.25 g/mol)

Ausbeute: 18.26 g (60.62 mmol, 92 %) **45**

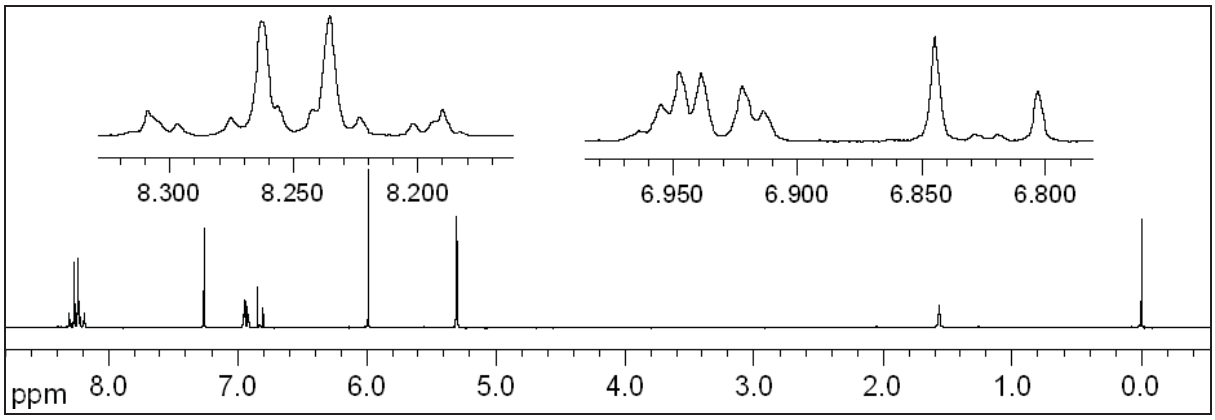
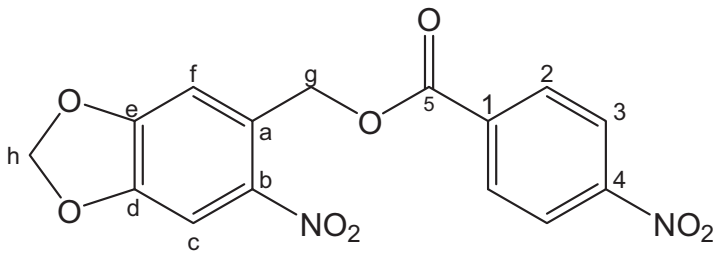


Abbildung 6.52: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **45.**

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.25 (m, 2 H, $^{3}J_{32}+^{5}J_{32}$ = 9.2 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.21 (m, 2 H, $^{3}J_{23}+^{5}J_{23}$ = 9.1 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 6.94 (d, 1 H, $^{4}J_{fb}$ = 1.7 Hz, H-f), 6.94 (dd, 1 H, $^{3}J_{bc}$ = 8.3 Hz, $^{4}J_{bf}$ = 1.7 Hz, H-b), 6.33 (d, 1 H, $^{3}J_{cb}$ = 8.3 Hz, H-c), 5.99 (s, 2 H, H-h), 5.30 (s, 2 H, H-g) ppm.

Versuch 17: [2-Nitro-4,5-(methylendioxy)benzyl]-4-nitrobenzoat (CC10)



CC10

Zu einer eisgekühlten Lösung (T ≤ 0 °C) von 20 ml Eisessig und 6 ml rauchender Salpetersäure werden portionsweise 3.02 g (10.0 mmol) 3,4-Methylendioxybenzyl-4-nitrobenzoat (**45**) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 90 min mit bei T ≤ 0 °C gerührt und anschließend auf 100 ml eisgekühltes destilliertes Wasser gegossen. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und drei Mal mit je 50 ml destilliertem Wasser und einmal mit 100 ml Hexan gewaschen. Das Rohprodukt **CC10** wird in wenig Ethylacetat gelöst und mit Ethylacetat an Kieselgel 60 filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{15}H_{10}N_2O_8$ (M = 346.25 g/mol)

Ausbeute: 3.38 g (9.76 mmol, 98 %) **CC10**

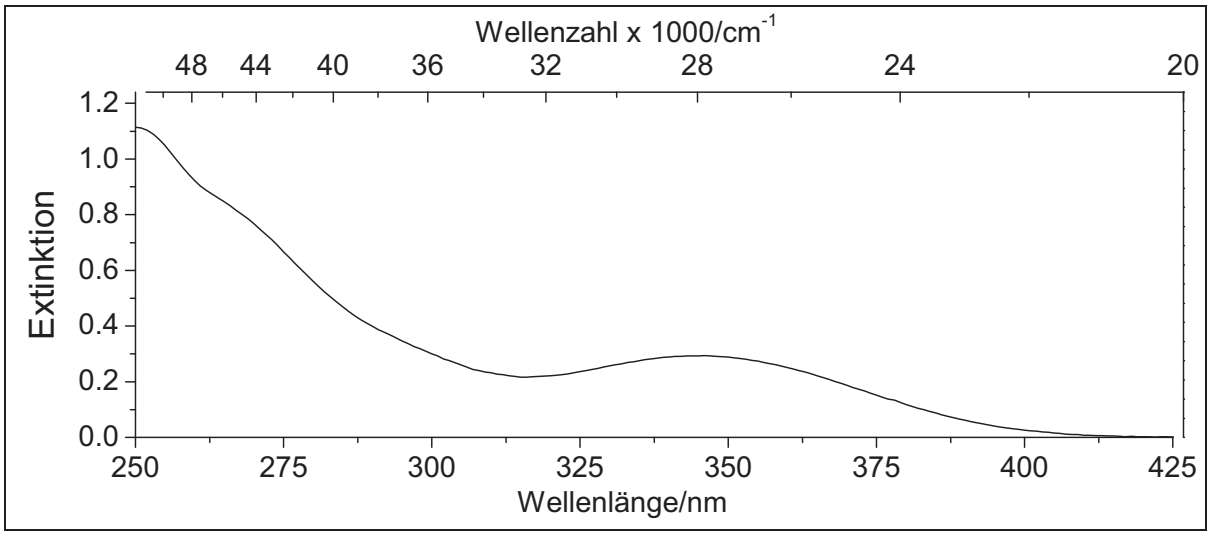


Abbildung 6.53: UV-Vis Spektrum von **CC10** in Acetonitril (c = 101 µM, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Acetonitril):

λ_{max} (ε_{max}) = 346 (5840 (l/mol)*cm-1) nm.

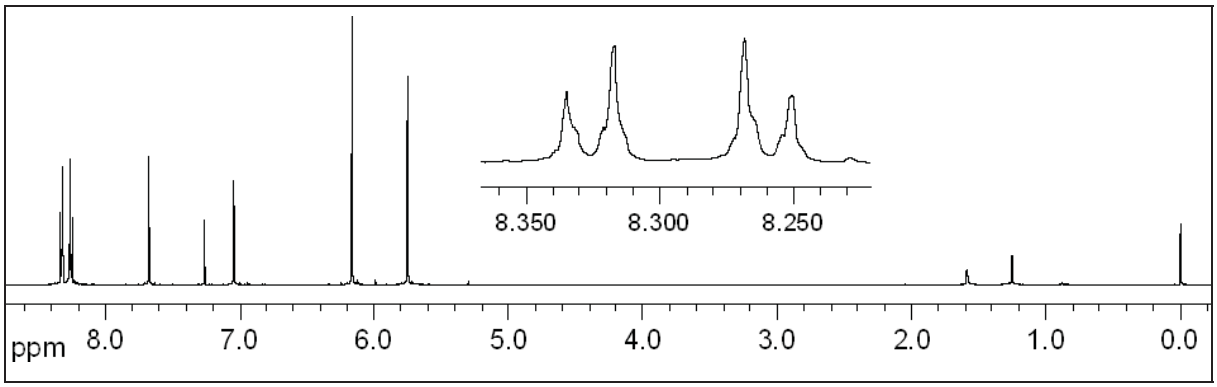


Abbildung 6.54: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **CC10**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.33 (m, 2 H, $^3J_{32}$+$^5J_{32}$ = 8.9 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.26 (m, 2 H, $^3J_{23}$+$^5J_{23}$ = 8.9 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 7.67 (s, 1 H, H-c), 7.04 (s, 1 H, H-f), 6.16 (s, 2 H, H-h), 5.75 (s, 2 H, H-g) ppm.

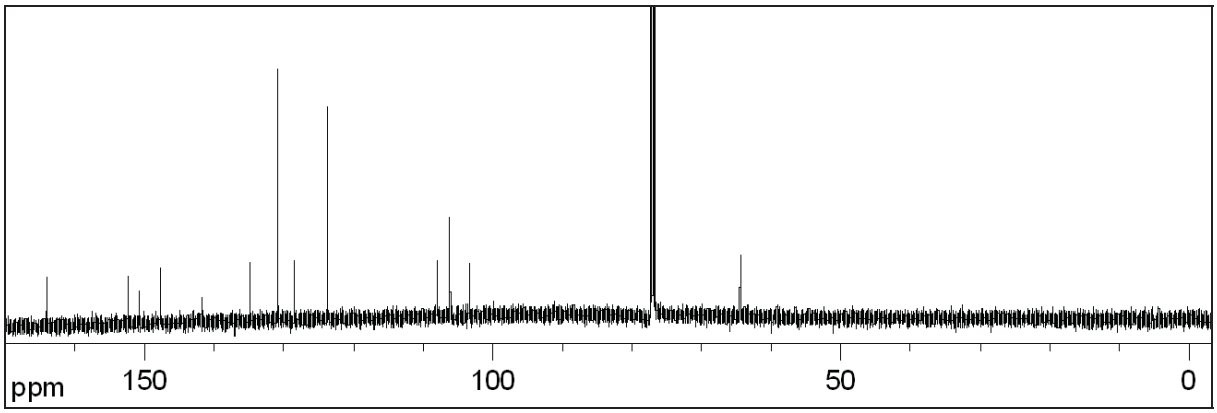
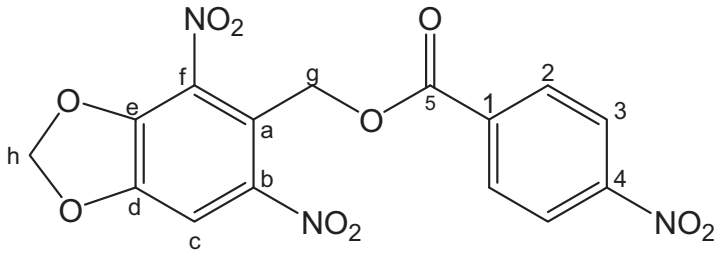


Abbildung 6.55: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **CC10**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):
δ = 164.1 (s, C-5), 152.5 (s, C-e), 150.7 (s, C-4), 147.8 (s, C-d), 141.9 (s, C-b), 134.9 (s, C-1), 130.9 (s, C-2), 128.5 (s, C-a), 123.7 (s, C-3), 108.0 (s, C-f), 106.1 (s, C-c), 103.3 (s, C-h), 64.5 (s, C-g) ppm.

Versuch 18: [3,4-(Methylendioxy)-2,6-dinitrobenzyl]-benzoat (CC09)



CC09

Unter Lichtausschluss werden 13.5 ml rauchende Salpetersäure auf T ≤ 0 °C abgekühlt. 3.02 g (10.0 mmol) [3,4-(Methylendioxy)benzyl]-4-nitrobenzoat (**45**) werden über einen Zeitraum von 15 min portionsweise zugegeben. Man lässt die gekühlte Reaktionslösung 1 h rühren.
Der Reaktionsansatz wird in 100 ml Eiswasser gegossen. Ausfallender Feststoff wird in Methylenchlorid aufgenommen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **CC09** wird über Kieselgel 60 mit Ethylacetat filtriert.

$C_{15}H_9N_3O_{10}$ (M = 391.25 g/mol)

Ausbeute: 3.10 g (7.92 mmol, 79 %) **CC09**

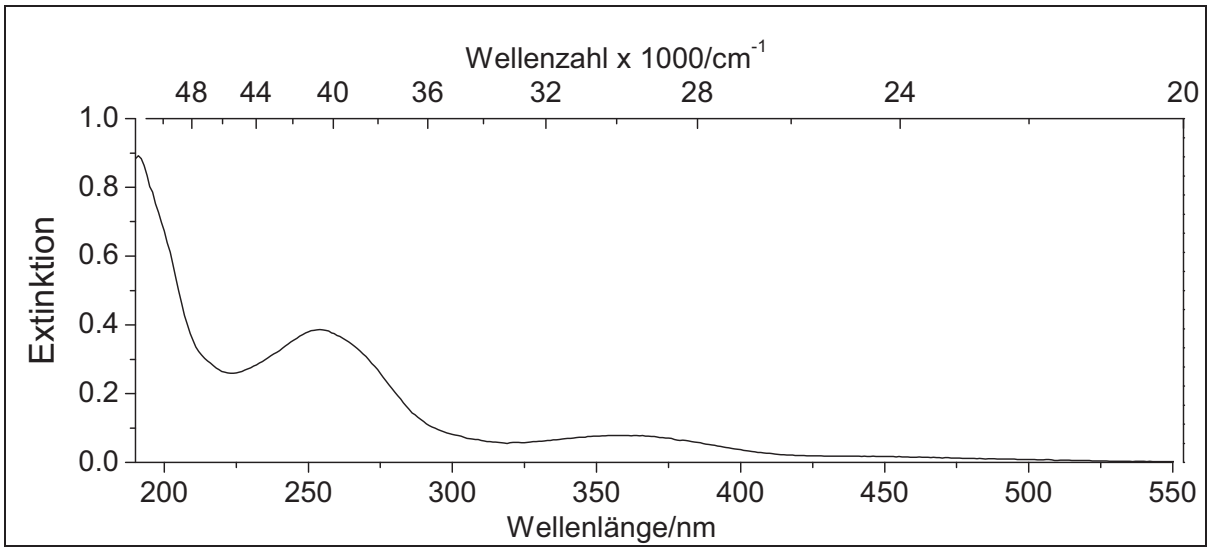


Abbildung 6.56: UV-Vis-Spektrum von **CC09** in Acetonitril (c = 97.6 µM, d = 0.2 cm).

UV-Vis (Acetonitril):

λ_{max} (ε_{max}) = 191 (45700 (l/mol)*cm-1), 254 (19800 (l/mol)*cm-1), 359 (4020 (l/mol)*cm-1) nm.

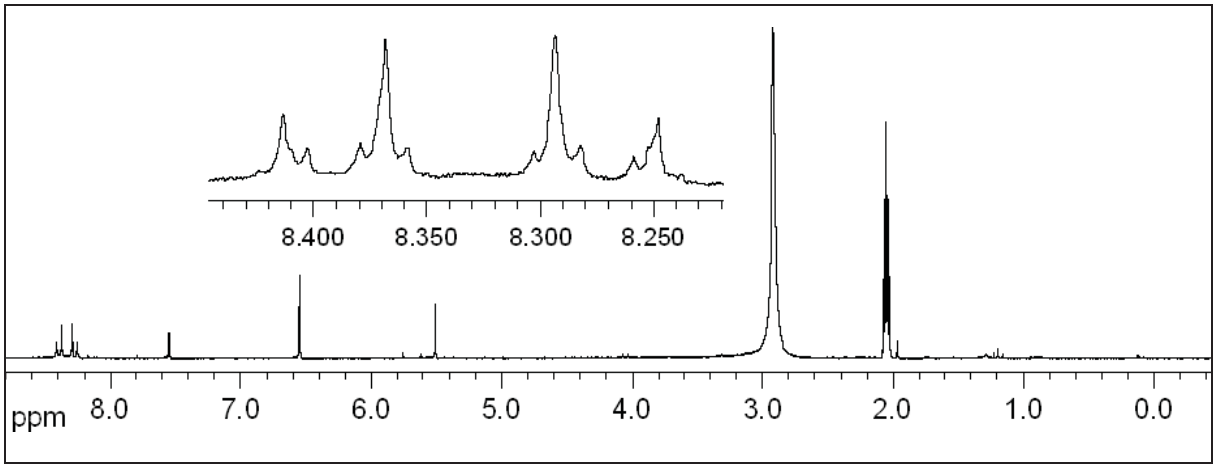


Abbildung 6.57: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **CC09**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.39 (m, 2 H, $^{3+5}J_{32}$ = 9.1 Hz, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.27 (m, 2 H, $^{3+5}J_{23}$ = 9.1 Hz, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, H-2), 7.55 (s, 1 H, H-c), 6.55 (s, 2 H, H-h), 5.51 (s, 2 H, H-g) ppm.

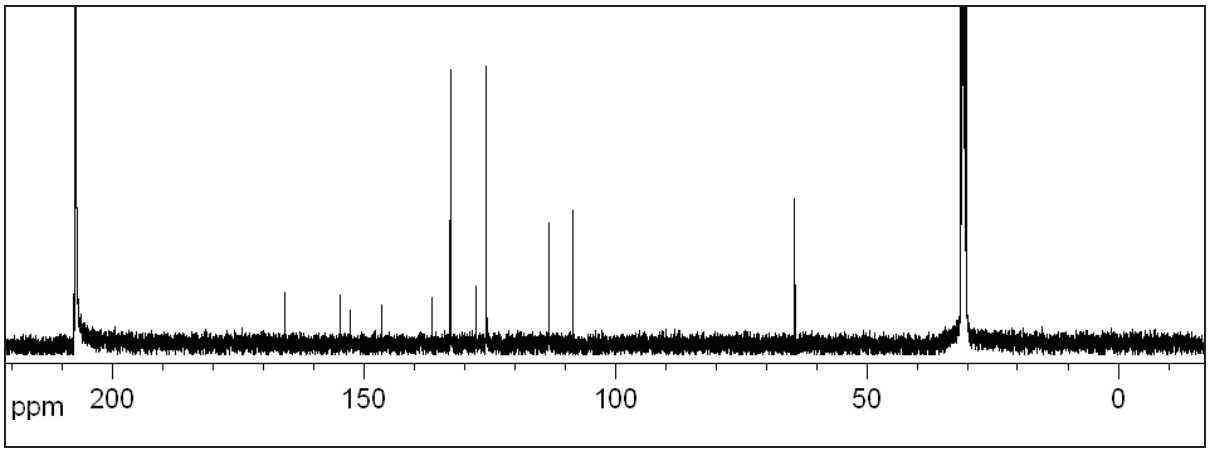


Abbildung 6.58: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO), **CC09**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO):

δ = 165.7 (s, C-5), 154.7 (s, C-4), 152.8 (s, C-d), 146.5 (s, C-g), 136.5 (s, C-1), 132.8 (s, C-2), 132.6 (s, C-f), 127.7 (s, C-a), 125.6 (s, C-3), 113.2 (s, C-c), 108.4 (s, C-h), 64.4 (s, C-g) ppm.

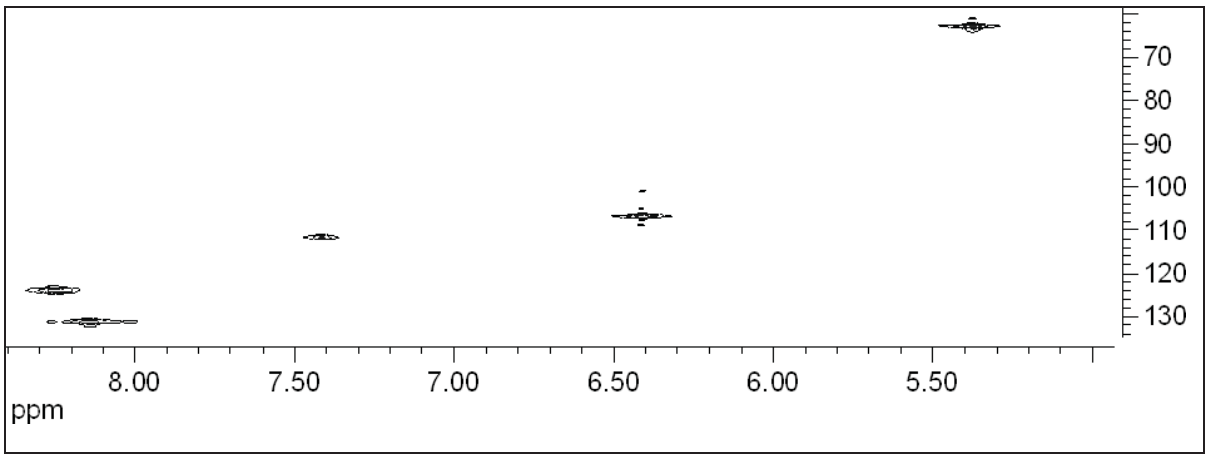
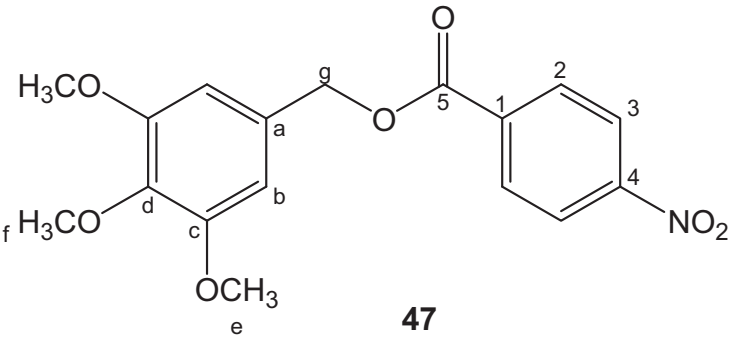


Abbildung 6.59: HMQC (500 MHz, DMSO), **CC09**.

Versuch 19: (3,4,5-Trimethoxybenzyl)-4-nitrobenzoat (47)

4.37 g (22.0 mmol) 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (**36**) werden in 10 ml Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. 4.25 g (22.9 mmol) 4-Nitrobenzoylchlorid (**44**) werden portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wird mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert, dreimal mit je 50 ml verdünnter Salzsäure (pH ≈ 2), dreimal mit je 50 ml destilliertem Wasser und einmal mit 100 ml Hexan gewaschen. Das Produkt **47** wird unter vermindertem Druck getrocknet.



47

$C_{17}H_{17}NO_7$ (M = 347.32 g/mol)

Ausbeute: 6.85 g (19.8 mmol, 90 %) **47**

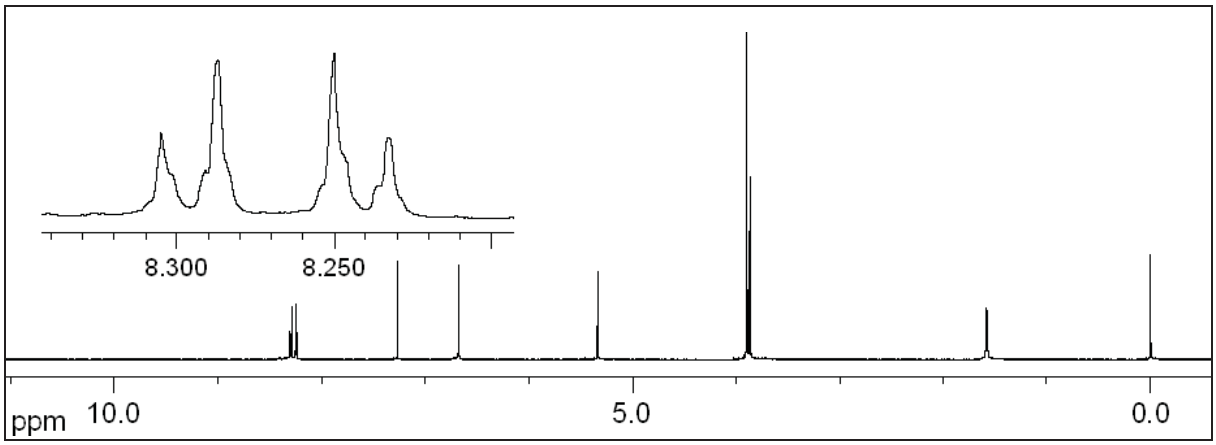
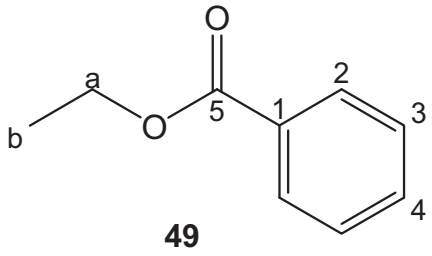


Abbildung 6.60: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **47**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.30 (m, 2 H, $^{3+5}J_{32}$= 8.9 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.24 (m, 2 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.9 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 6.68 (s, 2 H, H-b), 5.33 (s, 2 H, H-g), 3.89 (s, 6 H, H-e), 3.68 (s, 3 H, H-f) ppm.

Versuch 20: Ethylbenzoat (49)



49

Zu 7.5 ml (5.93 g, 129 mmol) Ethanol (**51**) werden 5.00 ml (6.05 g, 43.0 mmol) Benzoylchlorid (**42**) zugetropft. Nach 20 min wird die Lösung mit 50 ml Ethylacetat und 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Der Rückstand wird 2 min stark gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_9H_{10}O_2$ (M = 150.17 g/mol)

Ausbeute: 5.75 g (38.0 mmol, 89 %) **49**

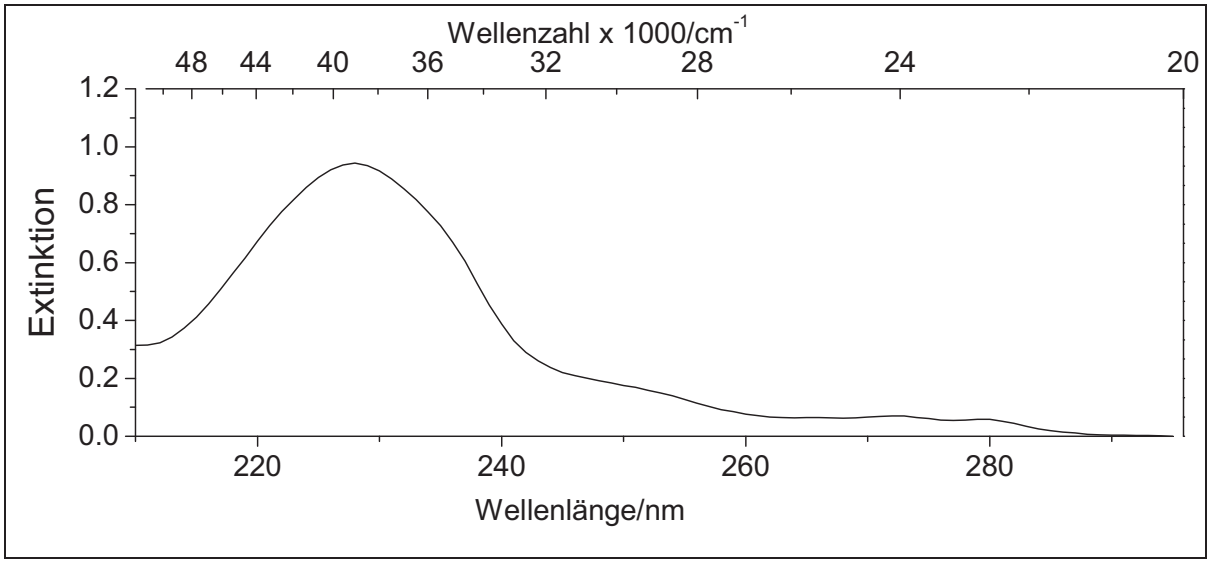


Abbildung 6.61: UV-Vis-Spektrum von **49** in Acetonitril (c = 98.6 µM, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Acetonitril):

λ_{max} (ε_{max}) = 228 (19310 (l/mol)*cm-1), 272 (1581 (l/mol)*cm-1), 279 (1345 (l/mol)*cm-1) nm.

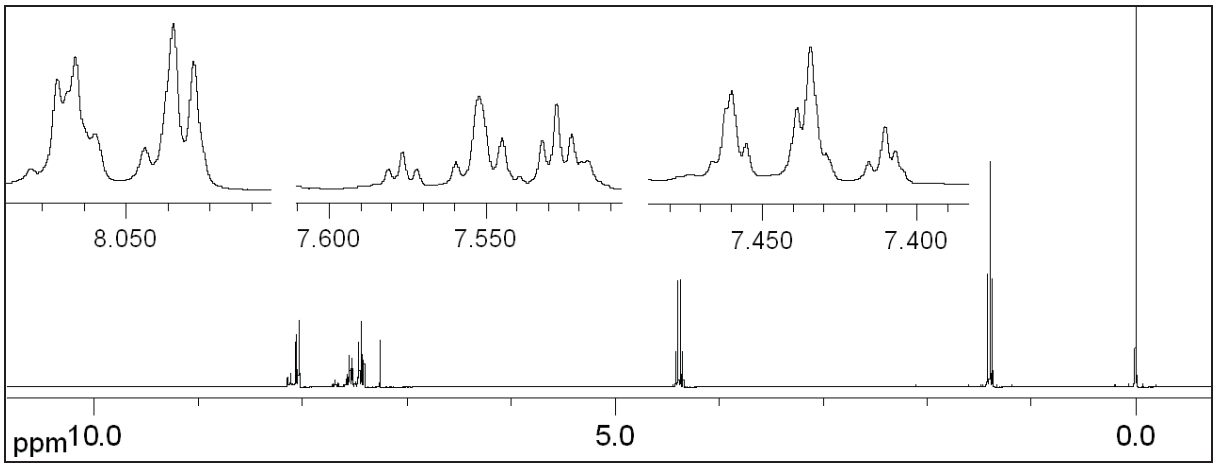


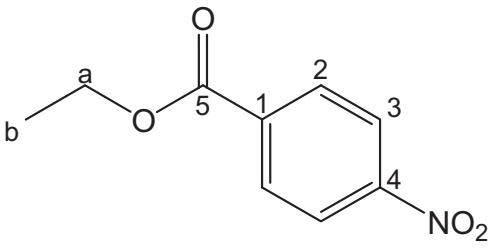
Abbildung 6.62: ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$), **49**.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):[165]*

δ = 8.02 - 8.08 (m, 2 H, C-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.51 - 7.59 (m, 1 H, B-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-4), 7.40 - 7.47 (m, 2 H, A-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-3), 4.38 (q, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 7.1 Hz, H-a), 1.40 (t, 3 H, $^{3}J_{ba}$ = 7.1 Hz, H-b), ppm.

Versuch 21: Ethyl-4-nitrobenzoat (50)

Zu 5.00 g (26.9 mmol) 4-Nitrobenzoylchlorid (**44**) werden 7.0 ml (5.5 g, 120 mmol) tech. Ethanol (**51**) zugetropft. Das Säurechlorid **44** löst sich vollständig auf. Das sich bildende Produkt **50** fällt aus.



50

Nach 20 min wird der enstandene Feststoff abgesaugt und mit 50 ml Ethanol gewaschen. Der Rückstand wird in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

$C_9H_9NO_4$ (M = 195.17 g/mol)

Ausbeute: 2.16 g (11.1 mmol, 41 %) **50**

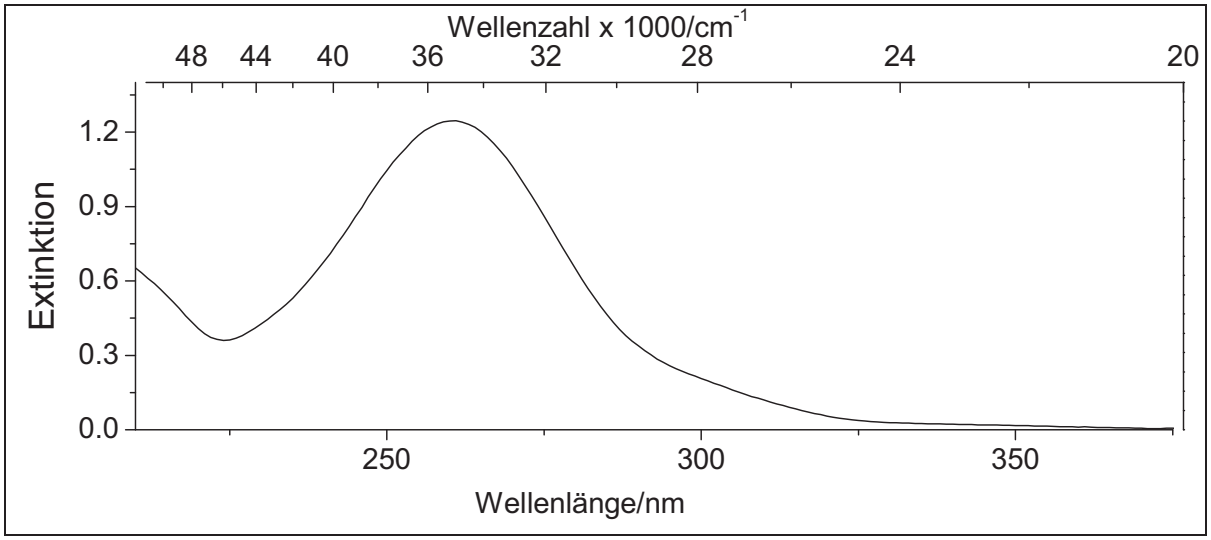


Abbildung 6.63: UV-Vis-Spektrum von **50** in Acetonitril (c = 75.8 µM, d = 1 cm).

UV-Vis (Acetonitril):[166]*

λ_{max} (ε_{max}) = 261 (16470 (l/mol)*cm-1) nm.

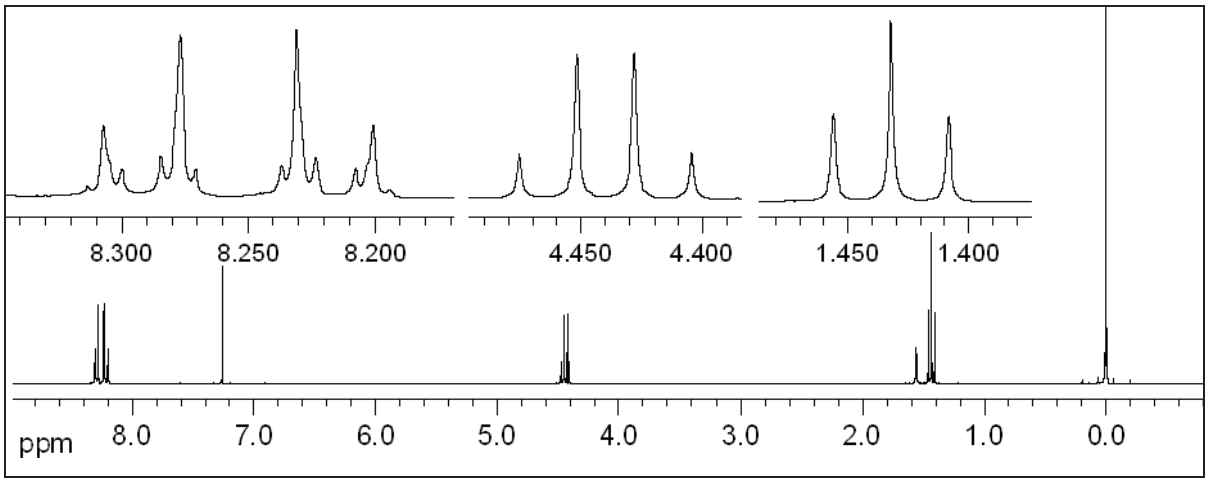


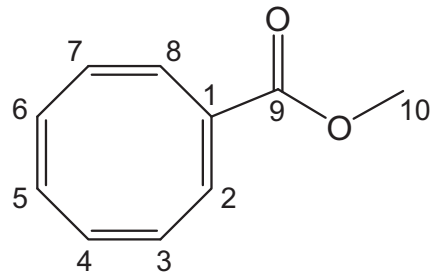
Abbildung 6.64: ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$), **50**.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):[167]*

δ = 8.29 (m, 2 H, $^{3+5}J_{32}$ = 9.1 Hz, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, H-3), 8.22 (m, 2 H, $^{3+5}J_{23}$ = 9.1 Hz, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, H-2), 4.44 (q, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 7.1 Hz, H-a), 1.43 (t, 3 H, $^{3}J_{ba}$ = 7.1 Hz, H-b) ppm.

6.3.2.2 Cyclooctatetraensynthesen

Versuch 22: Methyl-cycloocta-1,3,5,7-tetraencarboxylat (COT02)[83]#



COT02

In einem Quarzglasreaktor mit einer 700 W Quecksilberdampf-Tauchlampe wird eine Lösung von 39.15 g (456.8 mmol) Methylpropiolat (**94**) in 940 ml Benzol (**92**) bei Raumtemperatur bestrahlt. Die Bestrahlung wird unterbrochen wenn die Reaktionslösung gelb wird. Nicht umgesetztes Benzol (**92**) und Methylpropiolat (**94**) werden vom Rohprodukt **COT02** abdestilliert. Der Reaktor wird gereinigt, um am Glas abgeschiedene Nebenprodukte zu entfernen. Die abdestillierte Lösung wird wieder in den Reaktor gefüllt und erneut bestrahlt. Hierbei verlängern sich die Bestrahlungszeiten mit abnehmender Eduktkonzentration. Nach einer gesamten Bestrahlungszeit von 250 h wurden die Bestrahlungen abgebrochen. Das erhaltene Rohprodukt **COT02** wird säulenchromatographisch mit Diethylether/Hexan (5/95) aufgereinigt.

$C_{10}H_{10}O_2$ (M = 162.16 g/mol)

Ausbeute: 7.155 g (44.11 mmol, 10 %) **COT02**

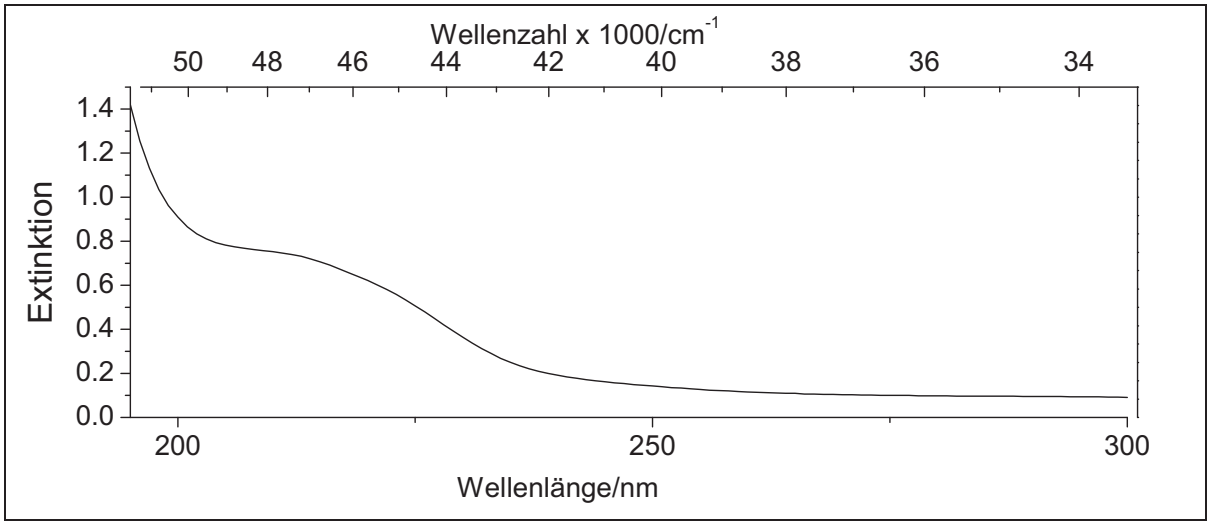


Abbildung 6.65: UV/Vis-Spektrum von **COT02** in Ethanol (c = 327 µmol/l, d = 0.1 cm).

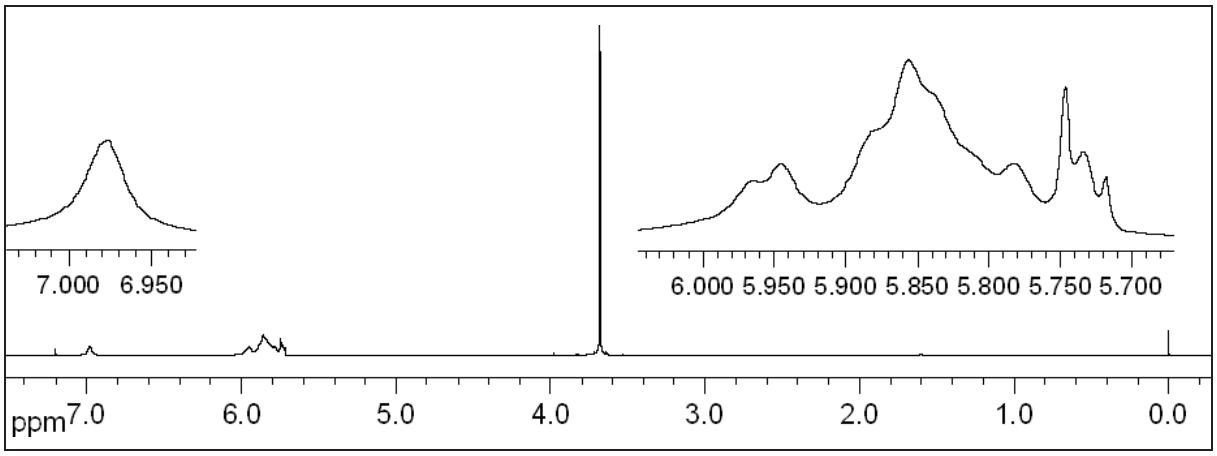


Abbildung 6.66: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **COT02**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[75]*

δ = 6.94-7.02 (m, 1 H, H-2), 5.69-6.12 (m, 6 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 und H-8), 3.68 (s, 3 H, H-10) ppm.

Die beobachteten Spektren sind ungewöhnlich breit und umstrukturiert. Dies kann auf koformationelle Bewegungen auf der Zeitskala des NMRs erklärt werden.

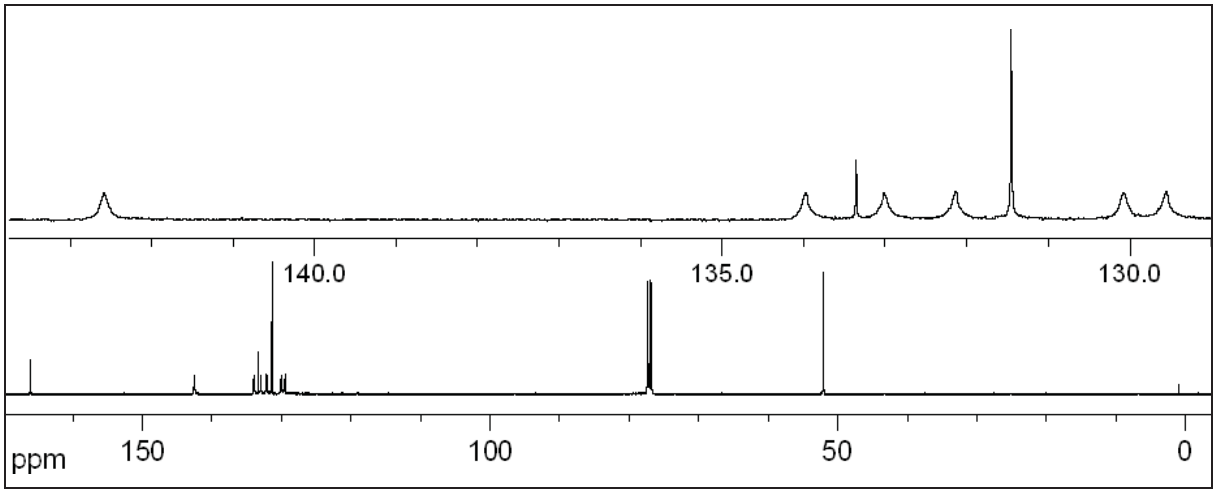
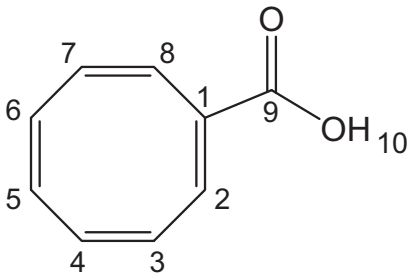


Abbildung 6.67: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **COT02**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 166.2 (s, C-9), 142.6 (bs, C-2), 134.0 (bs, C-7), 133.4 (s, C-1), 133.0 (bs, C-6), 132.1 (bs, C-4), 131.4 (s, C-5), 130.1 (bs, C-8), 129.6 (bs, C-3), 52.0 (s, C-10) ppm.

Versuch 23: Methyl-cycloocta-1,3,5,7-tetraencarbonsäure (COT01)[78]#



COT01

513 mg (3.10 mmol) Methyl-cycloocta-1,3,5,7-tetraencarboxylat (**COT02**) werden in verdünnter Natronlauge (0.26 g, 6.5 mmol) Natriumhydroxid in 4 ml destilliertem Wasser) 3.5 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wird auf -5 °C abgekühlt. Unter Rühren wird eine Lösung aus 0.8 ml konzentrierter Salzsäure und 3 ml destilliertem Wasser mit einer Spritze langsam über einen Zeitraum von 1 h zugetropft. Es fällt ein gelber Feststoff aus. Die Reaktionsmischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit eiskalter Essigsäure (pH ≈ 2) gewaschen. Anschließend wird das Produkt **COT01** mit viel Toluol heraus gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

$C_9H_8O_2$ (M = 148.16 g/mol)

Ausbeute: 413 mg (2.79 mmol, 90 %) **COT01**



Abbildung 6.68: COT01 als kristalliner Feststoff.

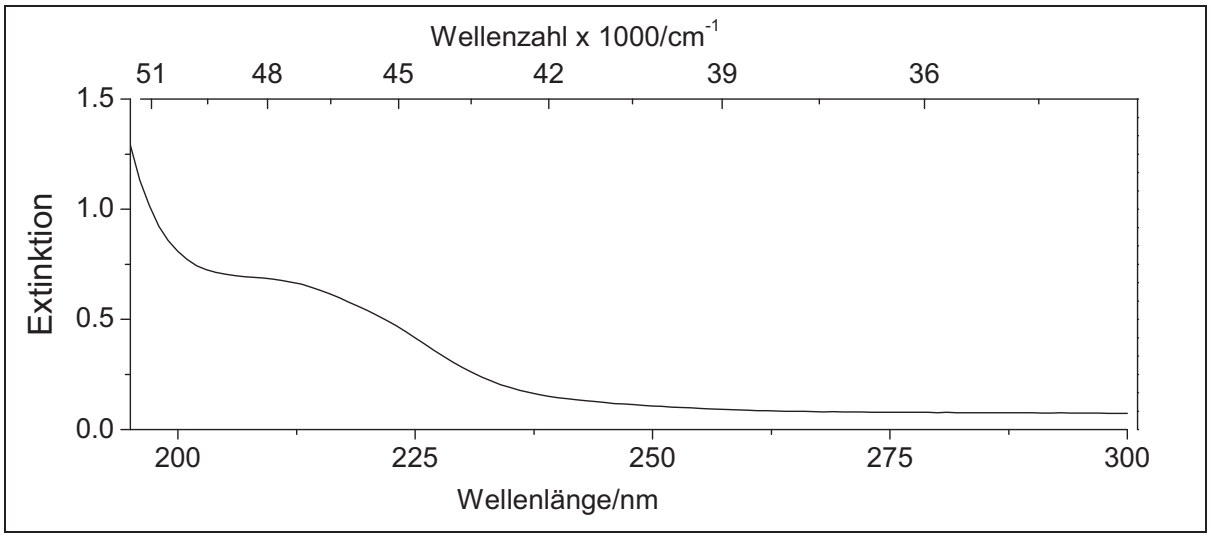


Abbildung 6.69: UV-Vis-Spektrum von **COT01** in Ethanol (c = 304 µmol/l, d = 0.1 cm).[71]*

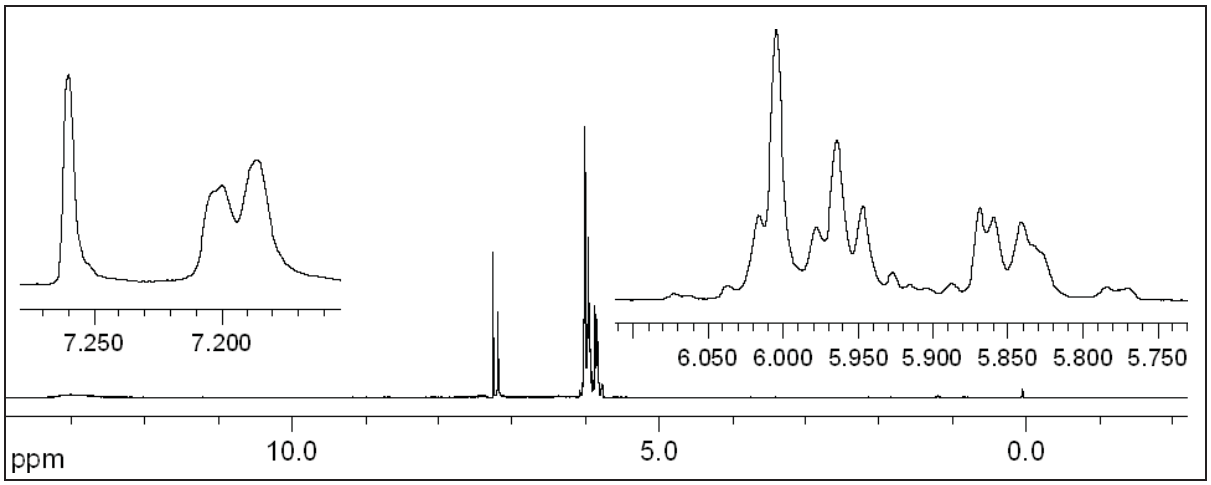


Abbildung 6.70: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$, T = -50 °C), **COT01**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[168]*

δ = 13.00 (bs, 1 H, H-10), 7.19 (d, 1 H, H-2), 5.75-6.09 (m, 6 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 und H-8) ppm.

Die beobachteten Spektren sind ungewöhnlich breit und umstrukturiert. Dies kann auf koformationelle Bewegungen auf der Zeitskala des NMRs erklärt werden.

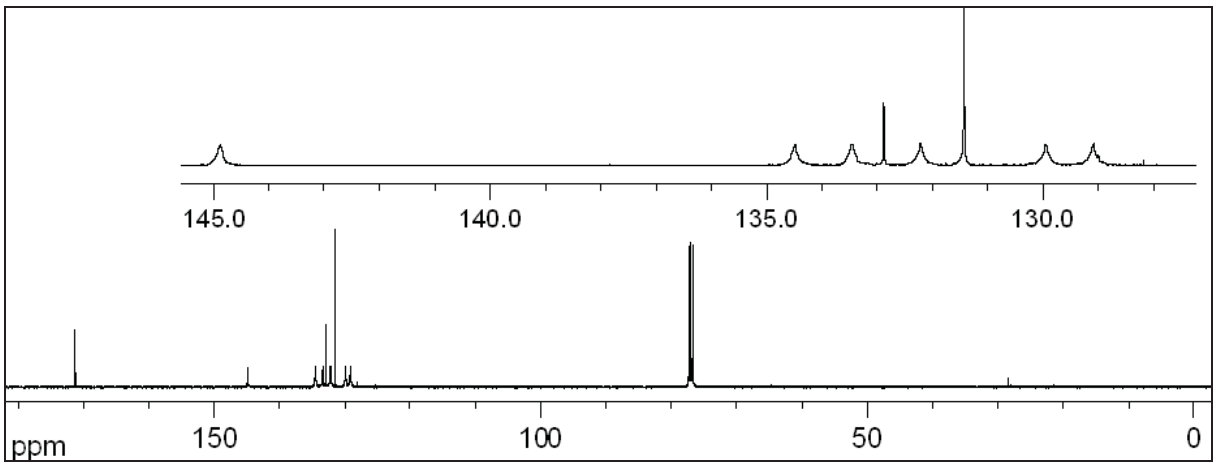
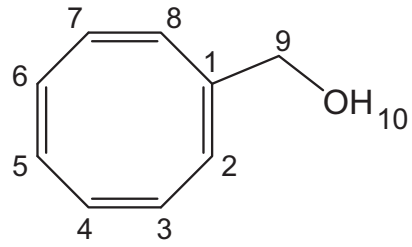


Abbildung 6.71: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **COT01**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 171.2 (s, C-9), 144.9 (bs, C-2), 134.5 (bs, C-7), 133.5 (bs, C-6), 132.9 (s, C-1), 132.2 (bs, C-4), 131.4 (s, C-5), 129.9 (bs, C-8), 129.1 (bs, C-3) ppm.

Versuch 24: Cycloocta-1,3,5,7-tetraenylmethanol (C0T03)[83, 169]#



COT03

Zu einer Suspension aus 515 mg (13.6 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml Diethylether p. a. wird eine Lösung aus 1.44 g (8.86 mmol) Methyl-cycloocta-1,3,5,7-tetraencarboxylat (**COT02**) in 60 ml Diethylether p. a. unter Rühren langsam zugetropft. Man lässt 24 h bei Raumtemperatur rühren.

Die Reaktion wird mit 10 ml destilliertem Wasser hydrolysiert und mit 6 ml 10%iger Schwefelsäure versetzt, um die ausgefallenen Aluminiumsalze zu lösen. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird in Hexan/Ethylacetat 4/1 aufgenommen und über Kieselgel 60 filtriert. Nach Entfernen des Laufmittels erhält man das Produkt **COT03** als Öl.

$C_9H_{10}O$ (M = 134.18 g/mol)

Ausbeute: 597 mg (4.45 mmol, 50 %) **COT03**

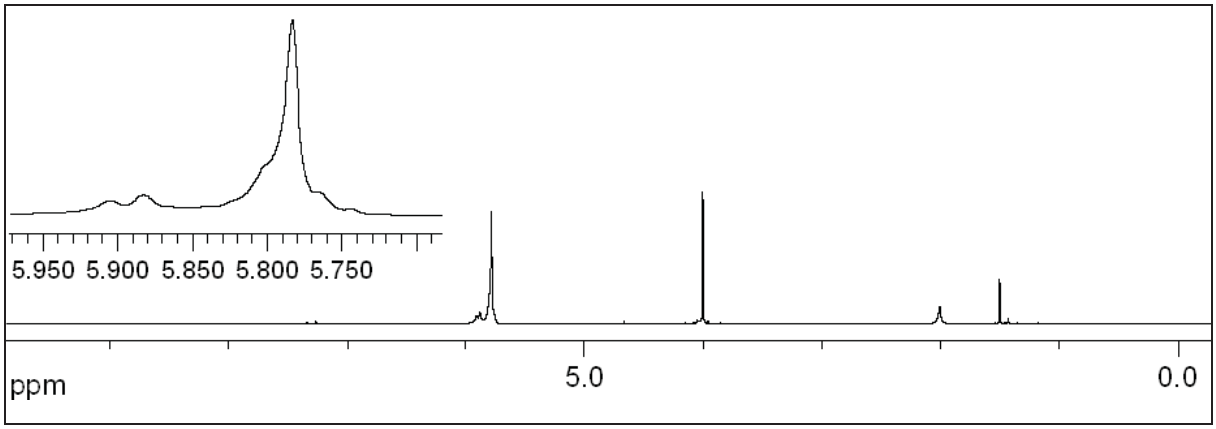


Abbildung 6.72: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **COT03**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[169]*

δ = 5.89 (d, 1 H, $^{3}J_{23}$ = 11.2 Hz, H-2), 5.72-5.85 (m, 6 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 und H-8), 4.00 (s, 2 H, H-9), 2.01 (bs, 1 H, H-10) ppm.

Die beobachteten Spektren sind ungewöhnlich breit und umstrukturiert. Dies kann auf koformationelle Bewegungen auf der Zeitskala des NMRs erklärt werden.

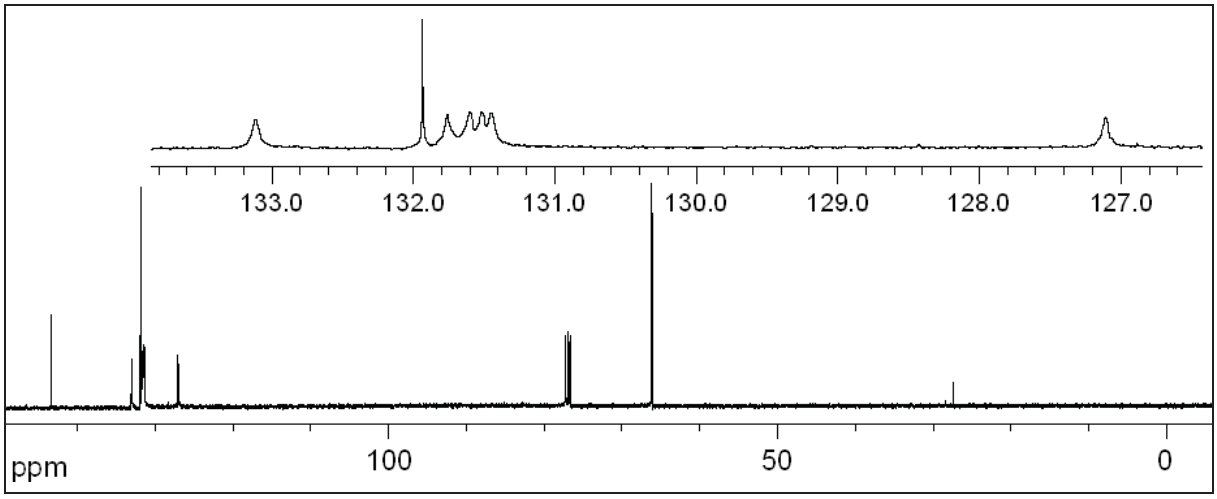


Abbildung 6.73: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **COT03**.

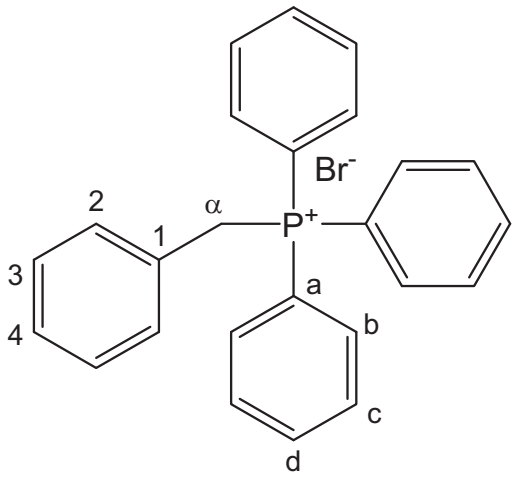
^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 143.4 (s, C-1), 133.1 (bs, C-6), 131.9 (s, C-5), 131.8 (bs, C-8), 131.6, 131.8 und 131.8 (je 1 bs, C-7, C-4 und C-3), 127.1 (bs, C-2), 66.1 (s, C-9), ppm.

6.3.2.3 Diphenyldecapentaensynthesen

Versuch 25: Benzyltriphenylphosphonium-bromid (100)[88]#

In einem 250 ml Kolben werden 19.87 g (75.76 mmol) Triphenylphosphin (**98**) in Diethylether vorgelegt. 11.25 g (65.77 mmol) Benzylbromid (**101**) in Diethylether werden zugetropft. Es wird 10 h zum Rückfluss erhitzt und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt **100** fällt in Form eines weißen Feststoffs aus. Es wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und am Rotationsverdampfer getrocknet.



100

$C_{25}H_{22}BrP$ (M = 433.32 g/mol)

Ausbeute: 22.67 g (52.32 mmol); 69 % **100**

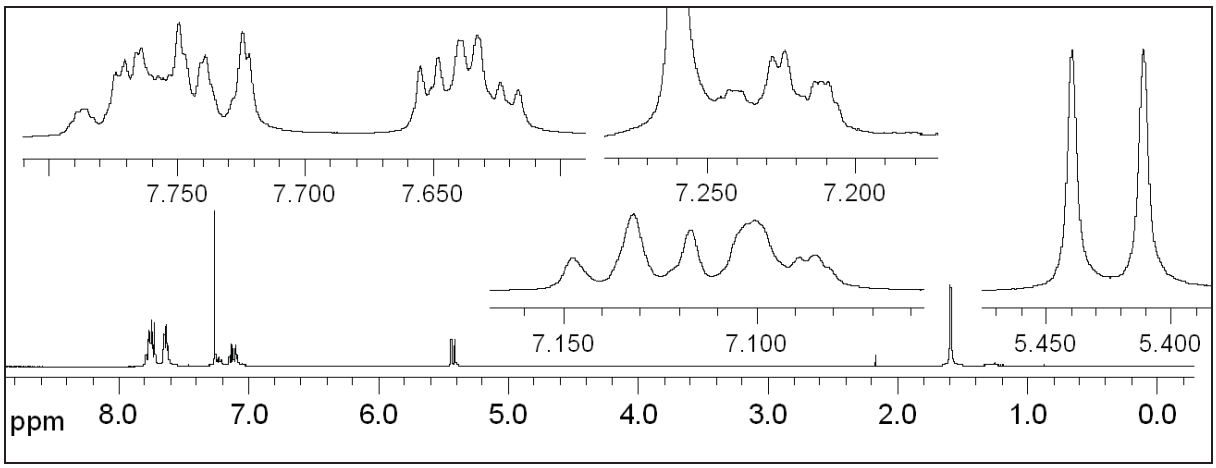


Abbildung 6.74: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **100**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [170, 171]*

δ = 7.71-7.80 (m, 9 H, C- und B-Teil von $[AC]_2B$, H-b und H-d), 7.61-7.66 (m, 6 H, A-Teil von $[AC]_2B$, H-c), 7.20-7.25 (m, 1 H, H-4), 7.11-7.16 (m, 2 H, H-3), 77.07-7.11 (m, 2 H, H-2), 5.43 (d, 2 H, $^1J_{\alpha P}$ = 14.4 Hz, H-α) ppm.

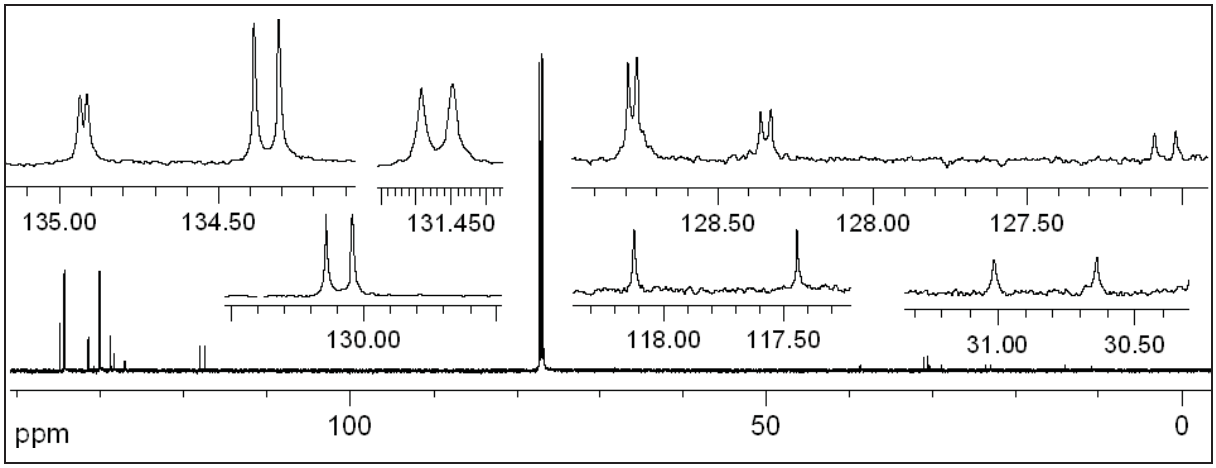


Abbildung 6.75: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **100**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): [172]*

δ = 30.8 (d, $^{1}J_{\alpha P}$ = 46.6 Hz, C-α), 117.8 (d, $^{1}J_{aP}$ = 85.7 Hz, C-a), 127.1 (d, $^{3}J_{2P}$ = 8.7 Hz, C-2), 128.3 (d, $^{5}J_{4P}$ = 3.9 Hz, C-4), 128.8 (d, $^{4}J_{3P}$ = 3.3 Hz C-3), 130.1 (d, $^{3}J_{cP}$ = 12.6 Hz, C-c), 131.5 (d, $^{2}J_{1P}$ = 5.6 Hz, C-1), 134.3 (d, $^{2}Jb_{cP}$ = 9.8 Hz, C-b), 134.9 (d, $^{4}J_{dP}$ = 3.0 Hz, C-d) ppm.

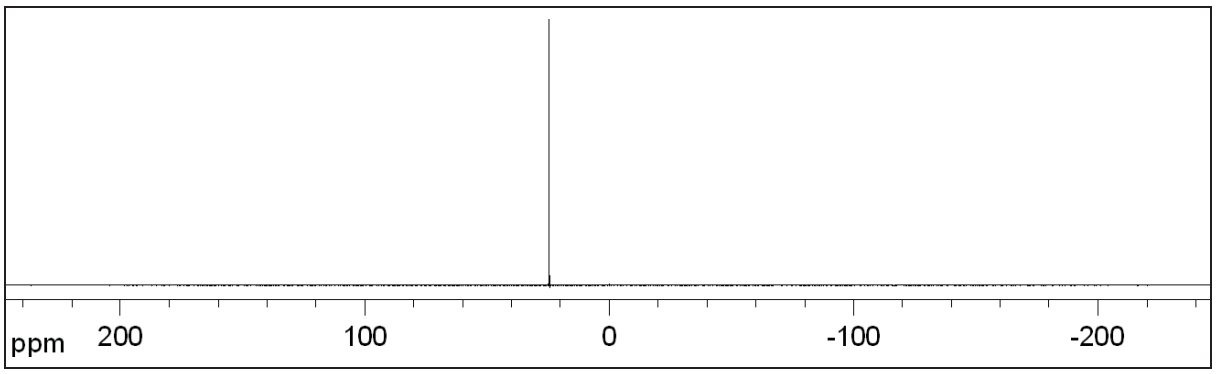


Abbildung 6.76: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$), **100**.

^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, CDCl3):[170, 172]*

δ = 24.4 (s) ppm.

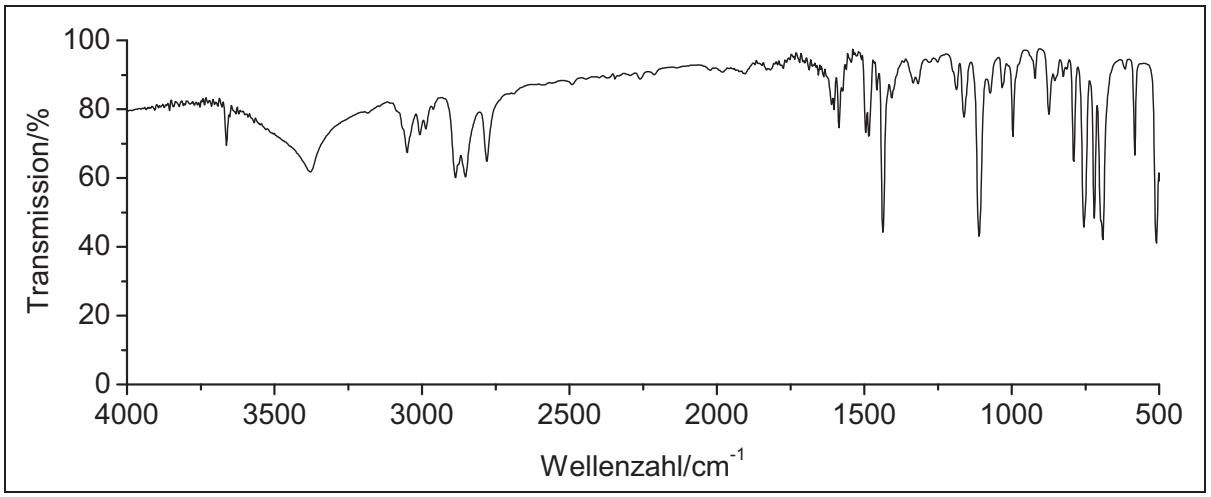
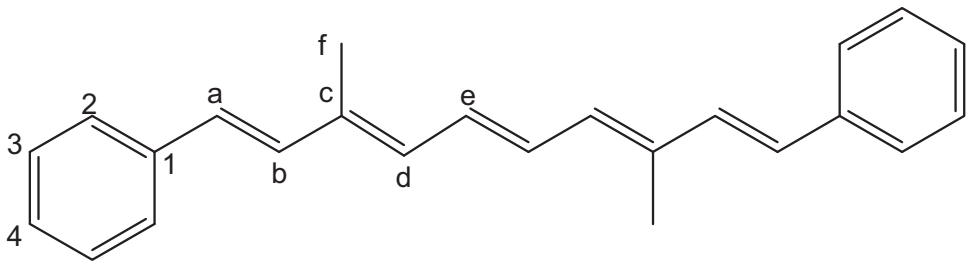


Abbildung 6.77: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **100**.

IR (KBr):[171, 173]*

ṽ = 30508 und 3007 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2886 und 2853 (C-H-Valenzschwingung), 1603, 1586 und 1496 (C=C-Valenzschwingung), 1437 (P-Phenyl-Schwingung), 790, 756 und 691 (monosubstituierter Aromat), 720 (CH_2-„rocking“ Schwingung) cm^{-1}.

Versuch 26: 3,8-Dimethyl-1,10-diphenyldeca-1,3,5,7,9-pentaen (DPD01)[89, 90]



DPD01

Man suspendiert 1.50 g (37.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid und 15.7 g (36.2 mmol) Benzyltriphenylphosphonium-bromid (**100**) in Tetrahydrofuran p. a. und erhitzt 2 h zum Rückfluss. Man gibt 2.63 g (16.0 mmol) 2,7-Dimethyl-2,4,6-trien-1,8-dial (**97**) in Tetrahydrofuran p. a. gelöst hinzu und erhitzt weitere 5 h. Man lässt 48 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wird mit 300 ml Wasser hydrolysiert und der ausfallende Feststoff wird abfiltriert.

Wenig Chloroform wird zur besseren Phasentrennung zugegeben und die Lösung wird dreimal mit 150 ml Wasser extrahiert. Die wässrige Phase wird noch einmal mit

Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.
Der Rückstand und der zuvor isolierte Feststoff werden in Ethanol ausgekocht und abfiltriert. Nach dem Trocknen erhält man das Produkt **DPD01** als leuchtend orangefarbenen, kristallinen Feststoff.

$C_{24}H_{24}$ (312.45 g/mol)

Ausbeute: 2.40 g (7.68 mmol, 48 %) **DPD01**

Schmelzpunkt: 198 °C **Lit**: 204 °C [174]

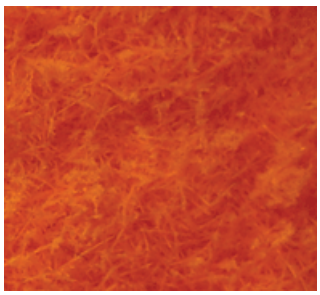


Abbildung 6.78: DPD01 als orangefarbener Feststoff.

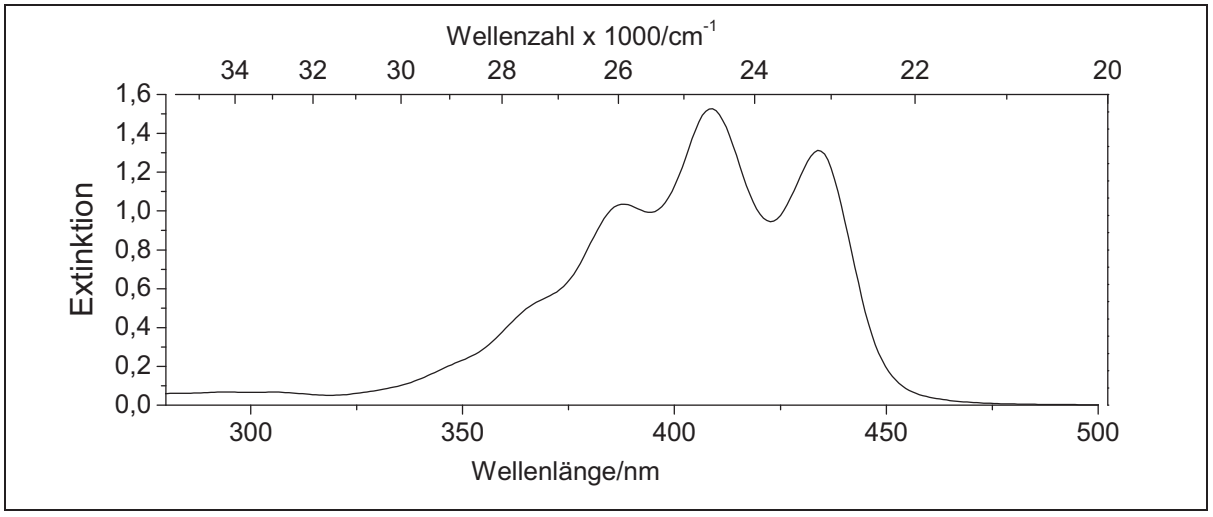


Abbildung 6.79: UV-Vis-Spektrum von **DPD01** in Chloroform (c = 5.12 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 388 (10100 (l/mol)*cm-1), 410 (14900 (l/mol)*cm-1), 434 (12800 (l/mol)*cm-1) nm.

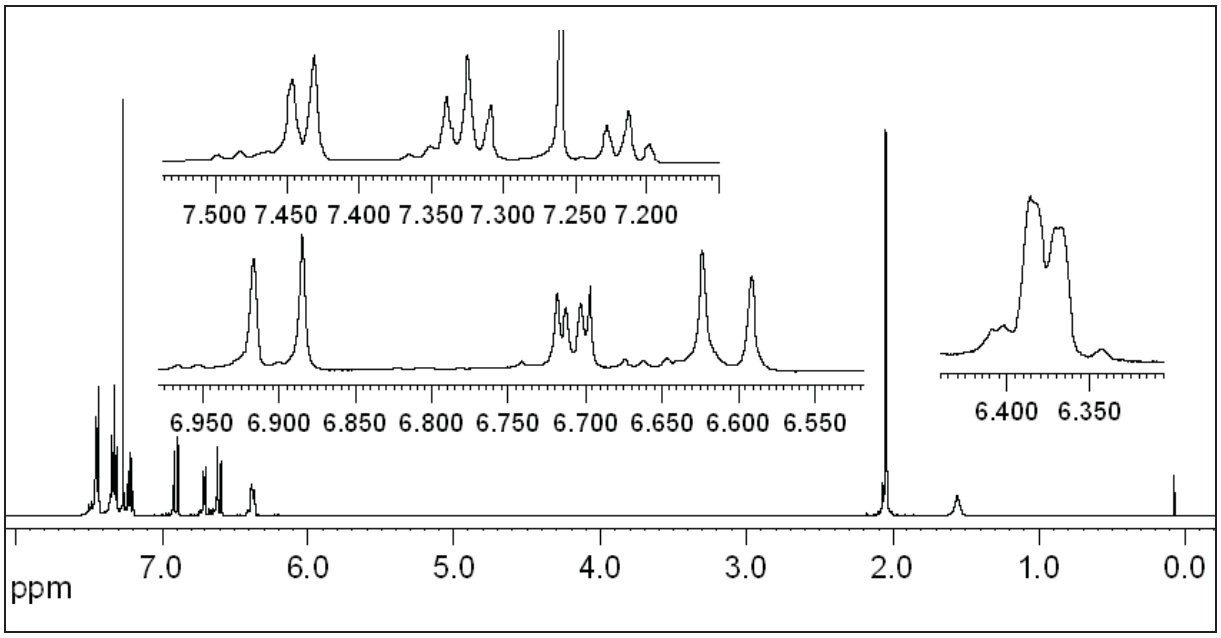


Abbildung 6.80: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPD01**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.42-7.46 (m, 4 H, C-Teil von $[BC]_2A$, H-2), 7.30-7.35 (m, 4 H, B-Teil von $[BC]_2A$, H-3), 7.19-7.24 (m, 2 H, A-Teil von $[BC]_2A$, H-4), 6.90 (d, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.9 Hz, H-b), 6.71 (dd, 2 H, $^{3}J_{ed}$ = 7.8 Hz, $^{4}J_{ed}$ = 2.9 Hz, H-e), 6.61 (dd, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 16.0 Hz, H-a), 6.35-6.40 (m, 2 H, H-d), 2.05 (s, 6 H, H-f) ppm.

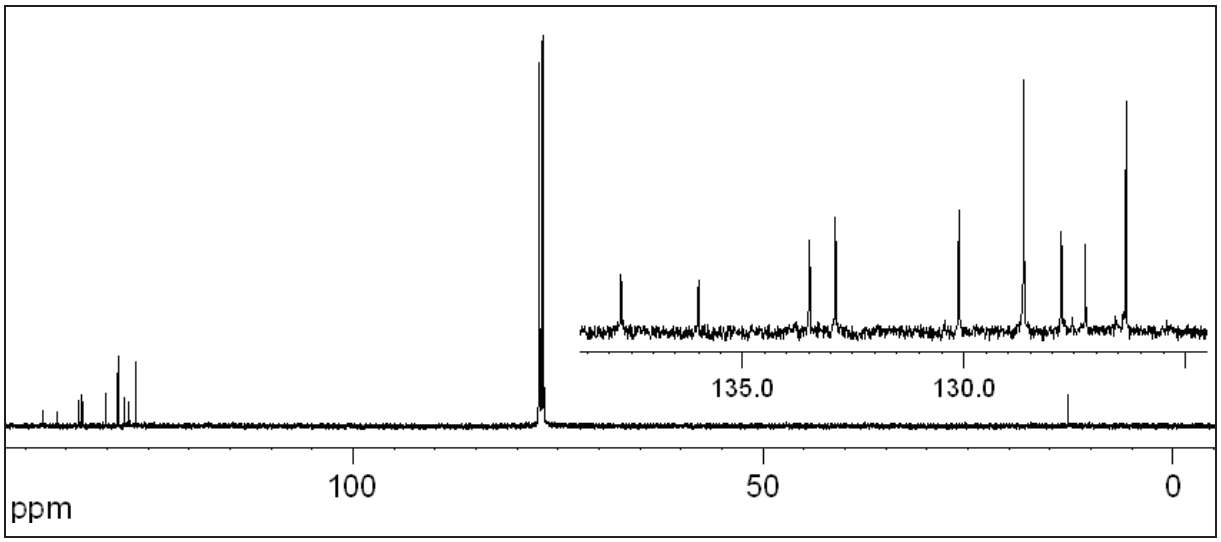


Abbildung 6.81: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPD01**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 137.7 (C-c), 136.0 (C-1), 133.5 (C-b), 132.9 (C-d), 130.1 (C-e), 128.6 (C-3), 127.2 (C-4), 126.3 (C-2), 12.8 (C-f) ppm.

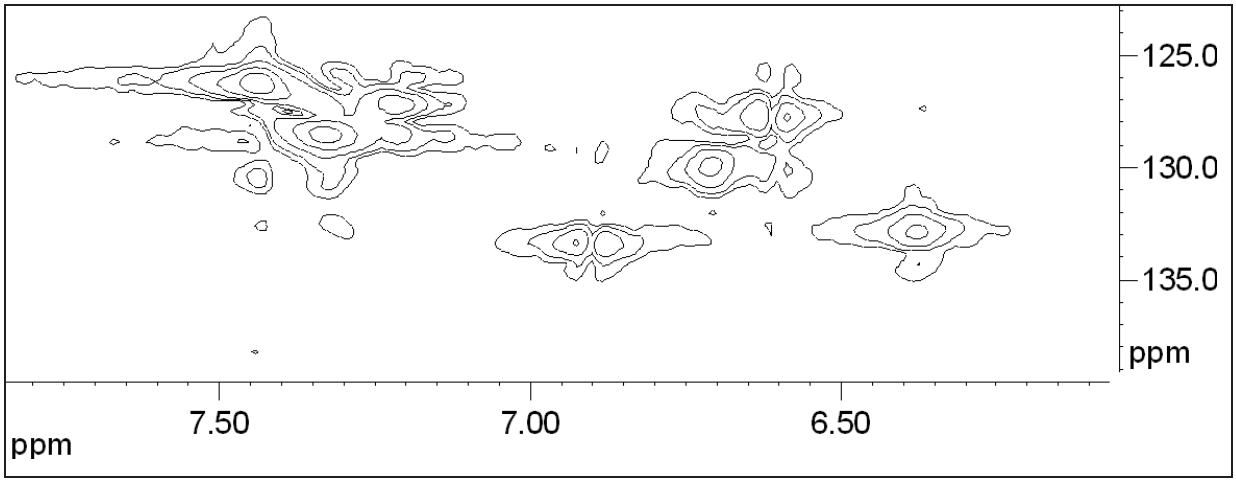


Abbildung 6.82: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **DPD01**.

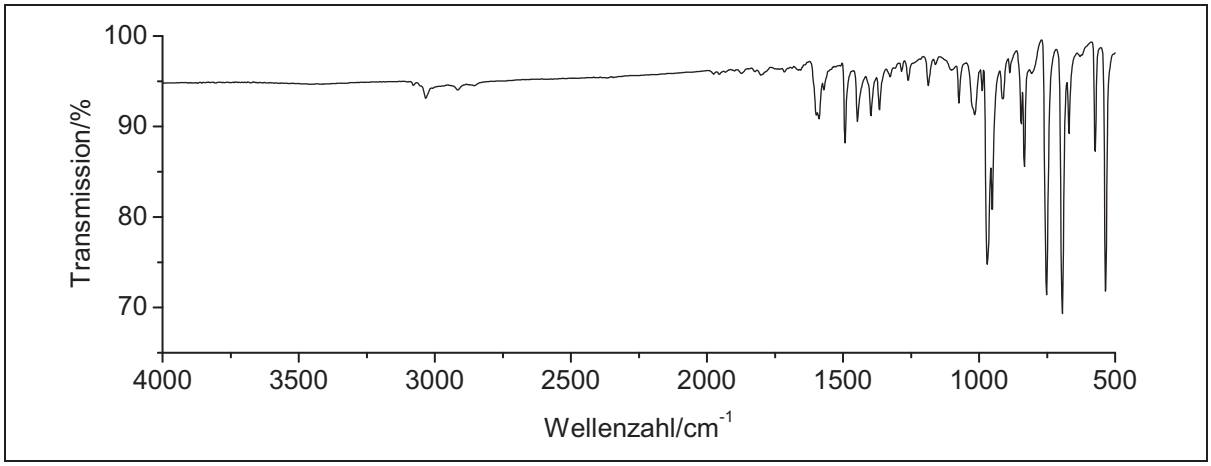


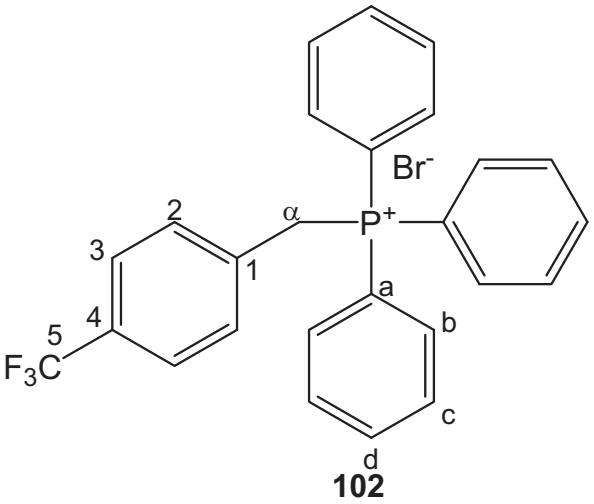
Abbildung 6.83: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPD01**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3033 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2916 (CH_3-Valenzschwingung), 1588 und 1492 (aromatische Ringschwingung), 1446 (CH_3-Deformationsschwingung), 1397 (symmetrische CH_3-Deformationsschwingung), 752 und 694 (Ringschwingung mit fünf benachbarte H) cm^{-1}.

Versuch 27: Triphenyl-[4-(trifluormethyl)benzyl]phosphonium-bromid (102)[91]

Man löst 5.30 g (22.2 mmol) 4-(Trifluormethyl)benzylbromid (**103**) und 8.00 g (30.5 mmol) Triphenylphosphin (**98**) in 100 ml Diethylether und läßt 5 d bei Raumtemperatur rühren. Der entstandene Feststoff **102** wird abfiltriert, mit 50 ml Diethylether gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet.



102

$C_{26}H_{21}BrF_3P$ (M = 500.05 g/mol)

Ausbeute: 4.20 g (8.40 mmol, 38 %) **102**

Schmelzpunkt: 158 °C

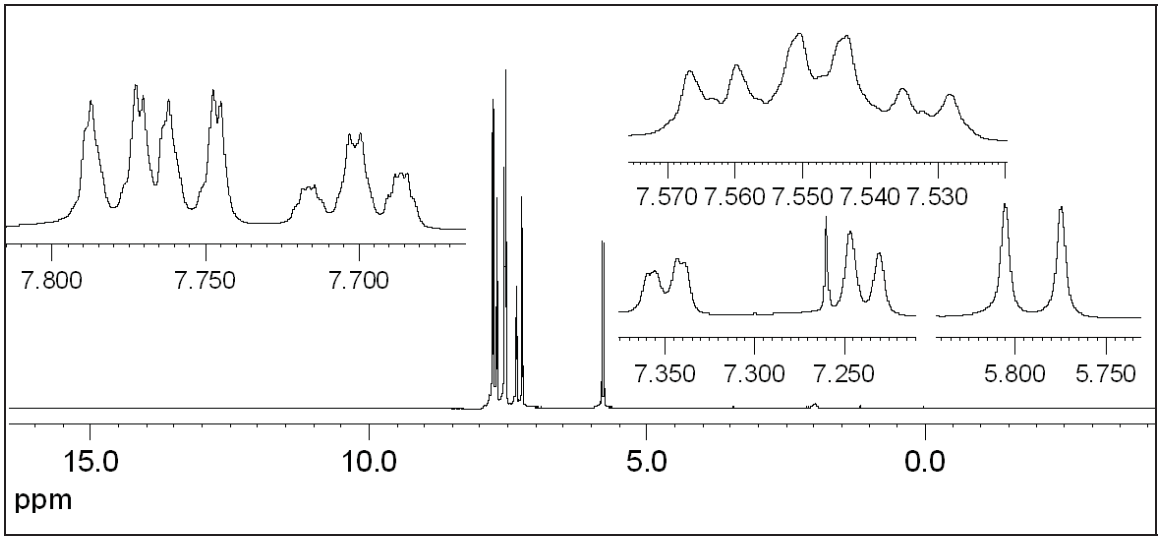


Abbildung 6.84: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **102**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[175]*

δ = 7.75-7.80 (m, 6 H, C-Teil vom $[AC]_2B$,-System, H-b), 7.74-7.78 (m, 3 H, B-Teil vom $[AC]_2B$,-System, H-d), 7.52-7.58 (m, 6 H, A-Teil vom $[AC]_2B$,-System, H-c), 7.32-7.37 (m, 2 H, B-Teil vom $[AB]_2X_3$-System, H-2), 7.21-7.26 (m, 2 H, A-Teil vom $[AB]_2X_3$-System, H-3), 5.79 (d, 2 H, $^{1}J_{3P}$ = 15.4 Hz, H-α) ppm.

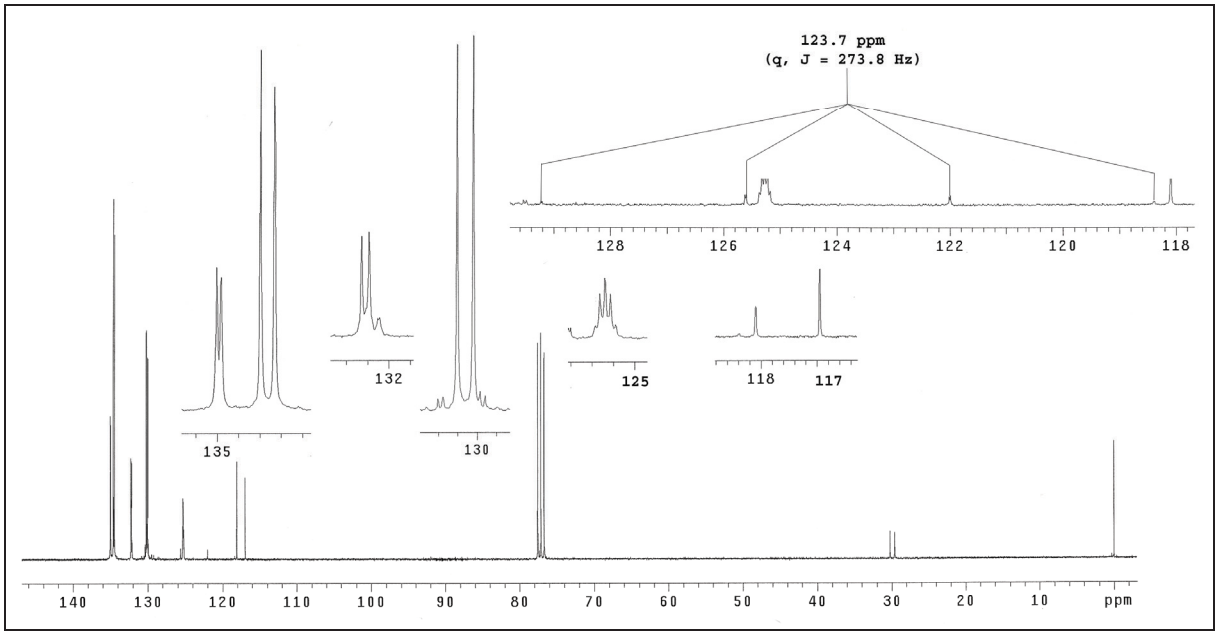


Abbildung 6.85: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **102**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[88]*

δ = 135.0 (d, $^{4}J_{dP}$ = 7.9 Hz, C-d), 134.5 (d, $^{3}J_{bP}$ = 9.6 Hz, C-b), 132.2 (d, $^{3}J_{2P}$ = 5.1 Hz, C-2) 132.0-132.2 (teilweise verdecktem dq, C-1), 130.2 (dq, $^{2}J_{4F}$ = 32.7 Hz, $^{5}J_{4P}$ = 4.0 Hz, C-4), 130.1 (d, $^{3}J_{cP}$ = 12.5 Hz, C-c), 123.7 (dq, $^{1}J_{5F}$ = 273.8 Hz, $^{6}J_{5P}$ = 1.7 Hz, C-5), 125.3 (dq, $^{3}J_{3F}$ = 3.4 Hz, $^{4}J_{3P}$ = 3.4 Hz, C-3), 117.6 (d, $^{1}J_{aP}$ = 85.7 Hz, C-a), 29.8 (d, $^{1}J_{αP}$ = 46.8 Hz, C-α) ppm.

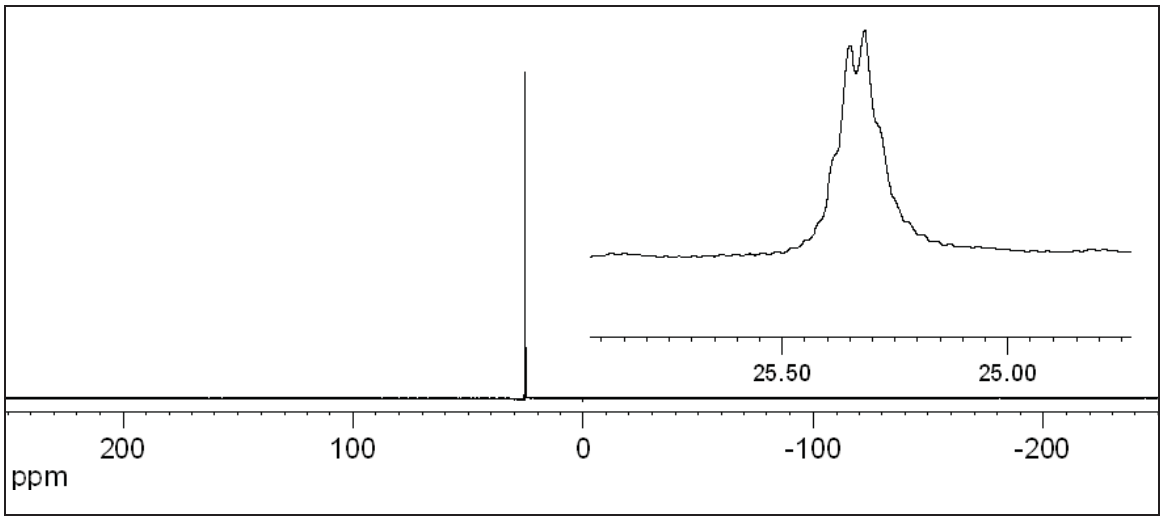


Abbildung 6.86: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$), **102**.[88]*

^{31}**P-{^{1}H}-NMR** (81 MHz, $CDCl_3$):

δ = 25.3 (q, $^{7}J_{FP}$ = 2.7Hz) ppm.

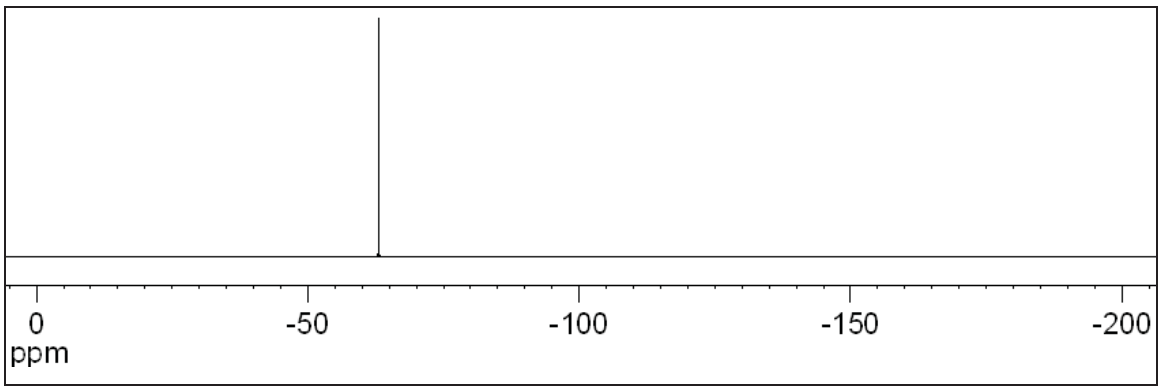


Abbildung 6.87: ^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **102**.

^{19}**F-{^{1}H}-NMR** (470 MHz, $CDCl_3$):[88]*

δ = -63.0 ppm.

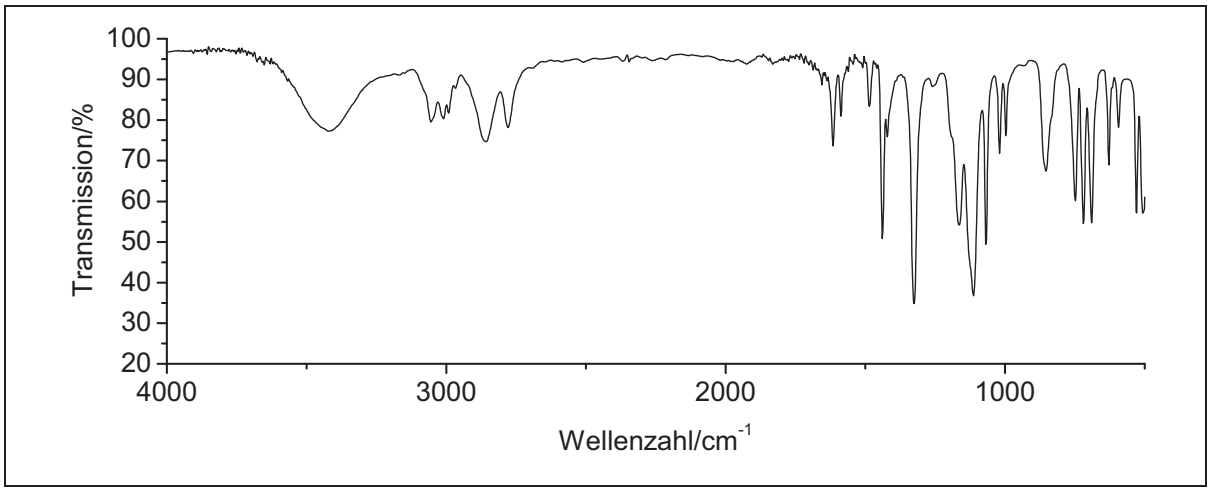
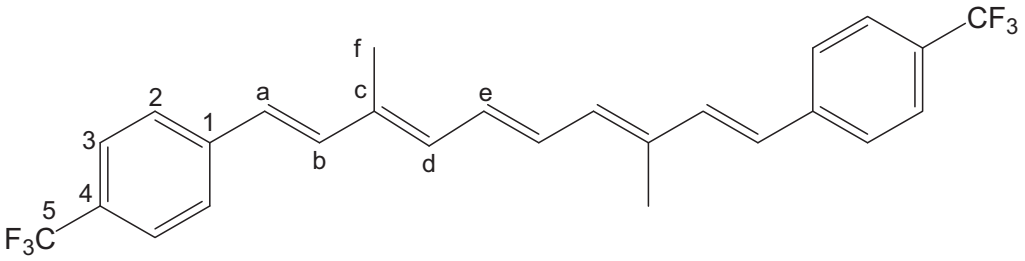


Abbildung 6.88: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **102**.

IR (KBr):[88]*

$\tilde{\nu}$ = 3055 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1616 und 1587 (aromatische Ringschwingung), 1439 (Phosphor-Phenyl-Schwingung), 1326 (C-F-Schwingung), 853 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aryl-Rings), 748 und 690 (C=C-Valenzschwingung eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 26: 1,10-Bis-[(4-trifluormethyl)phenyl]-3,8-dimethyldeca-1,3,5,7,9-pentaen (DPD02)



DPD02

0.32 g (8.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid und 3.5 g (7.0 mmol) Triphenyl[4-(trifluormethyl)benzyl]phosphonium-bromid (**102**) werden in 150 ml Tetrahydrofuran p.a. suspendiert und zum Rückfluss erhitzt. Nach 2.5 h gibt man 0.52 g (3.2 mmol) 2,7-Dimethyl-2,4,6-trien-1,8-dial (**97**) hinzu und erhitzt weitere 18 h bei 90 °C.

Man hydrolysiert mit 150 ml Wasser. Die wässrige Phase wird drei Mal mit 50 ml Chloroform extrahiert; die vereinigten organischen Phasen werden drei Mal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet.

Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält das Produkt **DPD02** als feine orangefarbene Kristalle.

$C_{26}H_{22}F_6$ (M = 448.44 g/mol)

Ausbeute: 0.20 g (0.45 mmol, 14 %) **DPD02**

Schmelzpunkt: 197 °C



Abbildung 6.89: DPD02 als kristallines Produkt.

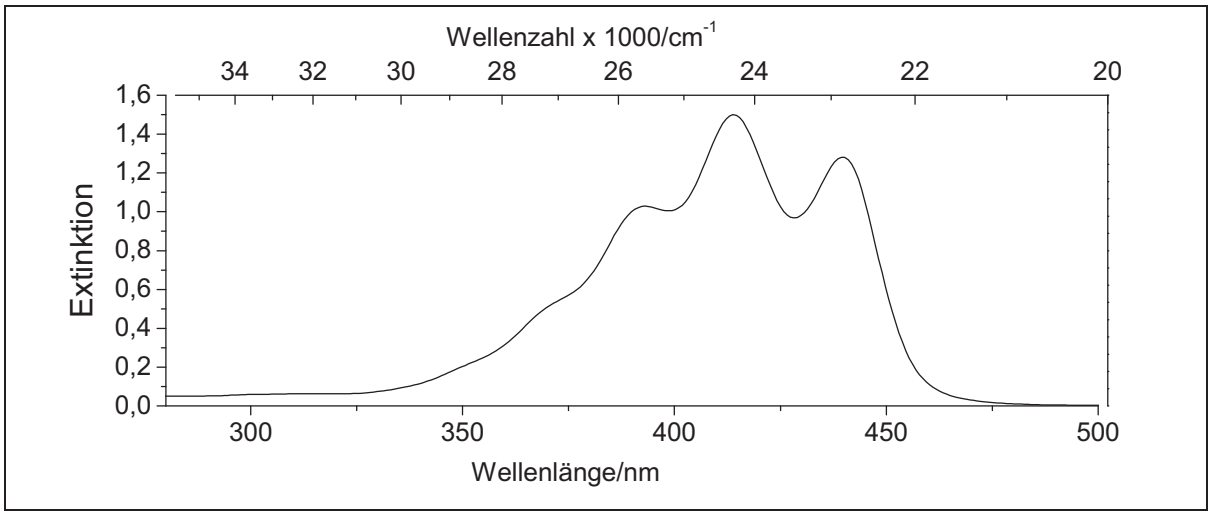


Abbildung 6.90: UV-Vis-Spektrum von **DPD02** in Chloroform (c = 63.3 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 393 (81300 (l/mol)*cm-1), 414 (118000 (l/mol)*cm-1), 439 (101000 (l/mol)*cm-1) nm.

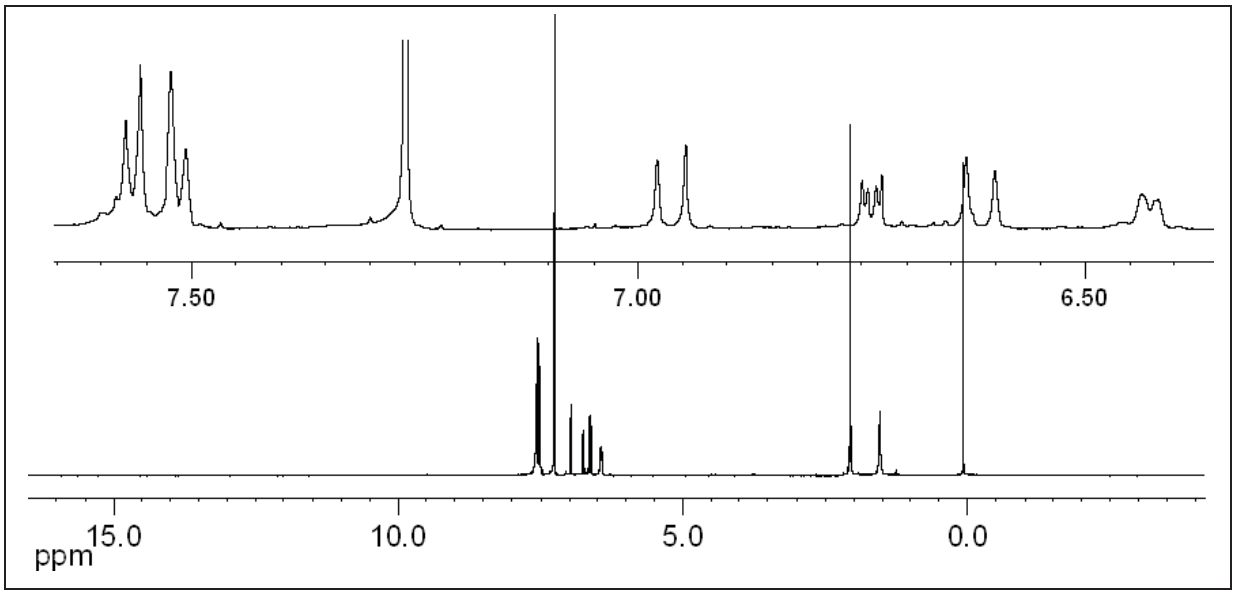


Abbildung 6.91: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPD02**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.55-7.58 (m, 4 H, B-Teil vom $[AB]_2X_3$-System, H-3), 7.49-7.55 (m, 4 H, A-Teil vom $[AB]_2X_3$-System, H-2), 6.96 (d, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.9 Hz, H-b), 6.74 (dd, 2 H, $^{3}J_{de}$ = 7.8 Hz, $^{4}J_{de}$ = 2.9 Hz, H-e), 6.62 (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.9 Hz, H-a) 6.43 (dd, 2 H, $^{3}J_{de}$ = 7.7 Hz, $^{4}J_{de}$ = 2.1 Hz, H-d) 2.06 (s, 6 H, H-f) ppm.

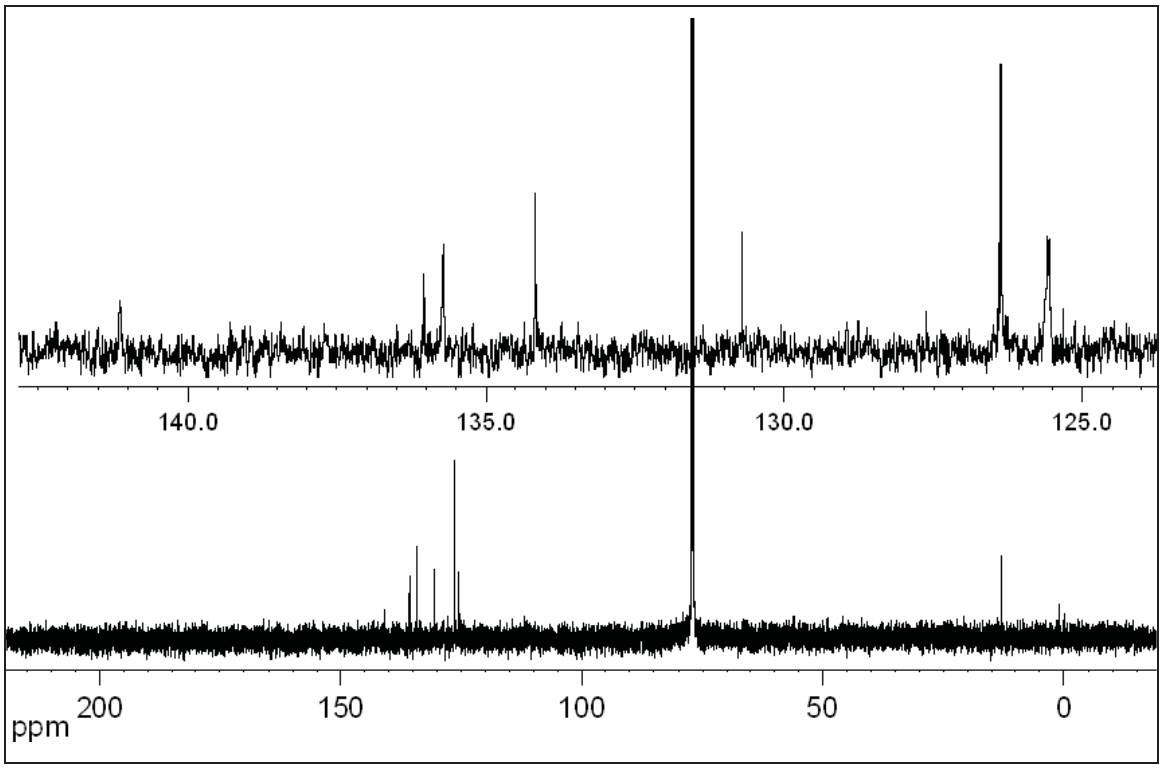


Abbildung 6.92: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPD02**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 141.1 (s, C-1), 136.0 (s, C-c), 135.7 (s, C-b), 134.8 (s, C-d oder C-e), 130.6 (s, C-d oder C-e), 126.4 (s, C-a), 126.1 (s, C-2), 125.6 (q, $^{3}J_{3F}$ = 3.6 Hz, C-3), 12.8 (s, C-f) ppm. (Die Quartette von C-5 und C-4 sind wegen der geringen Intensität nicht vom Untergrundrauschen separierbar.)

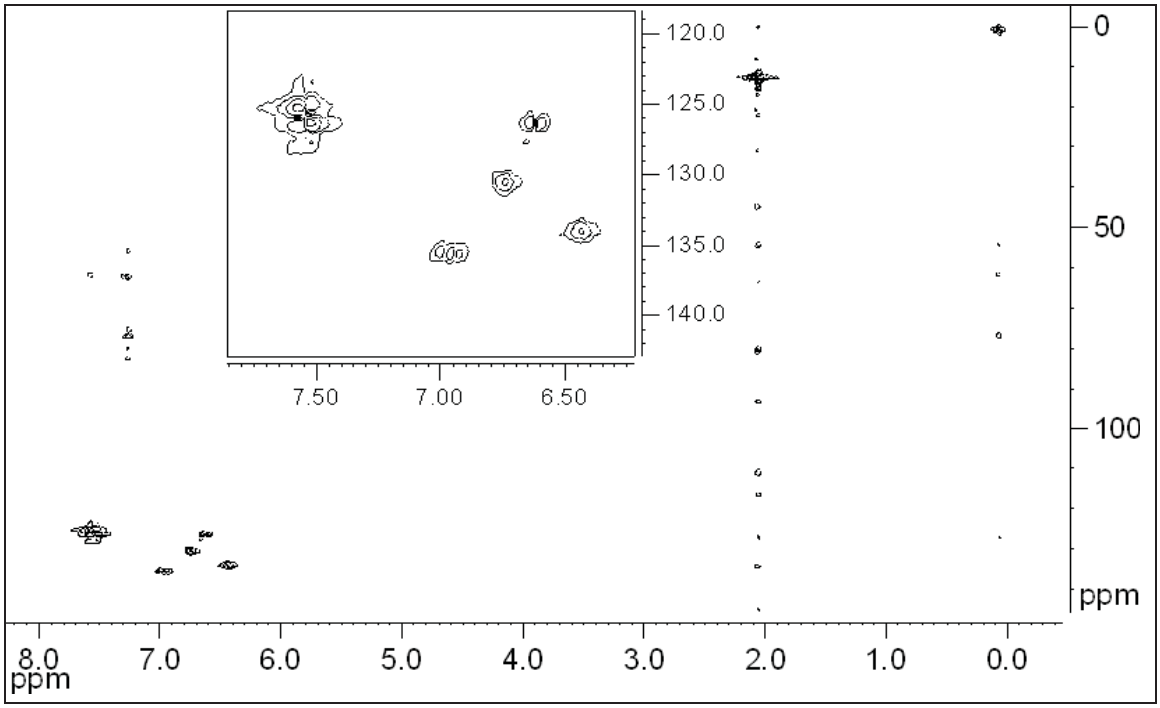


Abbildung 6.93: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPD02**.

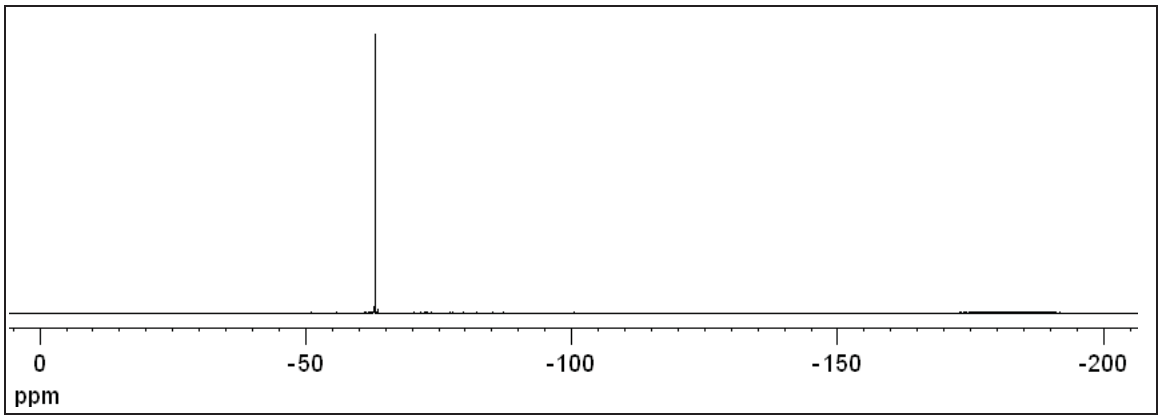


Abbildung 6.94: ^{19}F{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **DPD02**.

^{19}F{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$):

δ = -62.9 ppm.

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 68.13 (69.64)

% H: 4.94 (4.91)

% N: /

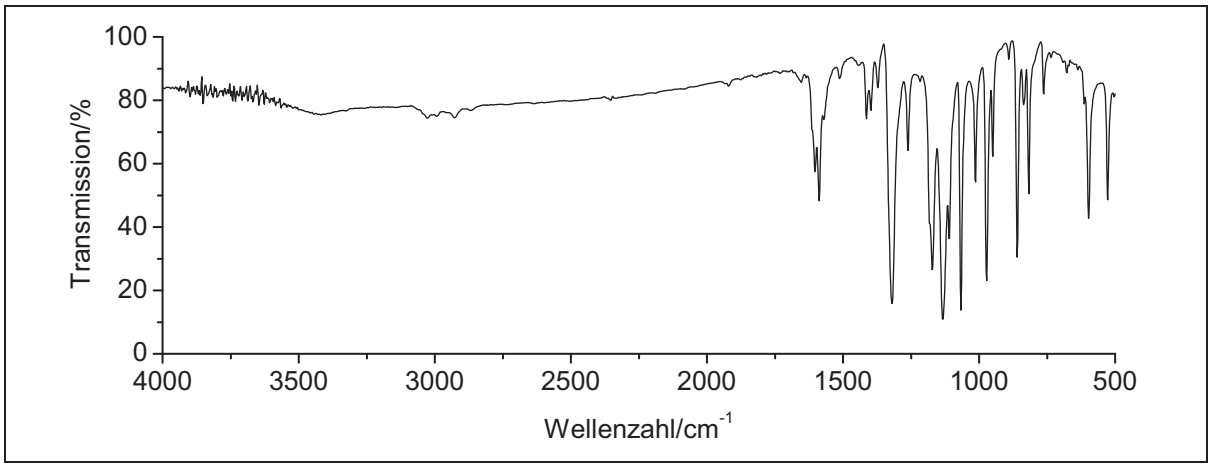


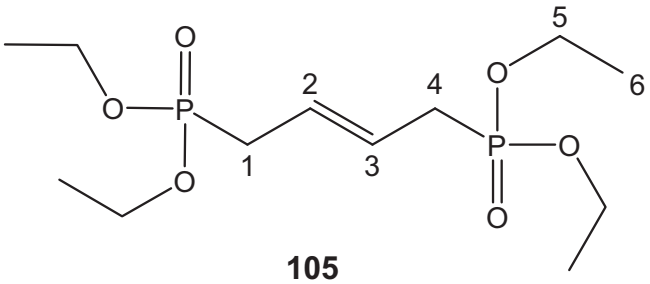
Abbildung 6.95: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPD02**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3100 (Aryl-H-Schwingung), 2860 (CH_3-Valenzschwingung), 1603 und 1587 (aromatische Ringschwingung), 1413 (CH_3-Deformationsschwingung), 1372 (symmetrische CH_3-Deformationsschwingung), 1133 (CF-Schwingung), 817 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierter Aromaten) cm^{-1}.

6.3.2.4 Diphenylhexatriensynthesen

Versuch 29: (*E*)-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (105)[92, 99]



105

Einem 250 ml-Einhalskolben werden ein Intensivkühler, eine 15 cm Vigreuxkolonne und ein Liebigkühler aufgesetzt. In dem Kolben werden 86 g (520 mmol) Triethylphosphit (**108**) und 47 g (220 mmol) 1,4-Dibrombut-2-en (**107**) auf 120 °C erhitzt. Das heftige Anspringen der Reaktion wird durch das Anstellen des Intensivkühlers kontrolliert. Ethylbromid (**109**), welches sich im Laufe der Reaktion bildet, wird abdestilliert, wobei die Temperatur des Ölbads langsam auf 145 °C erhöht wird. Die Reaktion ist beendet, wenn kein Ethylbromid (**109**) mehr entsteht. Das Rohprodukt **105** wird zur Reinigung im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert.

$C_{12}H_{26}O_6P_2$ (M = 328.28 g/mol)

Ausbeute: 66 g (200 mmol, 91 %) **105** **Lit**: 83 % [92]

Siedepunkt: 153 °C, 1.9 $\cdot 10^{-2}$ mbar **Lit**: 152 °C, 0.2 Torr[92], 87 °C, 0.55 Torr [176]

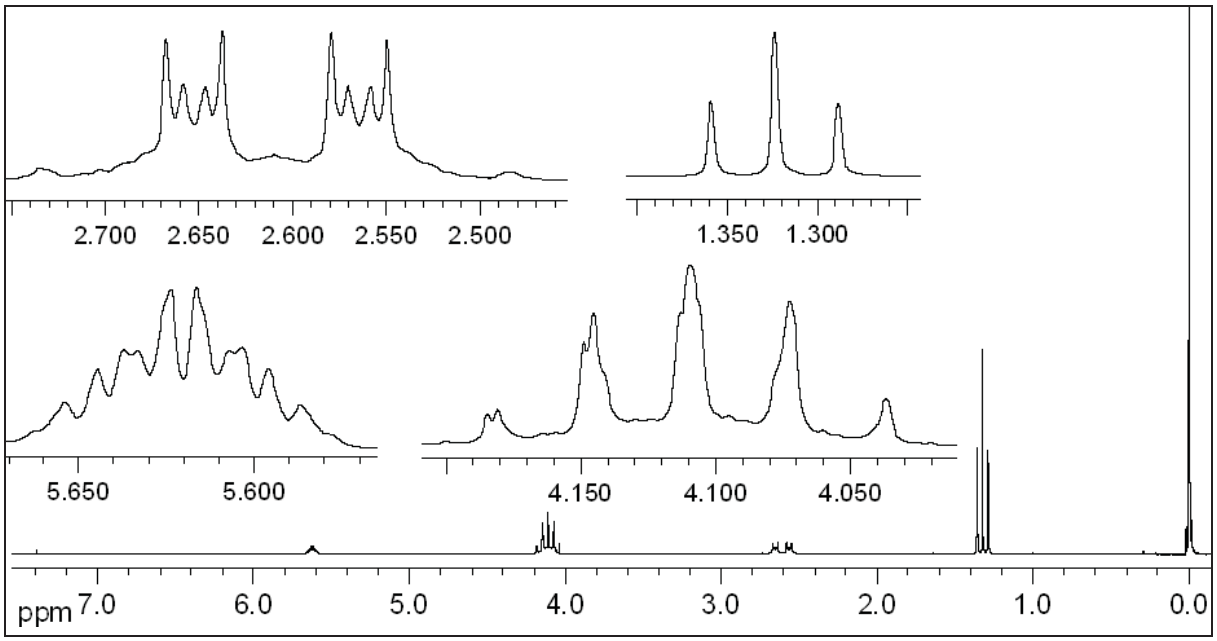


Abbildung 6.96: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **105**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[176]*

δ = 5.57-5.67 (m, 2 H, B-Teil von einem $[AB_2X]_2$-System, $^{3}J_{21}$ = 7.2 Hz, $^{2}J_{21}$ = 4.2 Hz, H-2), 4.03-4.19 (2xdq, 8 H, $^{3}J_{56}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{1P}$ = 8.6 Hz, H-5), 2.61 (ddd, 4 H, A-Teil von einem $[AB_2X]_2$-System, $^{3}J_{12}$ = 1.8 Hz, $^{2}J_{12}$ = 4.3 Hz, $^{1}J_{1P}$ = 17.6 Hz, H-1), 1.32 (t, 12 H, $^{3}J_{65}$ = 7.1 Hz, H-6) ppm.

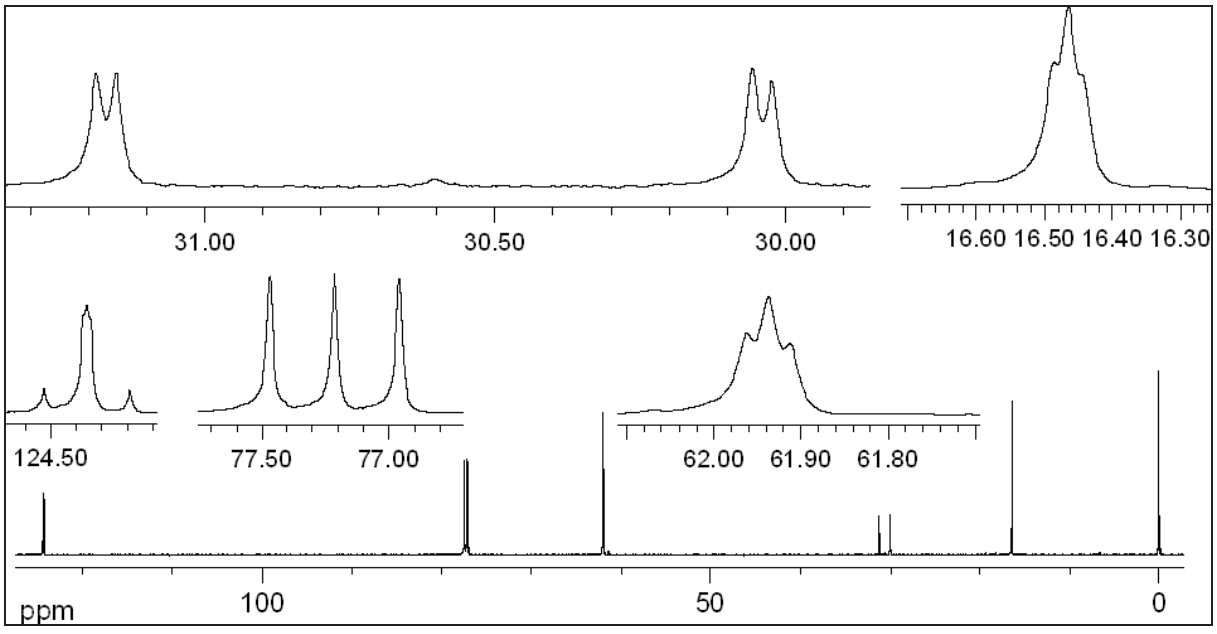


Abbildung 6.97: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **105**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[176]*

δ = 124.4 (d, $^{2}J_{2/3P}$ = 21.1 Hz, C-2 oder C-3), 124.3 (d, $^{2}J_{2/3P}$ = 21.4 Hz, C-2 oder C-3), 61.95 (d, $^{2}J_{5P}$ = 2.9 Hz, C-5), 61.92 (d, $^{2}J_{5'P'}$ = 3.0 Hz, C-5'), 30.62 (d, $^{1}J_{1P}$ = 142.1 Hz, C-1 oder C-4), 30.59 (d, $^{1}J_{1P}$ = 142.1 Hz, C-1 oder C-4), 16.48 (d, $^{3}J_{6P}$ = 2.7 Hz, C-6), 16.45 (d, $^{3}J_{6'P'}$ = 2.7 Hz, C-6') ppm.

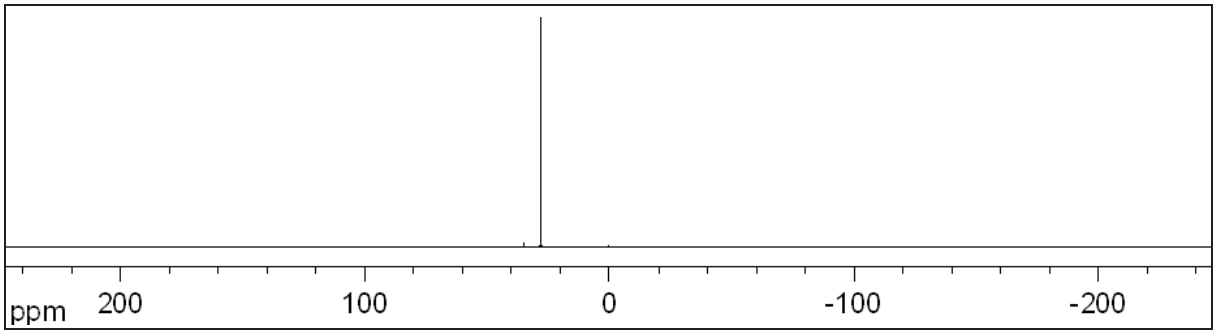
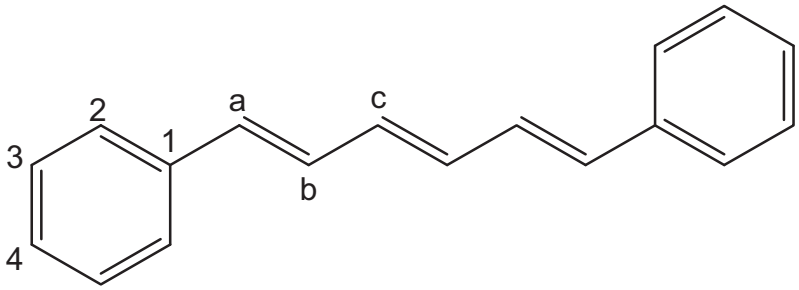


Abbildung 6.98: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$), **105**.

^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$):

δ = -28.0 ppm.

Versuch 30: 1,6-Diphenylhexa-1,3,5,-trien (DPH01)



DPH01

Zu einer Suspension von 0.32 g (13 mmol) 60%igem Natriumhydrid in 50 ml absolutem Tetrahydrofuran werden unter Rühren bei Raumtemperatur 7.2 g (22 mmol) (*E)*-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylbisphosphonat) (**105**) in 10 ml absolutem Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 0.5 h tropft man 6.9 g (65 mmol) frisch destillierten Benzaldehyd (**110**) in 10 ml absolutem Tetrahydrofuran zu und rührt weitere 30 min. Man gibt erneut 0.39 g (16 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zu und lässt das Reaktionsgemisch 16 h rühren.

Es wird mit 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung hydrolysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 75 ml Tetrahydrofuran/Diethylether im Verhältnis 3/1 extrahiert; die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 50 ml halbkonzentrierter Natriumchloridlösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt.
Das Rohprodukt **DPH01** wird mit Hexan versetzt und über Nacht bei 5 °C gelagert. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und in Ethanol ausgekocht. Der Rückstand wird abfiltriert und unter vermindertem Druck getrocknet. Man erhält das Produkt **DPH01** in Form von hellgelben Kristallen.

$C_{18}H_{16}$ (M = 232.33 g/mol)

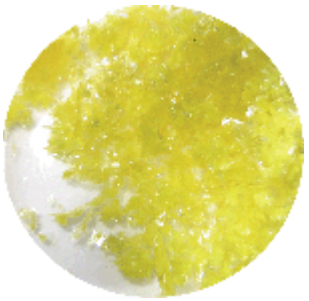


Abbildung 6.99: DPH01 als kristallines Produkt.

Ausbeute: 1.3 g (5.4 mmol, 37 %) **DPH01**

Schmelzpunkt: 187 °C **Lit**: 196 °C [177]*

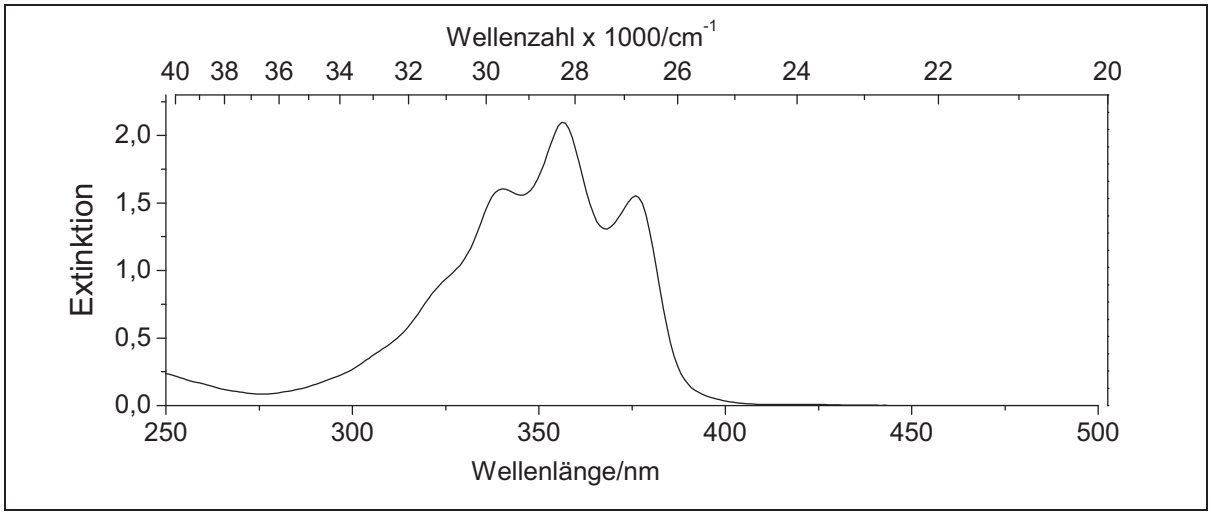


Abbildung 6.100: UV-Vis-Spektrum von **DPH01** in Chloroform (c = 35.3 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):[176-179]*

λ_{max} (ε_{max}) = 340 (45500 (l/mol)*cm-1), 356 (59400 (l/mol)*cm-1), 377 (44000 (l/mol)*cm-1) nm.

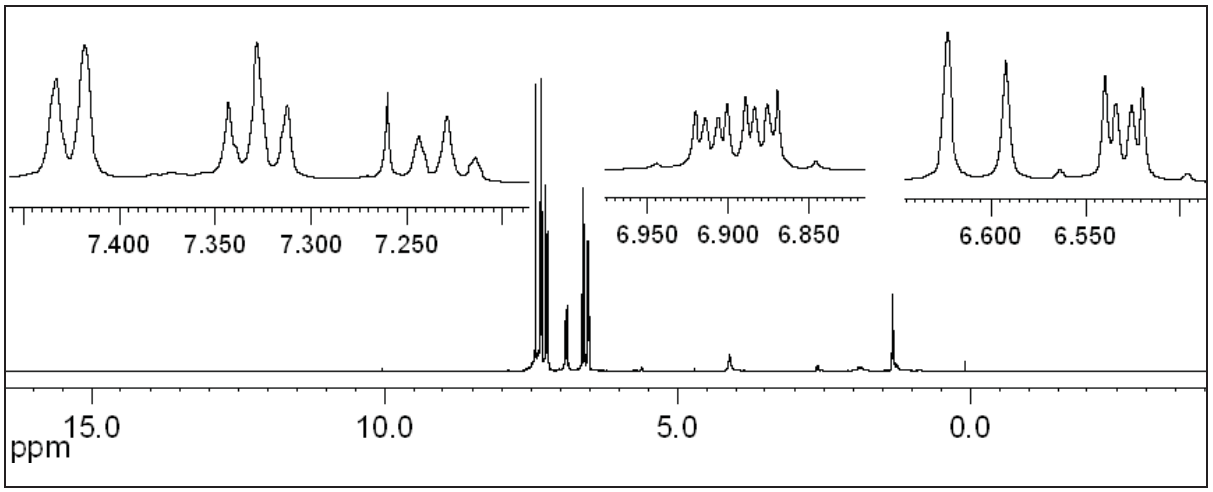


Abbildung 6.101: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH01**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[180, 181]*

δ = 7.40-7.45 (m, 4 H, C-Teil von $[AC]_2B$, H-2), 7.30-7.36 (m, 2 H, B-Teil von $[AC]_2B$, H-4), 7.20-7.26 (m, 4 H, A-Teil von $[AC]_2B$, H-3), 6.90▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1Hz, H-b), 6.61▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.53▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c) ppm.

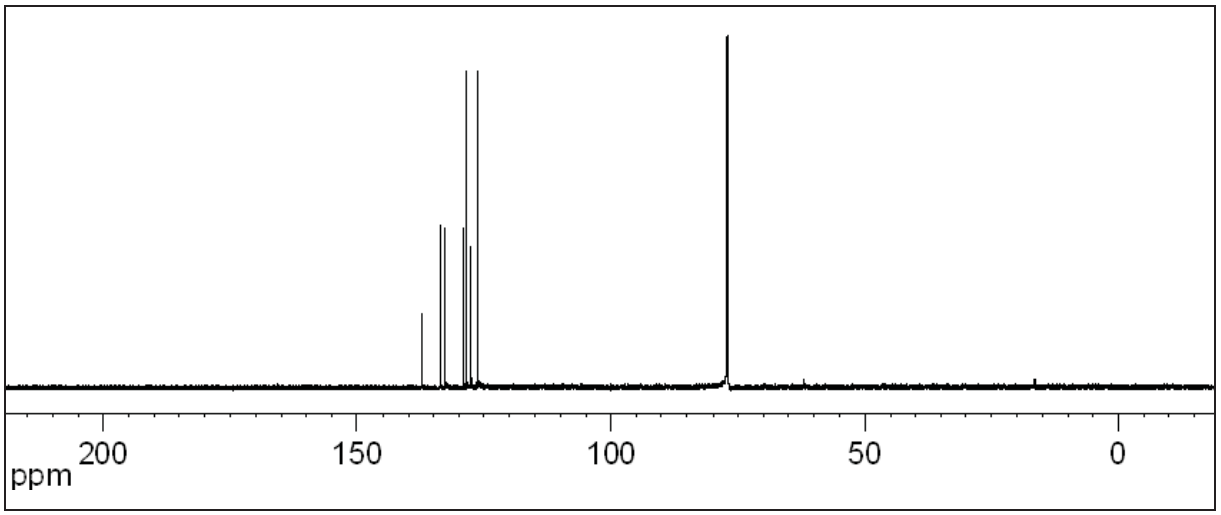


Abbildung 6.102: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH01**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[181]*

δ = 137.4 (C-1), 133.6 (C-c), 132.7 (C-a), 129.1 (C-b), 128.6 (C-4), 127.5 (C-3), 126.4 (C-2) ppm.

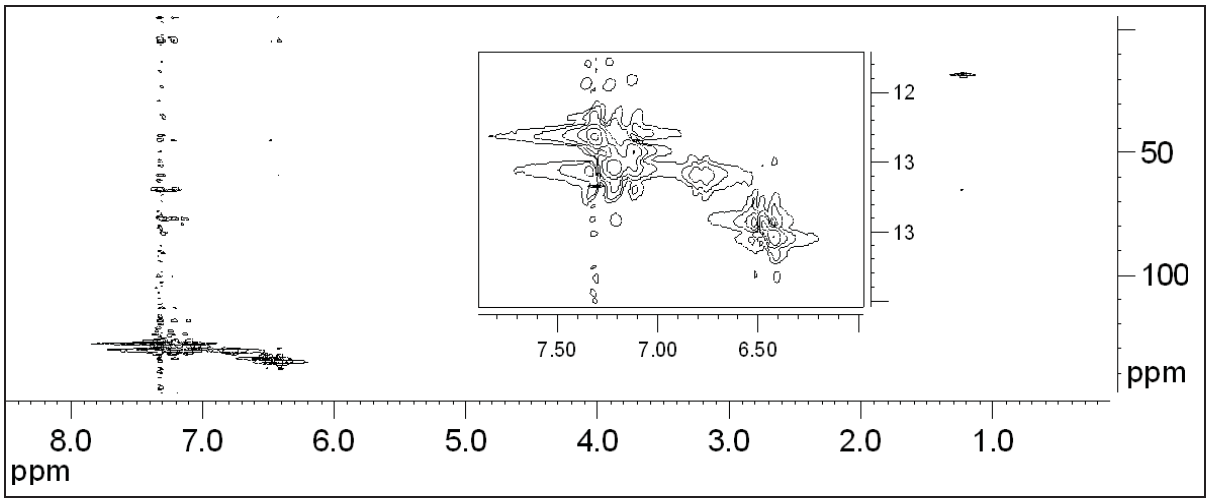


Abbildung 6.103: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH01**.

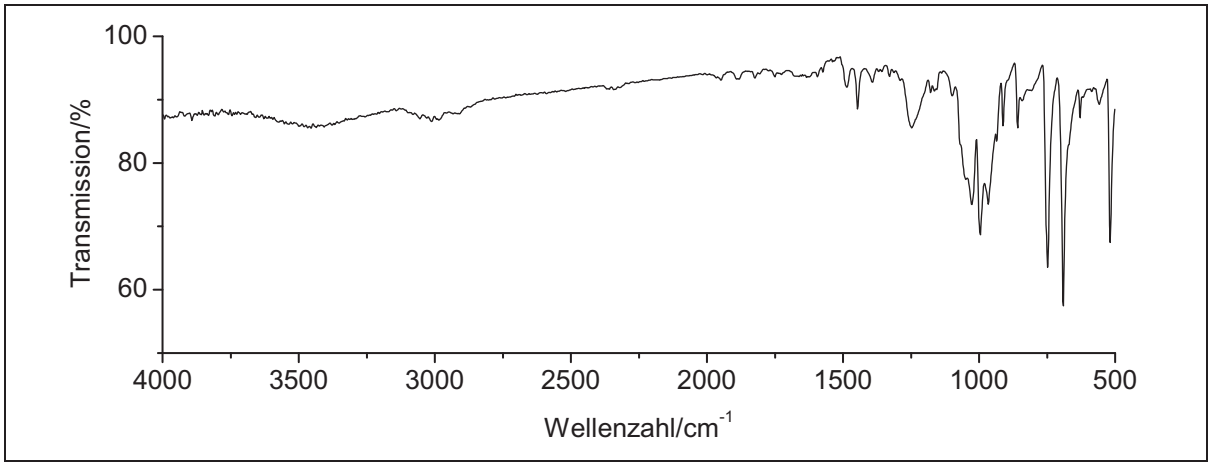
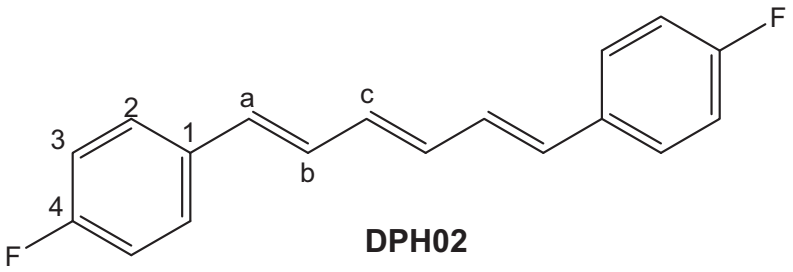


Abbildung 6.104: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH01**.

IR (KBr):[182]*

$\tilde{\nu}$ = 3012 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1890 (Aryl-H-Ober- und Kombinationsschwingung), 1486 und 1446 (aromatische Ringschwingung), 747 und 691 (C=C-Valenzschwingung eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 31: 1,6-Bis(4-fluorphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH02)



DPH02

1.51 g (4.60 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.34 g (8.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml absolutem Tetrahydrofuran 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.29 g (10.4 mmol) 4-Fluorbenzaldehyd (**201**) in 40 ml absolutem Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.35 g (8.8 mmol) 60%igem Natriumhydrid und 10 ml absolutes Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 5 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit destilliertem Wasser hydrolysiert, wobei das Rohprodukt **DPH02** ausfällt. Dieses wird abfiltriert, mit Hexan gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet.

$C_{18}H_{14}F_2$ (M = 268.30 g/mol)



Abbildung 6.105: DPH02 kristallines Produkt.

Ausbeute: 519 mg (1.93 mmol, 42 %) **DPH02**

Schmelzpunkt: 188 °C

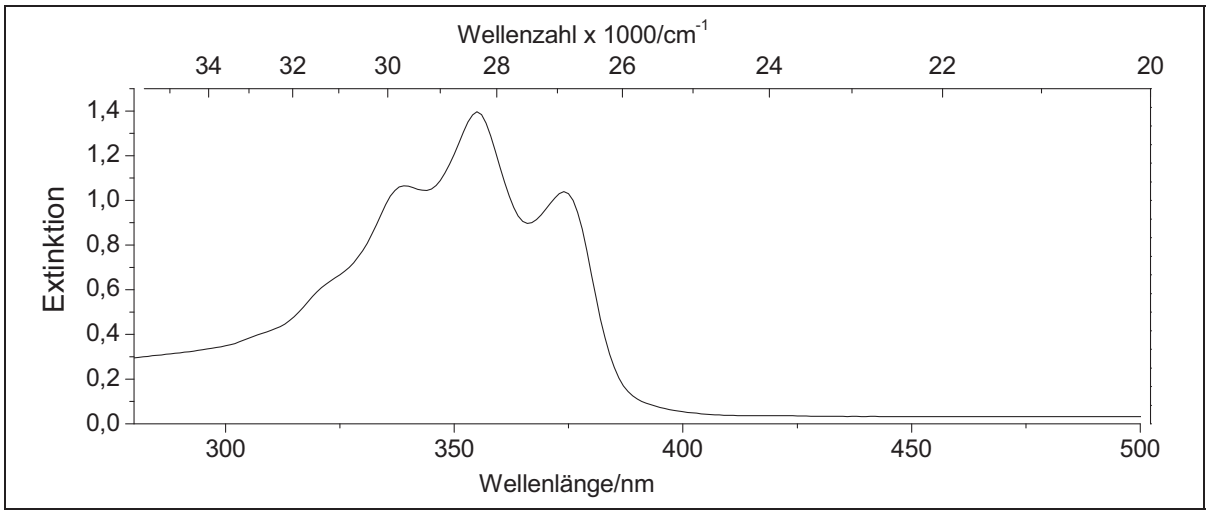


Abbildung 6.106: UV-Vis-Spektrum von **DPH02** in Chloroform (c = 50.7 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):[183]*

λ_{max} (ε_{max}) = 339 (42000 (l/mol)*cm-1), 355 (55100 (l/mol)*cm-1), 374 (41000 (l/mol)*cm-1) nm.

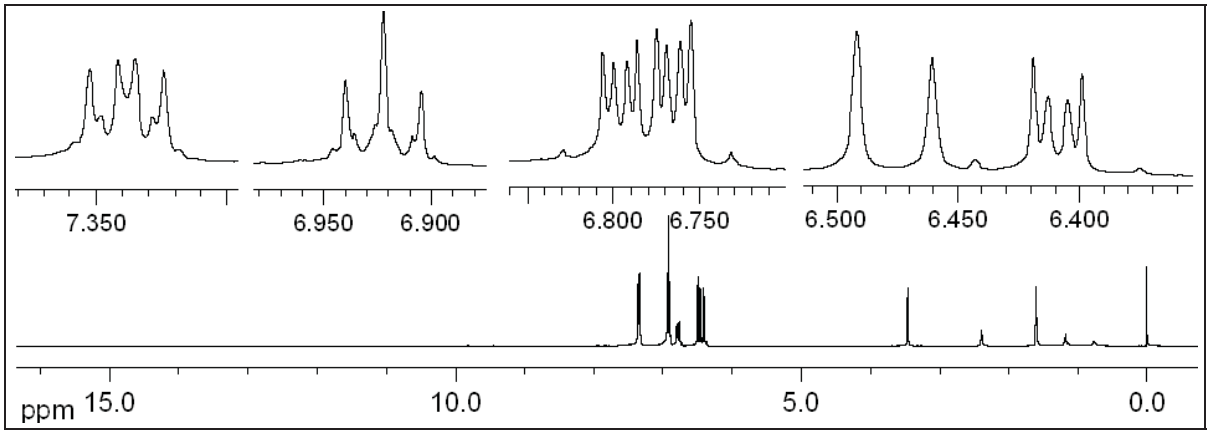


Abbildung 6.107: ^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8), **DPH02**.

^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8):[181]*

δ = 7.34 (m, 4 H, B-Teil eines $[AB]_2X$-Systems, $^3J_{32}+^5J_{32}$ = 8.5 Hz, H-3), 6.92 (m, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2X$-Systems, $^3J_{23}+^5J_{23}$ = 8.7 Hz, H-2), 6.78▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 15.3 Hz, $^3J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^4J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.48▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.41▲ (dd, 2 H, $^3J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^4J_{cb}$ = 3.0 Hz, H-c) ppm.

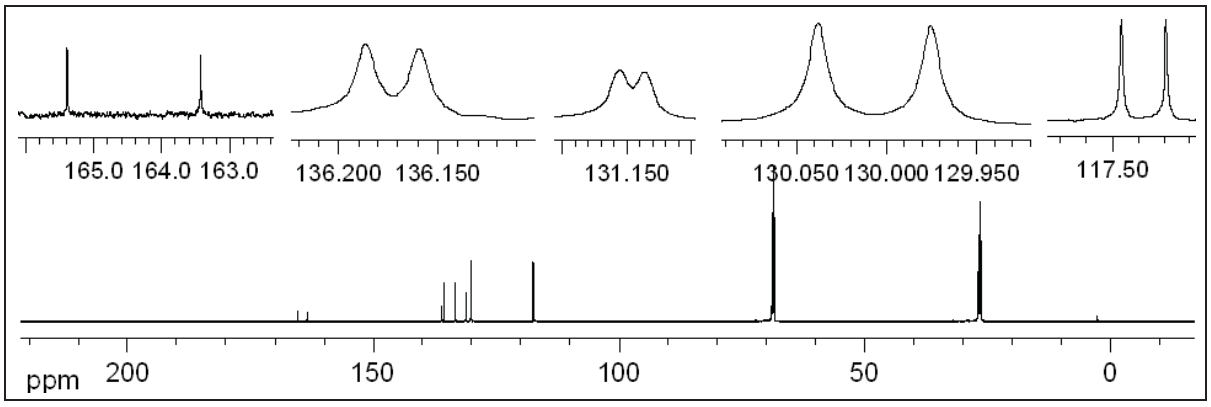


Abbildung 6.108: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8), **DPH02**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8):[181]*

δ = 164.5 (d, $^{2}J_{CF}$ = 246.5 Hz, C-4), 136.2 (d, $^{4}J_{CF}$ = 3.4 Hz, C-1), 135.7 (s, C-c), 133.4 (s, C-a), 131.2 (d, ^{6}JCF = 2.4 Hz, C-b), 130.0 (d, $^{3}J_{CF}$ = 7.9 Hz, C-2), 117.4 (d, $^{2}J_{CF}$ = 22.8 Hz, C-3) ppm.

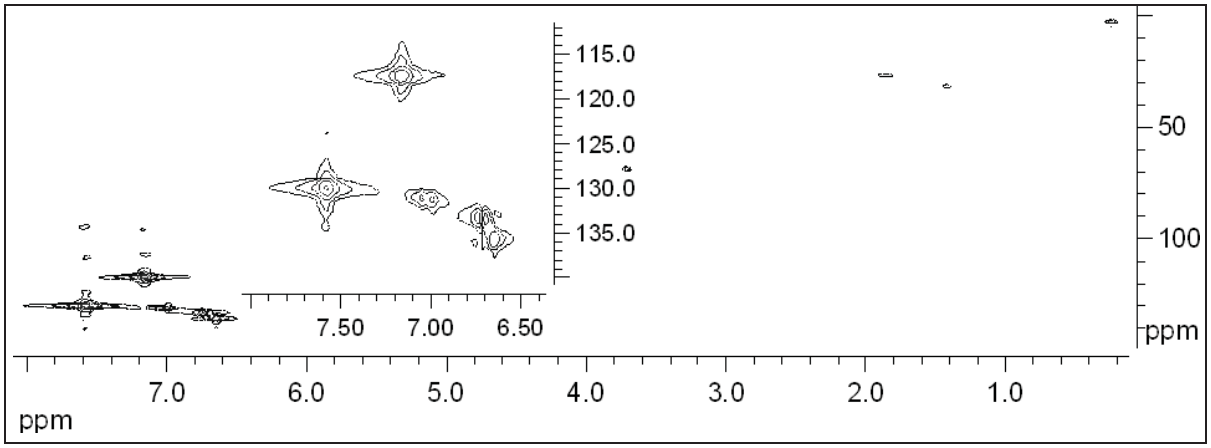


Abbildung 6.109: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPH02**.

MS (70 eV):

m/z = 269 (M^++1, 18 %), 268 (M^+, 59 %), 159 (M^+-CH_2-C_6H_4-F, 7 %), 134 (1/2 M^+, 17 %), 133 (1/2 M^+-1, 22 %), 109 (M^+-CH_2-C_6H_4-F, 100 %).

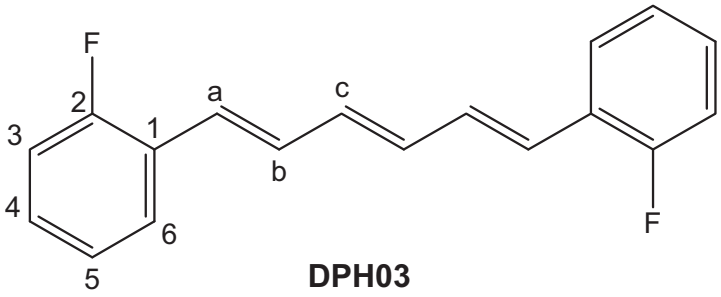
C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 78.58 (80.58)

% H: 5.41 (5.26)

% N: /

Versuch 32: 1,6-Bis(2-fluorphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH03)



DPH03

1.55 g (4.72 mmol Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) werden in 25 ml absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt, langsam mit 60%igem Natriumhydrid versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 1.29 g (10.4 mmol) 2-Fluorbenzaldehyd (**202**) werden zugetropft und es wird weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe weiterer 0.30 g (7.5 mmol) 60%-iges Natriumhydrid wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 30 ml destilliertem Wasser hydrolysiert und je dreimal mit Diethylether und Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **DPH03** wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Ethylacetat/n-Hexan 15/85 gereinigt.

$C_{18}H_{14}F_2$ (M = 268.30 g/mol)

Ausbeute: 24 mg (89 µmol, 2 %) **DPH03**

Schmelzpunkt: 91 °C

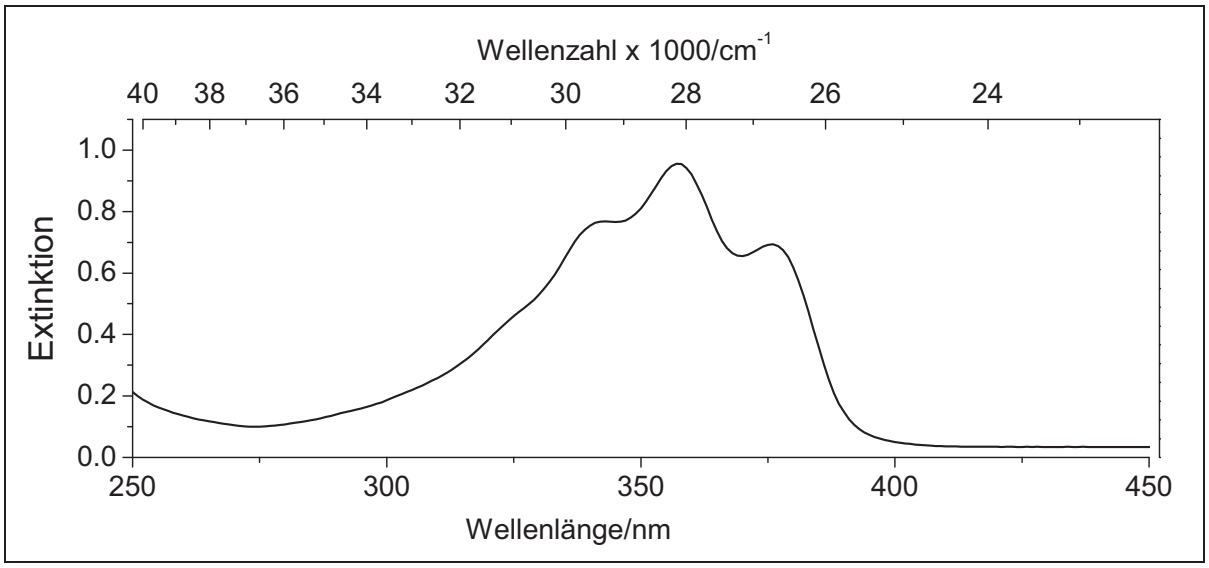


Abbildung 6.110: UV-Vis-Spektrum von **DPH03** in Chloroform (c = 116 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 343 (33200 (l/mol)*cm-1), 357 (41400 (l/mol)*cm-1), 376 (30000 (l/mol)*cm-1) nm.

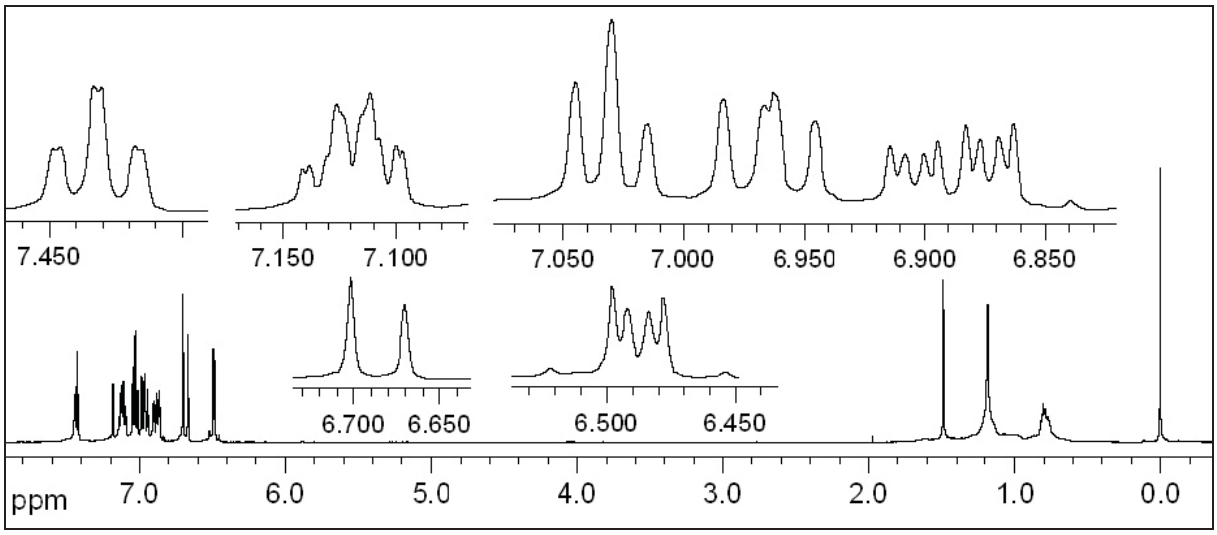


Abbildung 6.111: ^{1}H-NMR (500 MHzCDCl$_3$), **DPH03**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.43 (ddd, $^{3}J_{65}$ = 7.7 Hz, $^{4}J_{6F}$ = 6.1 Hz, $^{4}J_{64}$ = 1.5 Hz, 2 H, H-6), 7.19 (dddd, $^{3}J_{43}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{45}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{4F}$ = 5.3 Hz, $^{4}J_{46}$ = 1.5 Hz, 2 H, H-4), 7.03 (dd, $^{3}J_{54}$ = 7.1 Hz, $^{3}J_{56}$ = 7.7 Hz, 2 H, H-5), 6.97 (dd, $^{3}J_{34}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{3F}$ = 10.6 Hz, 2 H, H-3), 6.89▲ (ddd, $^{3}J_{ba}$ = 15.7 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, 2 H, H-b), 6.70▲ (d, $^{3}J_{ab}$ = 15.7 Hz, 2 H, H-a), 6.49▲ (dd, $^{3}J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.1 Hz, 2 H, H-c) ppm.

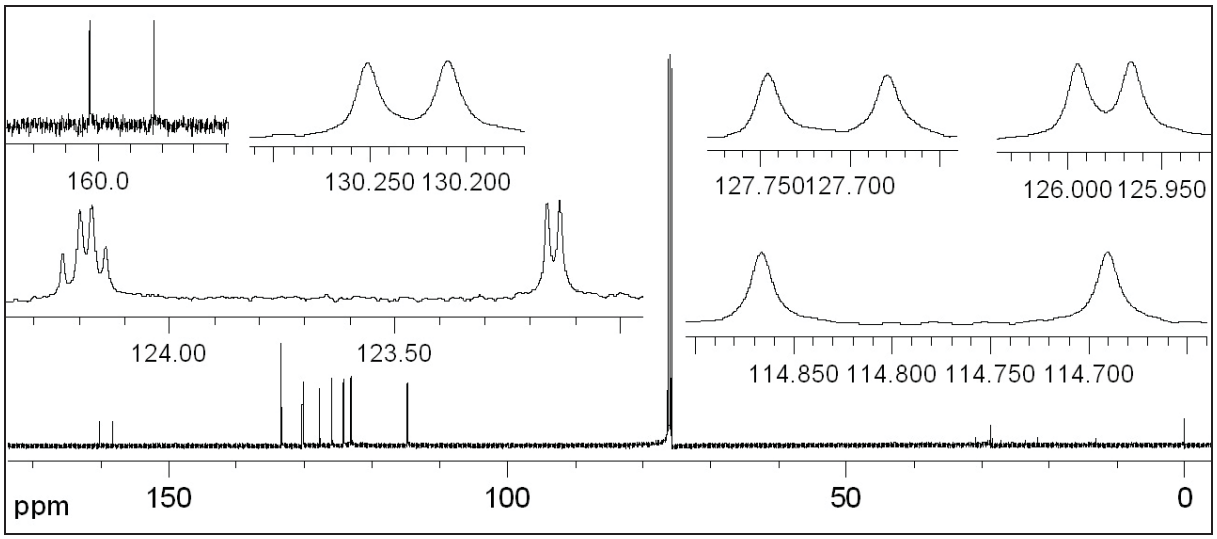


Abbildung 6.112: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH03**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 159.2 (d, $^{1}J_{2F}$ = 250.2 Hz, C-2), 133.4 (s, C-c), 130.2 (d, $^{4}J_{aF}$ = 5.3 Hz, C-a), 127.7 (d, $^{3}J_{4F}$ = 8.4 Hz, C-4), 126.0 (d, $^{3}J_{6F}$ = 3.6 Hz, C-6), 124.2 (d, $^{2}J_{1F}$ = 12.0 Hz, C-1), 124.2 (d, $^{3}J_{bF}$ = 3.3 Hz, 2C, C-b), 123.1 (d, $^{4}J_{5F}$ = 3.6 Hz, 2C, C-5), 114.8 (d, $^{2}J_{3F}$ = 22. Hz, C-3) ppm.

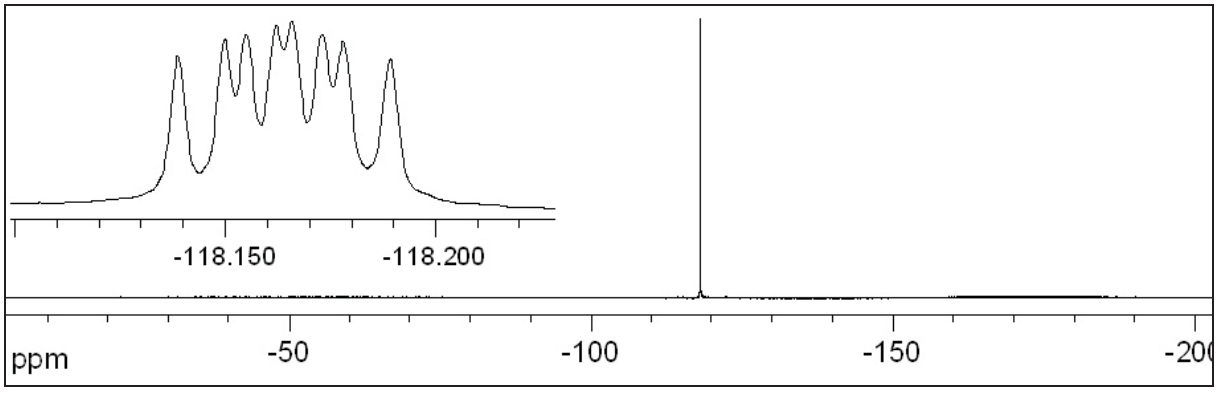


Abbildung 6.113: ^{19}F-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **DPH03**.

^{19}F-NMR (470 MHz, $CDCl_3$):

δ = 118.15 (ddd, $^{3}J_{F3}$ = 10.6 Hz, $^{4}J_{F6}$ = 6.1 Hz, $^{4}J_{F4}$ = 5.3 Hz) ppm.

MS (70 eV, GC/MS [RT = 11.30 min]):

m/z = 268 ($M^{+\bullet}$, 100 %), 269 ($M^{+\bullet}$+1, 21 %), 267 ($M^{+\bullet}$-1, 10 %), 172 (5 %), 159 (48 %), 147 (5 %), 146 (18 %), 134 (10 %), 133 (19 %), 109 (47 %).

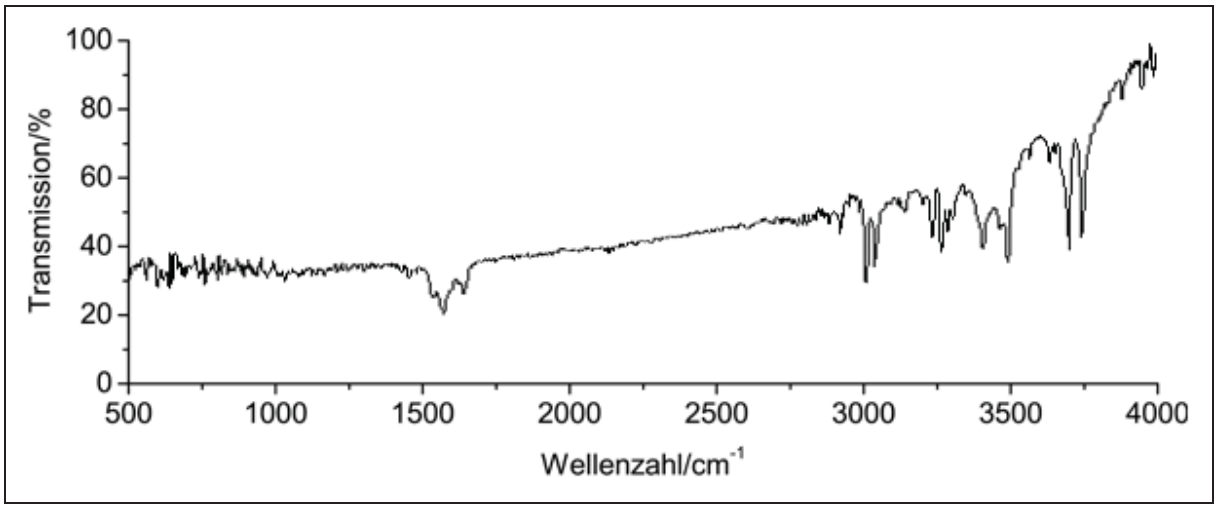
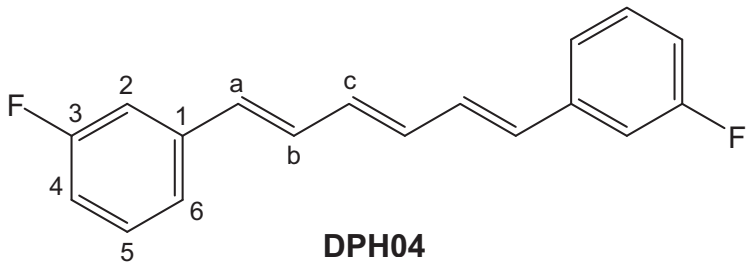


Abbildung 6.114: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH03**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 2918 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1572 (C=C-Valenzschwingung), 1485 und 1454 (aromatische Ringschwingung), 1228 (C-F-Valenzschwingung (Aryl-F)), 1003 (C-H-Deformationsschwingung), 796 (C=C-Valenzschwingung eines 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 33: 1,6-Bis(3-fluorphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH04)



DPH04

1.55 g (4.72 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 25 ml abs. Tetrahydrofuran 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 1.29 g (10.4 mmol) 3-Fluorbenzaldehyd (**203**) werden zugetropft und weitere 30 min bei Raum-temperatur gerührt. Nach Zugabe weiterer 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionsmischung wird mit 30 ml Wasser hy-drolysiert. Ausfallender Niederschlag wird abfiltriert und mit n-Hexan gewaschen. Das Rohprodukt **DPH04** wird aus Ethanol umkristallisiert.

$C_{18}H_{14}F_2$ (M = 268.30 g/mol)

Ausbeute: 28 mg (104 µmol, 2 %) **DPH04**

Schmelzpunkt: 126 °C

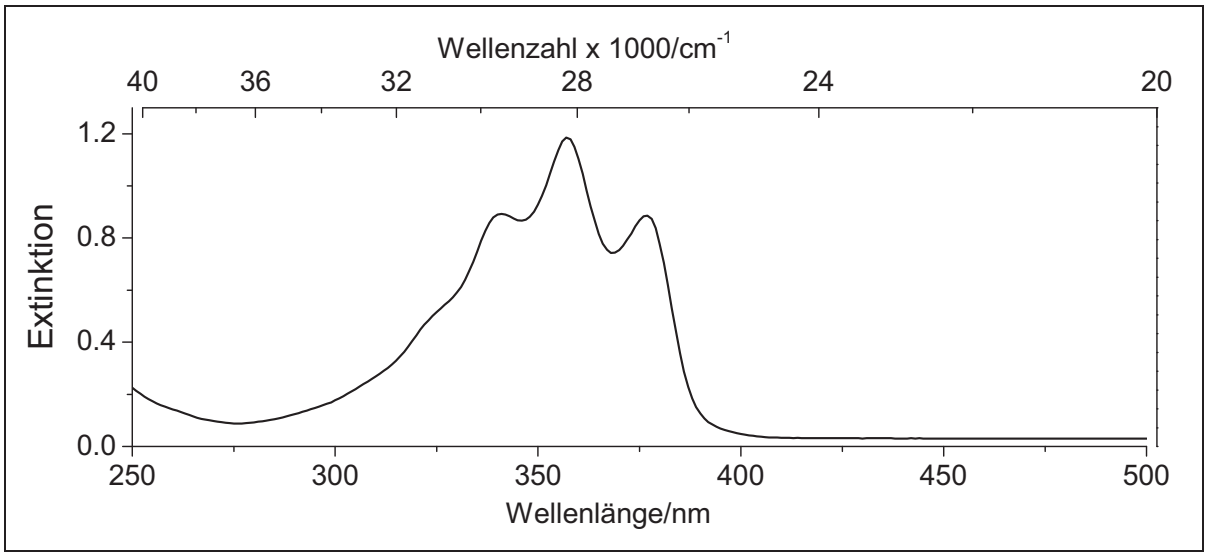


Abbildung 6.115: UV-Vis-Spektrum von **DPH04** in Chloroform (c = 108 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 342 (41600 (l/mol)*cm-1), 357 (59400 (l/mol)*cm-1), 377 (41000 (l/mol)*cm-1), nm.

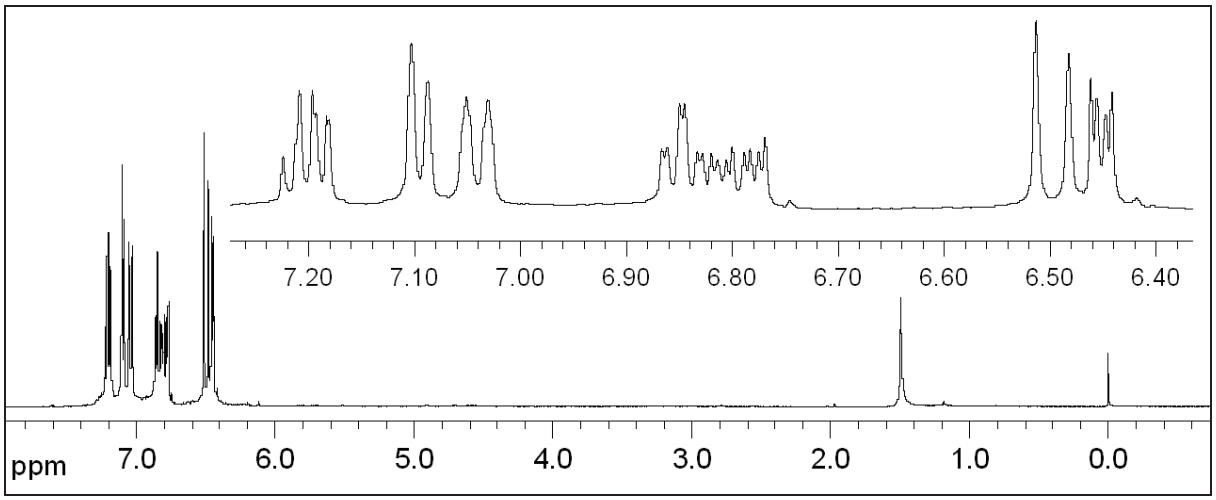


Abbildung 6.116: ^{1}H-NMR (500 MHzCDCl$_3$), **DPH04**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.20 (ddd, $^{3}J_{54}$ = 7.8 Hz, $^{3}J_{56}$ = 7.7 Hz, $^{4}J_{5F}$ = 6.0 Hz, 2H, H-5), 7.10 (dd, $^{3}J_{65}$ = 7.7 Hz, $^{4}J_{62}$ = 2.1 Hz, 2 H, H-6), 7.04 (ddd, $^{3}J_{2F}$ = 10.2 Hz, $^{4}J_{26}$ = 2.1 Hz, $^{4}J_{24}$ = 1.0 Hz, 2 H, H-2), 6.85 (ddd, $^{3}J_{45}$ = 7.8 Hz, $^{3}J_{4F}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{46}$ = 2.4 Hz, 2 H, H-4), 6.79▲ (ddd, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.0 Hz, 2 H, H-b), 6.50▲ (d, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, 2 H, H-a), 6.45▲ (dd, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, 2 H, H-c) ppm.

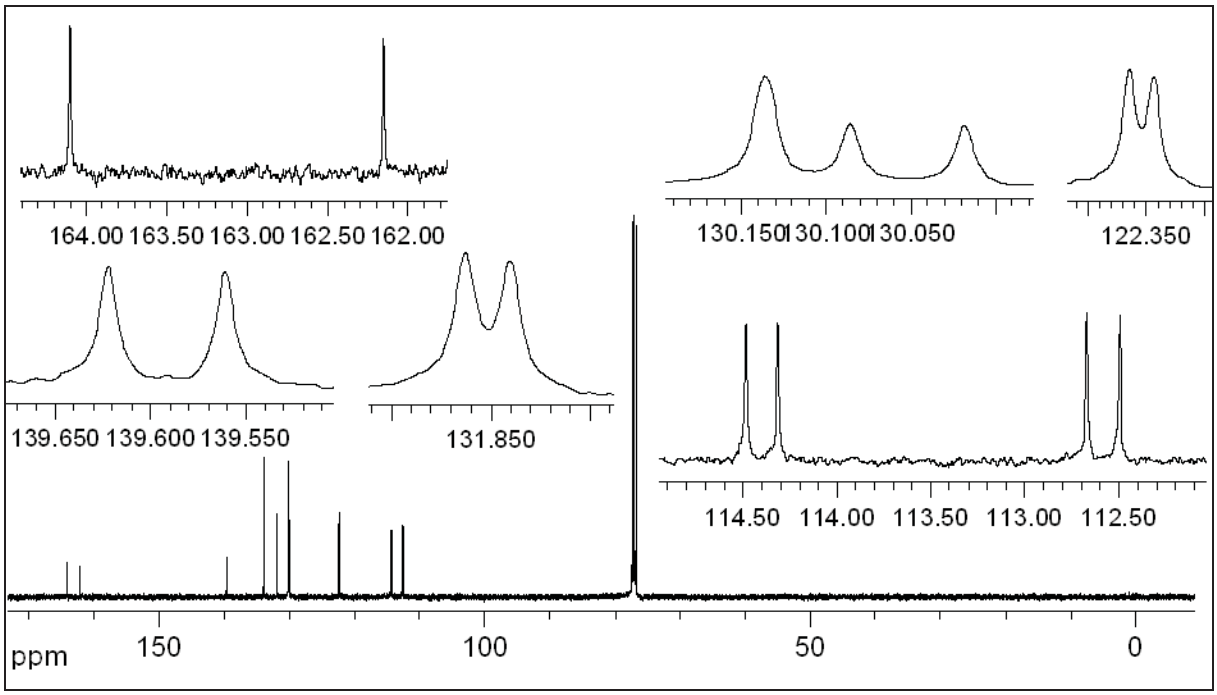


Abbildung 6.117: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH04**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 163.1 (d, $^{1}J_{3F}$ = 245.3 Hz, C-3), 139.6 (d, $^{3}J_{1F}$ = 7.7 Hz, C-1), 133.9 (s, C-c), 131.9 (d, $^{4}J_{aF}$ = 2.8 Hz, C-a), 130.1 (s, C-b), 130.1 (d, $^{3}J_{5F}$ = 8.5 Hz, C-5), 122.4 (d, $^{4}J_{6F}$ = 2.7 Hz, C-6), 114.4 (d, $^{2}J_{4F}$ = 21.5 Hz, C-4), 112.6 (d, $^{2}J_{2F}$ = 21.8 Hz, C-2) ppm.

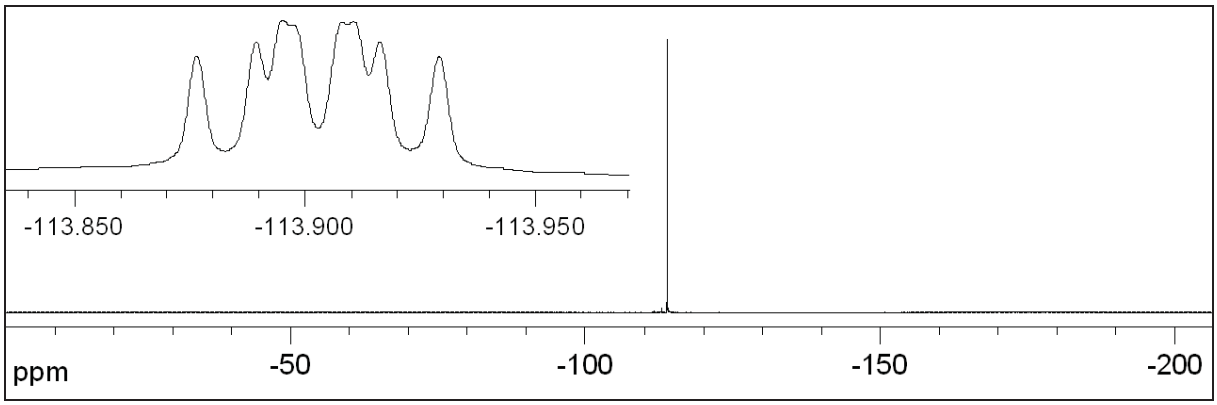


Abbildung 6.118: ^{19}F-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **DPH04**.

^{19}F-NMR (470 MHz, $CDCl_3$):

δ = 113.9 (ddd, $^3J_{F2}$ = 10.2 Hz, $^4J_{F4}$ = 8.1 Hz, $^4J_{F5}$ = 6.0 Hz) ppm.

MS (70 eV, GC/MS [RT = 11.28 min]):

m/z = 268 ($M^{+\bullet}$, 100 %), 269 ($M^{+\bullet}$+1, 21 %), 267 ($M^{+\bullet}$-1, 10 %), 172 (5 %), 159 (55 %), 147 (5 %), 146 (30 %), 134 (10 %), 133 (28 %), 109 (36 %).

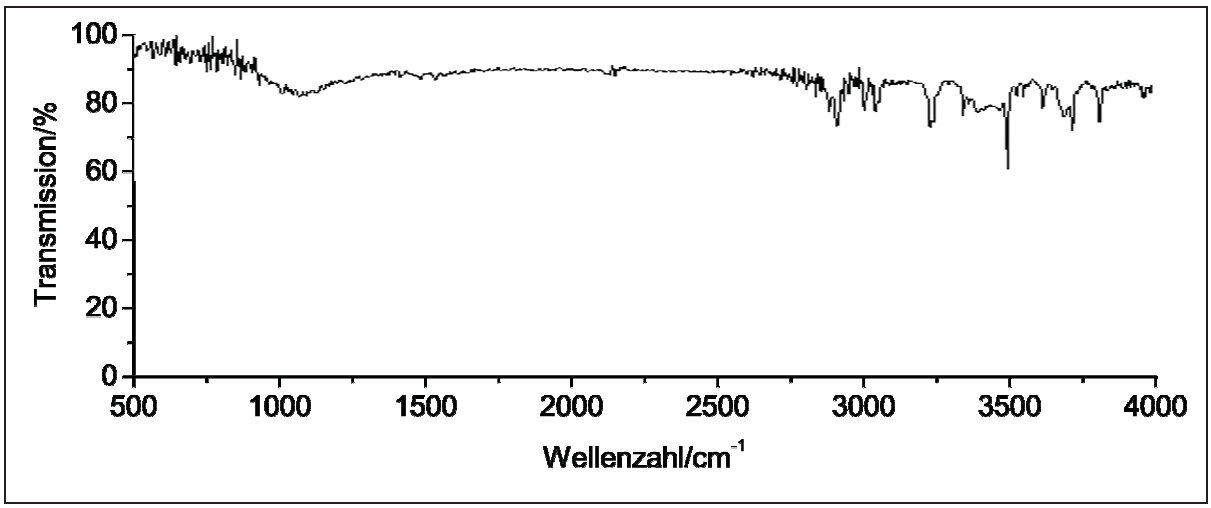
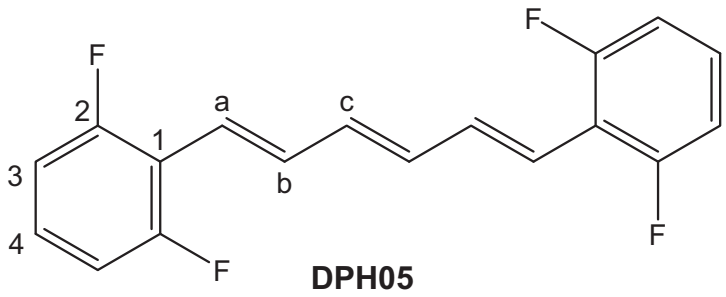


Abbildung 6.119: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH04**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 2960 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1579 (C=C-Valenzschwingung), 1483 und 1446 (aromatische Ringschwingung), 1251 (C-F-Valenzschwingung (Aryl-F)), 997 (C-H-Deformationsschwingung), 771 (C=C-Valenzschwingung (1,3-disubstituierter Aromat)) cm^{-1}.

Versuch 34: 1,6-Bis(2,6-difluorphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH05)



DPH05

1.64 g (5.00 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.36 g (9.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 1/2 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.73 g (12.2 mmol) 2,6-Difluorbenzaldehyd (**204**) in 50 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.32 g (8.0 mmol) 60%igem Natriumhydrid und 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 100 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungmittel wird unter vermindertem Druck eingeengt. Der Rückstand wird mit Ethanol versetzt. Ausfallendes Produkt **DPH05** wird abfiltriert.

$C_{18}H_{12}F_4$ (M = 304.28 g/mol)

Ausbeute: 148 mg (486 µmol, 10 %) **DPH05**

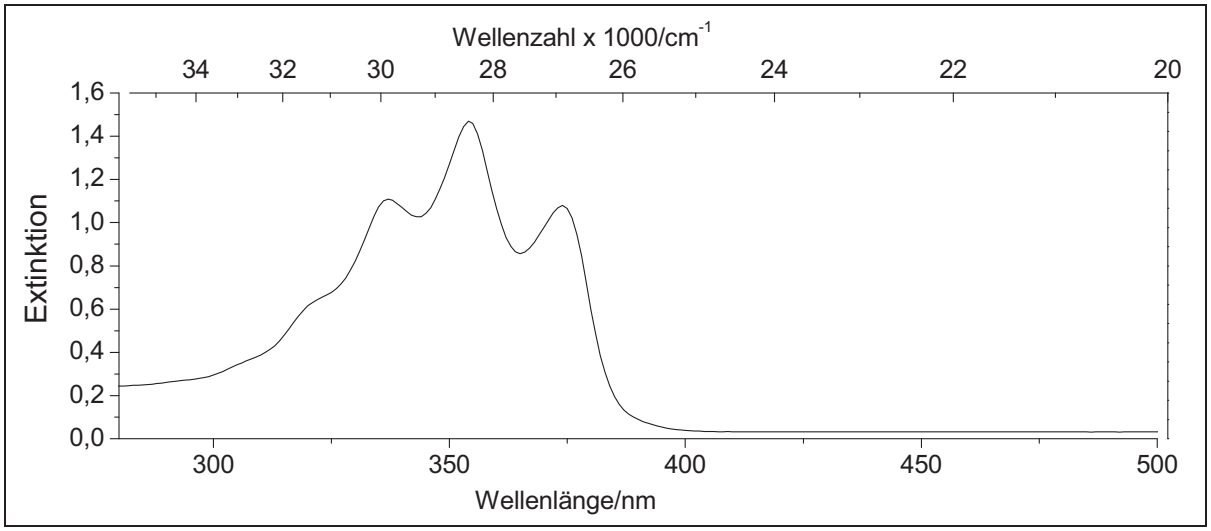


Abbildung 6.120: UV-Vis-Spektrum von **DPH05** in Chloroform (c = 34.2 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 337 (32400 (l/mol)*cm-1), 354 (43000 (l/mol)*cm-1), 374 (31600 (l/mol)*cm-1) nm.

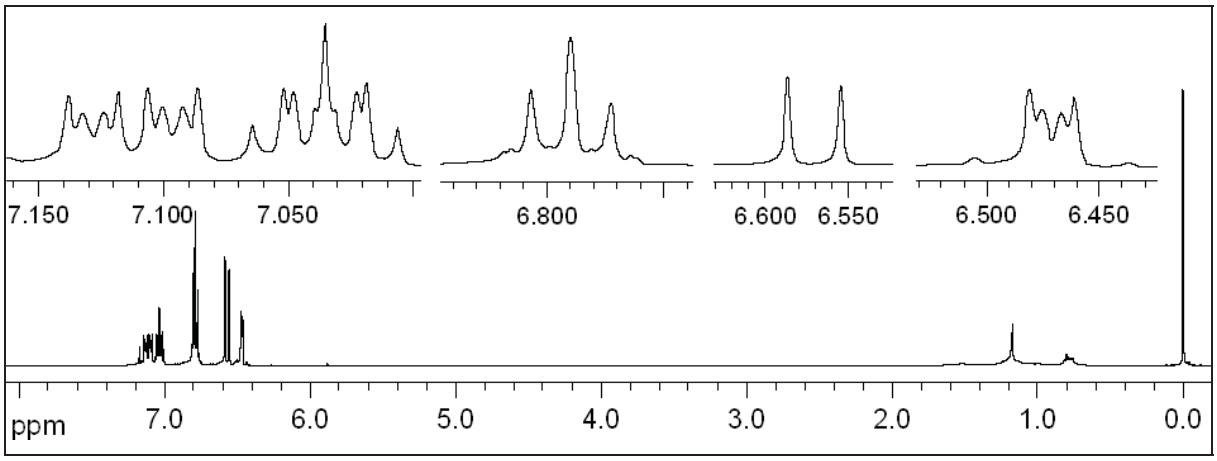


Abbildung 6.121: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH05**.

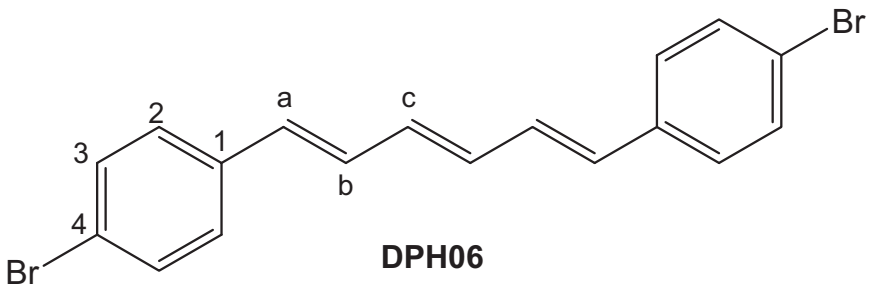
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.11▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.9 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.9 Hz, H-b), 7.04 (tt, 2 H, $^{3}J_{43}$ = 8.3 Hz, $^{4}J_{4F}$ = 6.3 Hz H-4), 6.79 (dd, 4 H, $^{3}J_{34}$ = 8.5 Hz, $^{3}J_{34}$ = 8.5 Hz, H-3), 6.57▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.9 Hz, H-a), 6.47▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c) ppm.

MS (70 eV):

m/z = 305 (M^{+}+1, 18 %), 304 (M^{+}, 100 %), 177 (M^{+}-CH_2-C_6H_4-F_2, 50 %), 127 (-CH_2-C_6H_4-$(CF_3)_2$, 95 %).

Versuch 35: 1,6-Bis-(4-bromphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH06)



DPH06

7.53 g (10.2 mmol) But-2-en-1,4-diylbis[(triphenylphosphonium)-bromid] (**106**) und 0.44 g (11.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 100 ml abs. Tetrahydrofuran 90 min bei Raumtemperatur gerührt. 2.22 g (12.0 mmol) 4-Brombenzaldehyd (**205**) in wenig abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 90 min wird eine zweite Portion 60%iges Natriumhydrid (0.44 g/12.0 mmol) zugegeben. Nach weiteren 90 min werden 2.23 g (11.8 mmol) 4-Brombenzaldehyd (**205**) in etwas abs. Tetrahydrofuran zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 4 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 100 ml Wasser hydrolysiert und zur Phasentrennung mit 50 ml Diethylether versetzt. Die wässrige Phase wird 2 Mal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum einer Membranpumpe entfernt. Der ölige Rückstand wird in wenig Ethanol aufgenommen und mit Heptan versetzt. Ein goldfarbener Feststoff fällt aus und wird abfiltriert. Das Rohprodukt **DPH06** wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Chloroform aufgereinigt.

$C_{18}H_{14}Br_2$ (M = 390.11 g/mol)

Ausbeute: 2.01 g (5.15 mmol, 51 %) **DPH06**

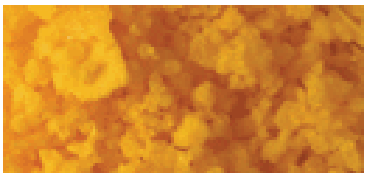


Abbildung 6.122: DPH06 als gelber Feststoff.

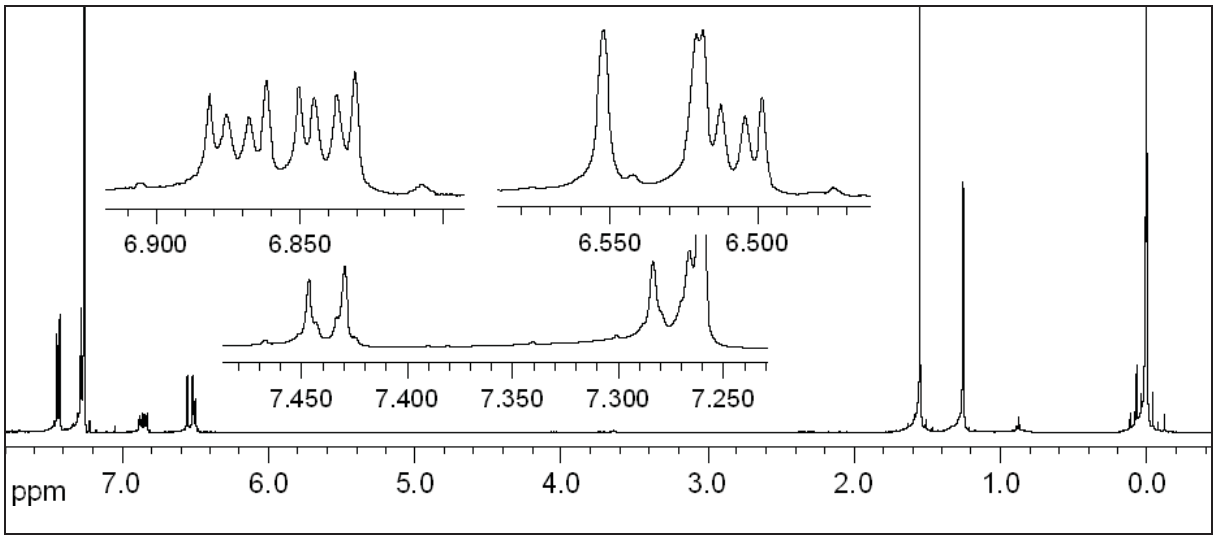
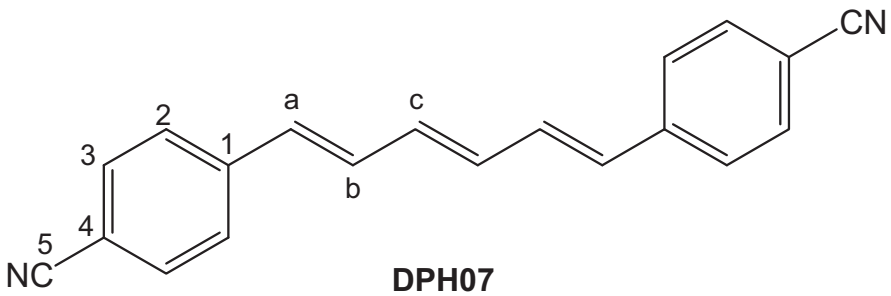


Abbildung 6.123: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH06**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.44 (m, 4 H, $^{3+5}J_{32}$ = 8.5 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 7.28 (m, 4 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.6 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 6.86▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.54▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.7 Hz, H-a), 6.51▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, H-c) ppm.[99]

Versuch 36: 1,6-Bis-(4-cyanophenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH07)



DPH07

1.50 g (4.57 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.31 g (7.8 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.38 g (10.5 mmol) 4-Cyanobenzaldehyd (**206**) in 40 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 1 h werden 0.34 g (8.5 mmol) 60%igem Natriumhydrid und 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 17 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit destilliertem Wasser hydrolysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mit Hexan versetzt und 1 h zum Rückfluss erhitzt. Die abgekühlte Lösung wird mit Ethanol versetzt, wobei das Produkt **DPH07** ausfällt.

$C_{20}H_{14}N_2$ (M = 282.34 g/mol)

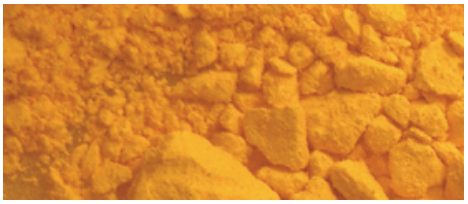


Abbildung 6.124: DPH07 als gelber Feststoff.

Ausbeute: 366 mg (1.30 mmol, 28 %) **DPH07**

Schmelzpunkt: 235 °C **Lit**: 224 °C [177]

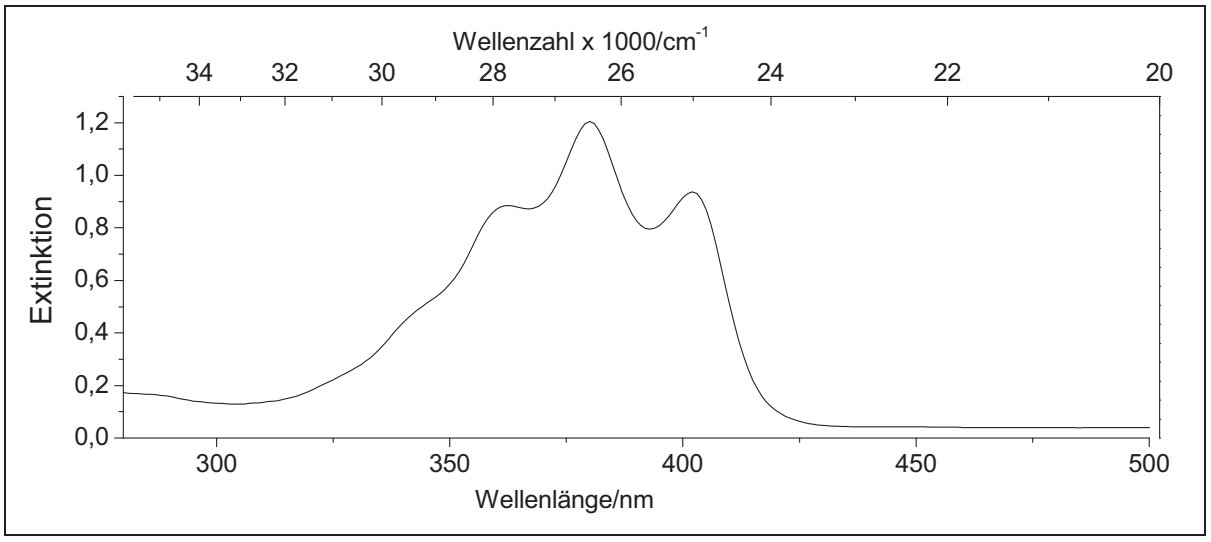


Abbildung 6.125: UV-Vis-Spektrum von **DPH07** in Chloroform (c = 31.2 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):[177, 184]*

λ_{max} (ε_{max}) = 362 (56700 (l/mol)*cm-1), 380 (77200 (l/mol)*cm-1), 402 (60100 (l/mol)*cm-1) nm.

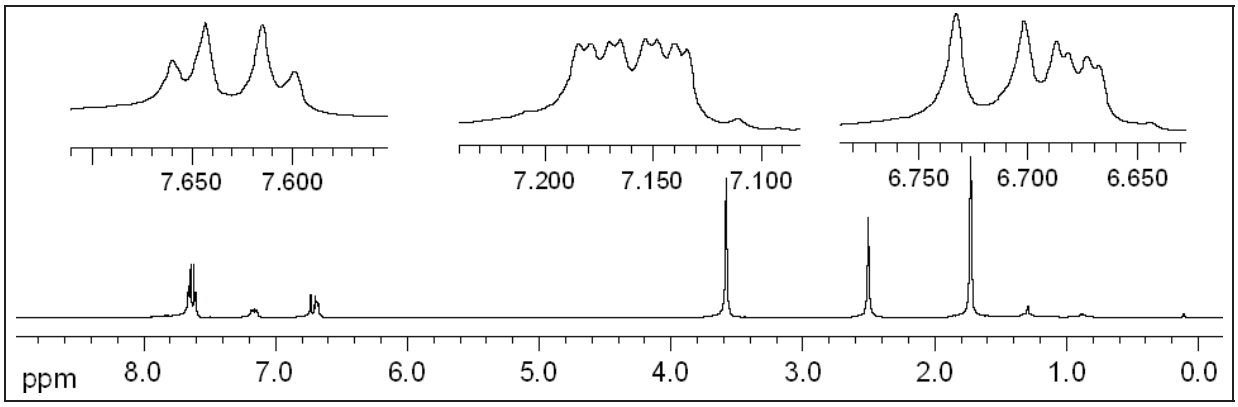


Abbildung 6.126: ^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8), **DPH07**.

^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8):[184]*

δ = 7.65 (m, 4 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 8.3 Hz, H-3), 7.61 (m, 4 H, A-Teil von eines [AB]$_2$-Systems, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 8.2 Hz, H-2), 7.28▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.4 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.9 Hz, H-b), 6.84▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.80▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.8 Hz, H-c) ppm.

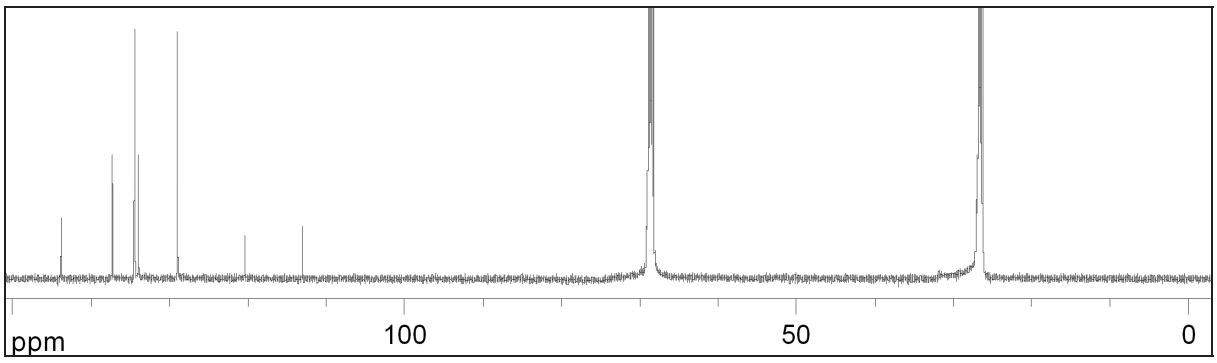


Abbildung 6.127: ^{13}C-{1H}-NMR (125 MHz, THF-d_8), **DPH07**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8):

δ = 143.9 (C-1), 137.3 (C-c), 134.5 (C-b), 134.4 (C-3), 133.9 (C-a), 129.0 (C-2), 120.4 (C-5), 113.0 (C-4) ppm.

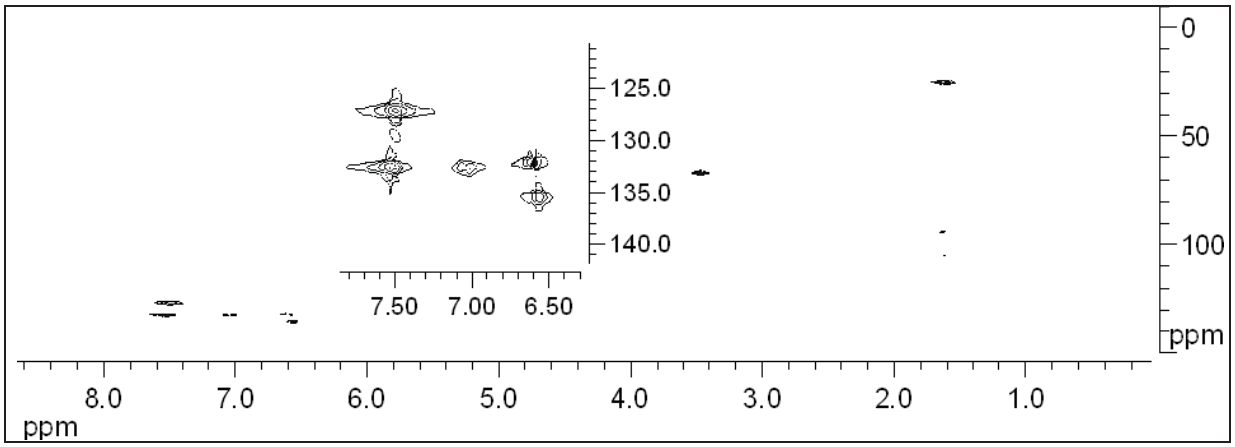


Abbildung 6.128: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPH07**.

MS (70 eV):

m/z = 283 (M^++1, 31 %), 282 (M^+, 100 %), 167 (M^+-CH_2-C_6H_4-CN, 7 %), 166 (M^+-CH_2-C_6H_4-CN-1, 13 %), 141 (1/2 M^+, 20 %), 140 (1/2 M^+-1, 39 %), 116 (M^+-CH_2-C_6H_4-F, 61 %).

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 82.72 (85.08)

% H: 4.87 (5.00)

% N: 9.69 (9.92)

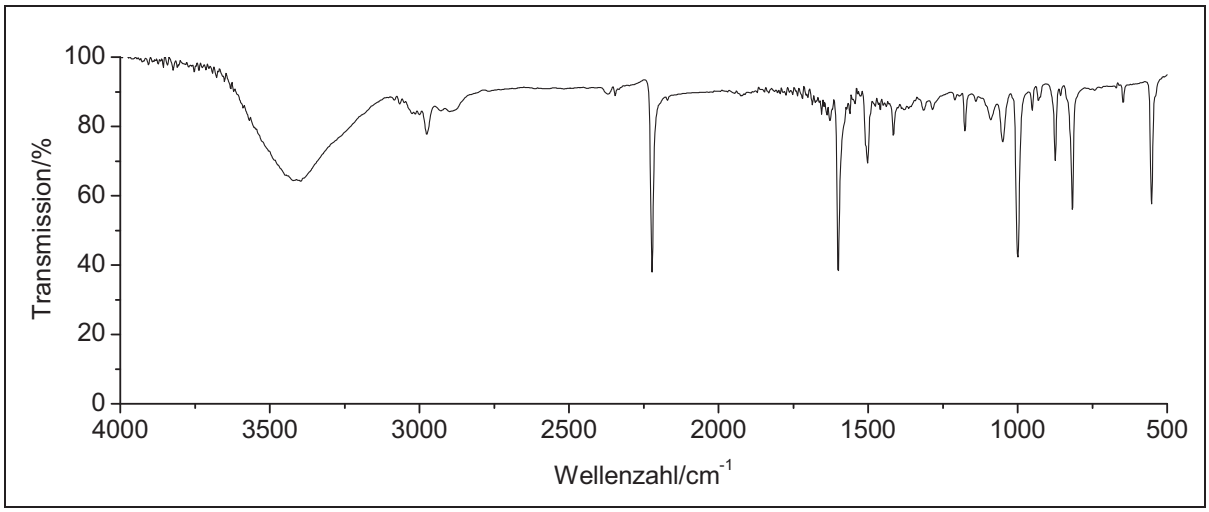
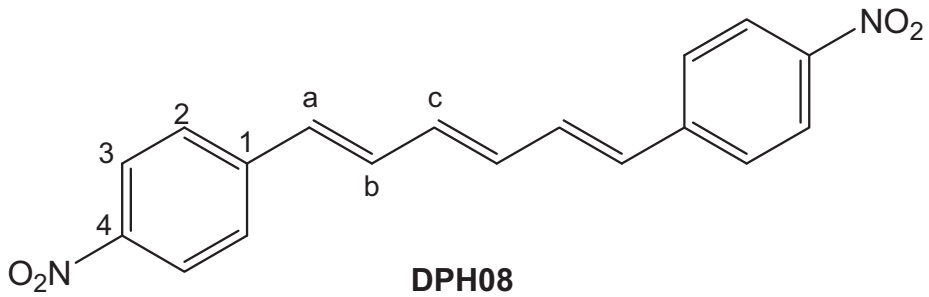


Abbildung 6.129: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH07**.

IR (KBr):[185]*

$\tilde{\nu}$ = 2975 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2222 (C≡N-Valenzschwingung), 1601 und 1501 (C=C-Valenzschwingung), 1000 (C=C-Deformationsschwingung), 817 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 37: 1,6-Bis-(4-nitrophenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH08)



DPH08

Eine Lösung aus 564 mg (14.1 mmol) 60%iges Natriumhydrid und 3.28 g (10.0 mmol) (E)-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylbisphosphonat) (**105**) wird in 200 ml abs. Tetrahydrofuran 45 min bei Raumtemperatur gerührt. 1.81 g (12.0 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd (**207**) in 25 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 30 min werden 535 mg (13.3 mmol) 60%iges Natriumhydrid zugegeben. Eine Lösung aus 1.81 g (12.0 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd (**207**) in 25 ml abs. Tetrahydrofuran wird nach weiteren 30 min zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 150 ml eines 0.2 M Natriumhydrogenphosphat/Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer hydrolysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Der dunkele Rückstand wird in wenig Ethanol aufgenommen. Die Lösung wird mit n-Heptan versetzt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert. Die geringe Menge des Rohprodukt **DPH08** reicht zur NMR-spektroskopischen Analyse. Als Nebenprodukte wurden aromatische Amine identifiziert.

Für weitere Reinigung ist die Rohausbeute zu gering.

$C_{18}H_{14}N_2O_4$ (M = 322.32 g/mol)

Ausbeute: 12 mg (37 µmol, 0.4 %) **DPH08**

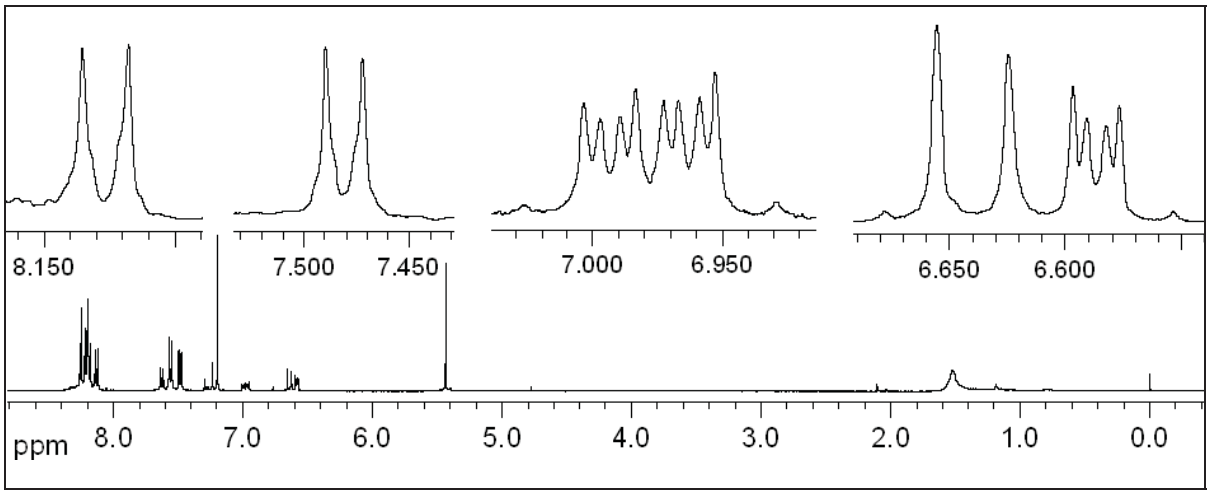
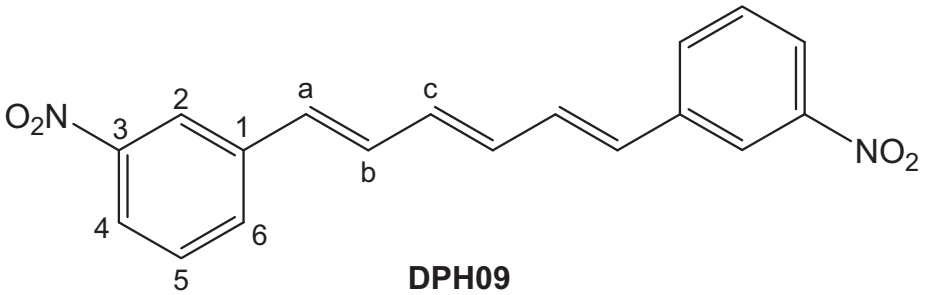


Abbildung 6.130: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH08**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [99]*

δ = 8.13 (m, 4 H, $^{3+5}J_{32}$ = 8.8 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 7.48 (m, 4 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.8 Hz, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 6.98▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^3J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^4J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.64▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.59▲ (dd, 2 H, $^3J_{cb}$ = 7.2 Hz, $^4J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c) ppm.

Versuch 38: 1,6-Bis-(3-nitrophenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH09)



DPH09

1.45 g (4.42 mmol) (*E*)-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylbisphosphonat) (**105**) werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran vorgelegt. 0.25 g (6.2 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden zugegeben und die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung von 2.00 g (13.2 mmol) 3-Nitrobenzaldehyd (**208**) in 10 ml absolutem

Tetrahydrofuran wird zugetropft. Nach weiteren 30 min gibt man erneut 0.25 g (6.2 mmol) 60%iges Natriumhydrid zu und lässt dasReaktionsgemisch 16 h rühren. Die Reaktionslösung wird mit 100 ml eines 0.2 M Natriumhydrogenphosphat/Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer hydroysiert. Es fällt ein gelber Feststoff aus, der abfiltriert wird.

$C_{18}H_{14}N_2O_4$ (M = 322.32 g/mol)

Ausbeute: 570 mg (1.77 mmol, 40 %) **DPH09**

Zersetzungspunkt: 226 °C **Lit**: 234 °C [186]

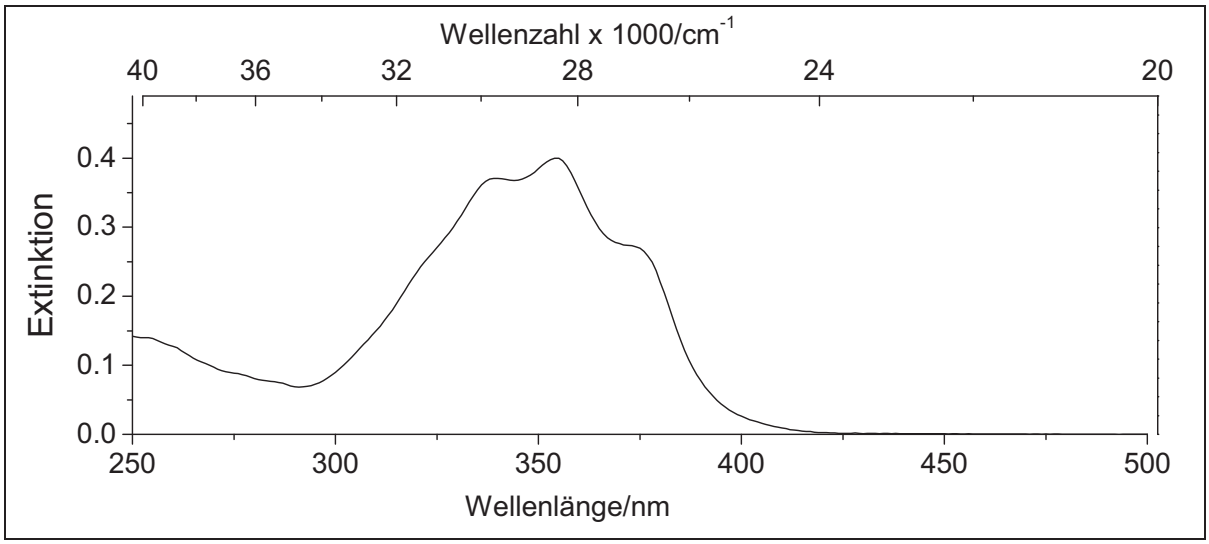


Abbildung 6.131: UV-Vis-Spektrum von **DPH09** in Cyclohexan (c = 109 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 340 (3410 (l/mol)*cm^{-1}), 354 (3680 (l/mol)*cm^{-1}), 373 (2510 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

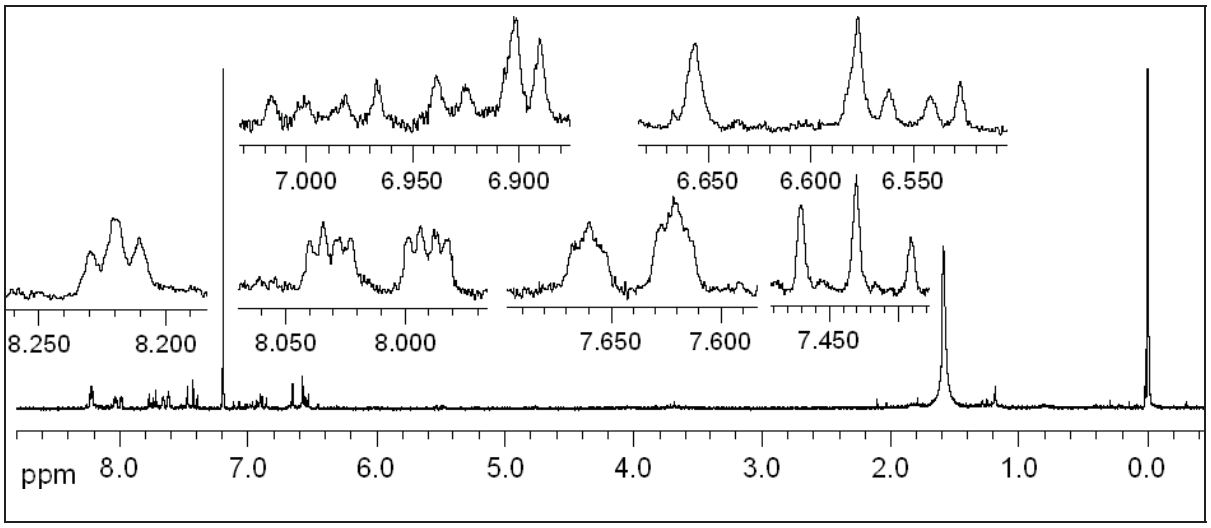


Abbildung 6.132: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **DPH09**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[186]*

δ = 8.22 (dd, 2 H, $^{4}J_{24}$ = 1.3 Hz, $^{4}J_{26}$ = 2.1 Hz, H-2), 8.01 (ddd, 2 H, $^{4}J_{42}$ = 1.1 Hz, $^{4}J_{46}$ 2.1 Hz, $^{3}J_{45}$ = 8.0 Hz H-4), 7.64 (d, 2 H, $^{3}J_{65}$ = 7.7 Hz, H-6), 7.43 (dd, 2 H, $^{3}J_{54}$ = 7.9 Hz, $^{3}J_{56}$ = 8.1 Hz, H-5), 6.95▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.4 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.7 Hz, H-b), 6.62▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.9 Hz, H-a), 6.55▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, H-c) ppm.

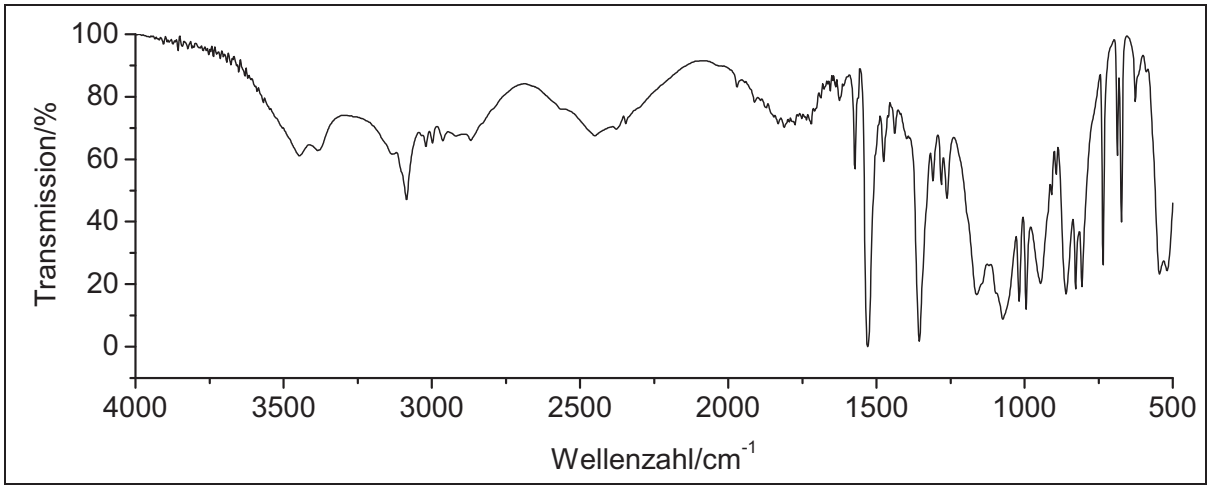


Abbildung 6.133: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH09**.

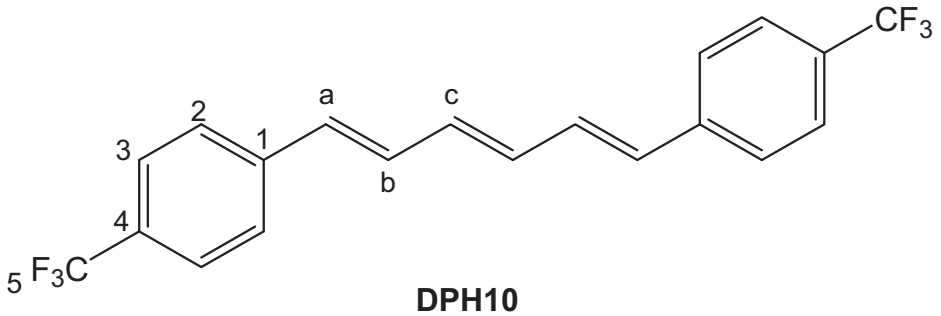
IR (KBr):[186]*

ṽ = 3085 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1573 und 1475 (aromatische Ringschwingung), 860, 828 und 806 (C=C-Valenzschwingung eines 1,3-substituierten Aromaten), 1530 und 1355 (N=O-Valenzschwingung) cm^{-1}.

MS (70 eV):

m/z = 323 (M^++1, 20 %), 322 (M^+, 100 %), 276 (M-NO_2, 7 %), 186 (43 %).

Versuch 39: 1,6-Bis-[4-(trifluormethyl)phenyl]hexa-1,3,5-trien (DPH10)



DPH10

Zu einer Suspension von 0.21 g (8.8 mmol) 60%igem Natriumhydrid in 75 ml abs. Tetrahydrofuran werden unter Rühren bei Raumtemperatur 2.8 g (8.5 mmol) (*E*)-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylbisphosphonat) (**105**) in 15 ml abs. Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 1 h tropft man 4.3 g (24 mmol) 4-(Trifluormethyl)benzaldehyd (**209**) in 15 ml abs. Tetrahydrofuran zu und rührt 1 h. Man gibt 0.21 g (8.8 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zu und lässt das Reaktionsgemisch 16 h rühren.

Es wird mit 50 ml Wasser hydrolysiert und 30 ml Diethylether werden zur Phasentrennung hinzu gegeben. Die wässrige Phase wird dreimal mit 75 ml Tetrahydrofuran/Diethylether im Verhältnis 3/1 und anschließend mit Dichlormethan bis zur Farblosigkeit extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 25 ml Wasser und wenig gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird in Ethanol ausgekocht. Nach dem Trocknen erhält man das Produkt **DPH10** als hellgelbe Kristalle.

$C_{20}H_{14}F_6$ (M = 368.32 g/mol)

Ausbeute: 0.63 g (1.7 mmol, 21 %) **DPH10**

Schmelzpunkt: 186 °C

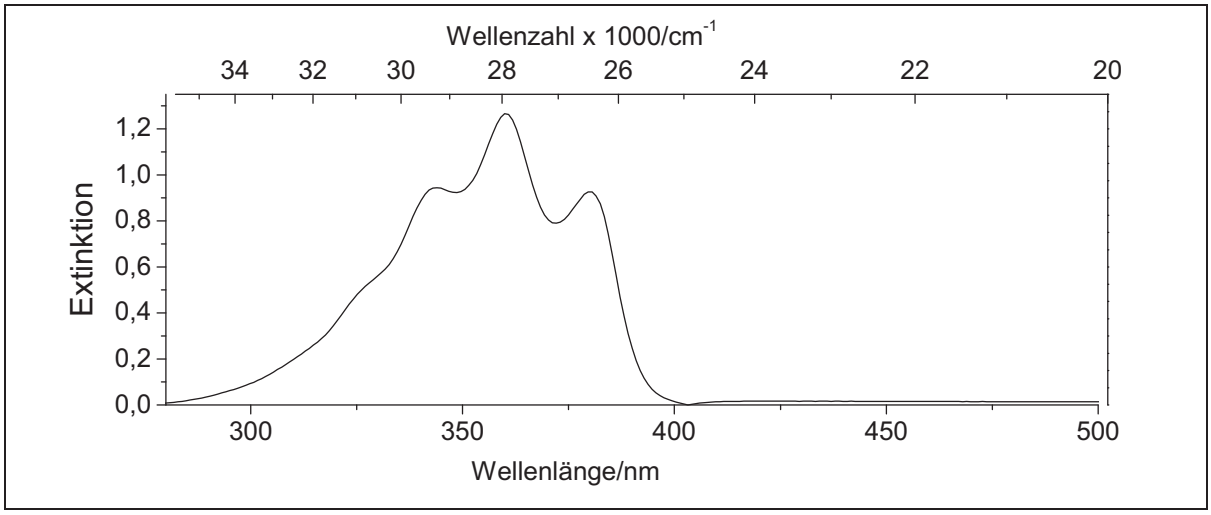


Abbildung 6.134: UV-Vis-Spektrum von **DPH10** in Chloroform (c = 34.8 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 344 (54400 (l/mol)*cm^{-1}), 360 (72800 (l/mol)*cm^{-1}), 380 (53300 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

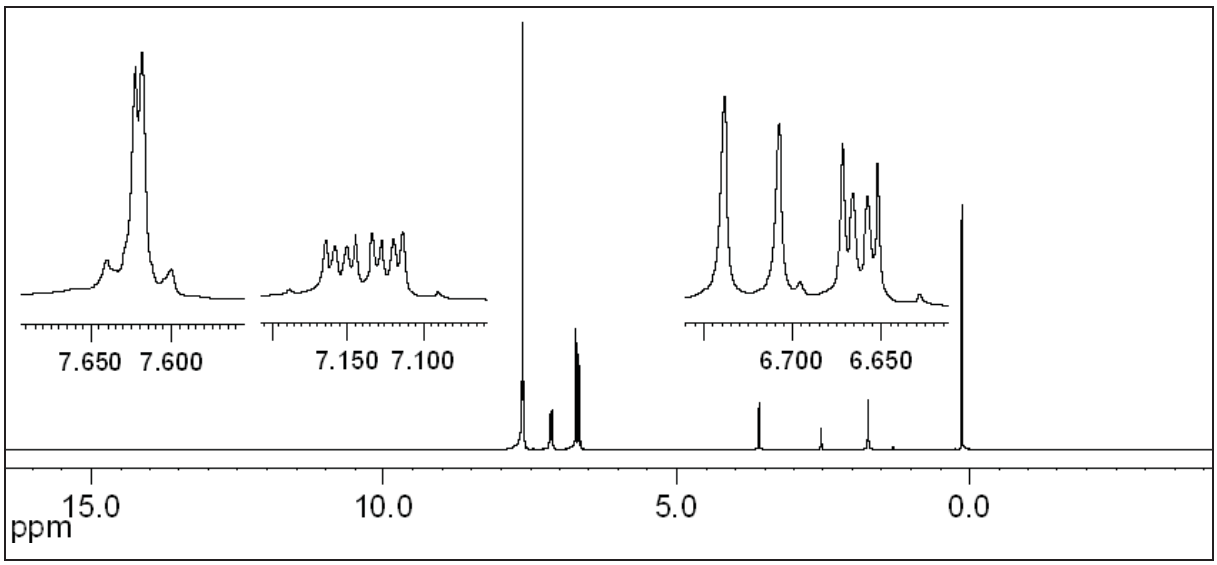


Abbildung 6.135: ^{1}H-NMR (500 MHz, THF,d_8), **DPH10**.

^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8):[187]*

δ = 7.59-7.64 (m, 8 H, A- und B-Teil eines $[AB]_2X_3$-Systems, H-2 und H-3), 7.13▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 15.6 Hz, $^3J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^4J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.72▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.66▲ (dd, 2 H, $^3J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^4J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c) ppm.

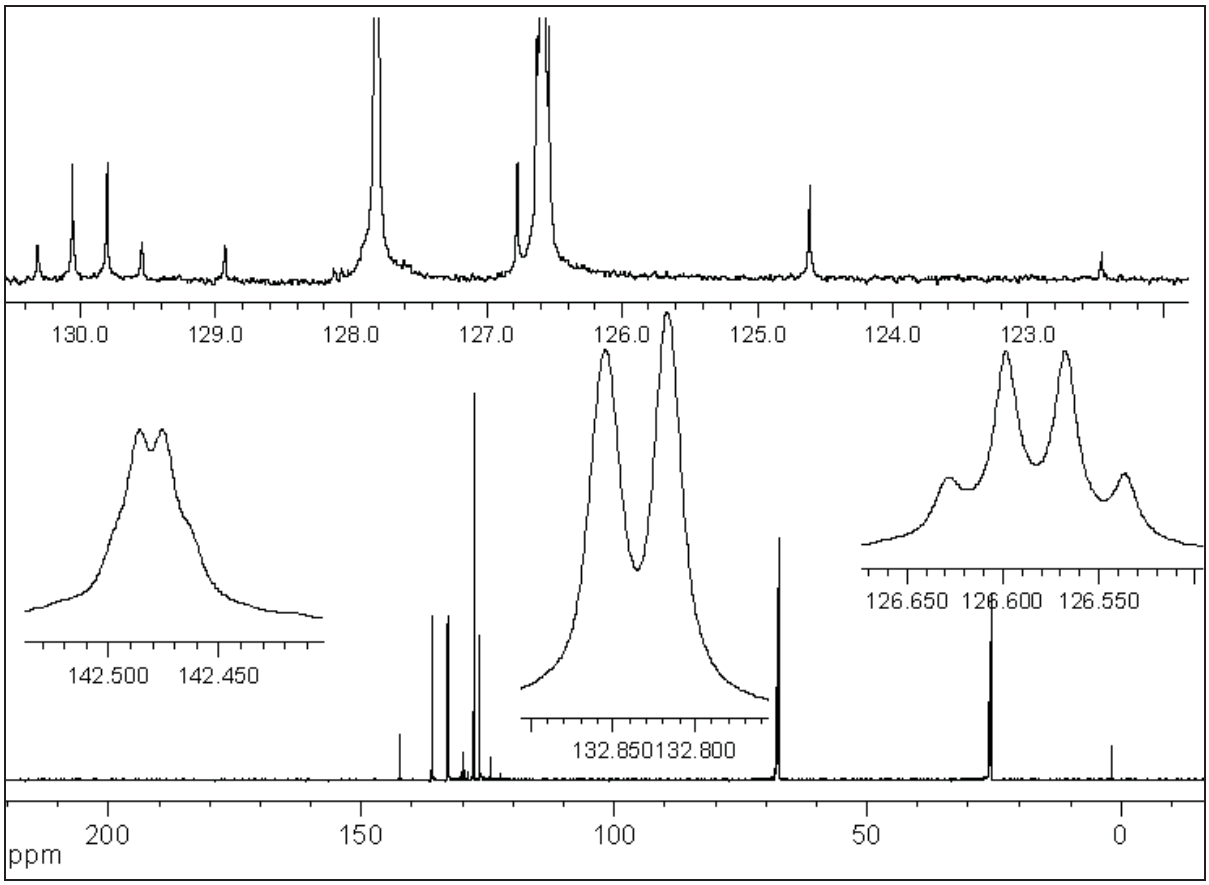


Abbildung 6.136: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8), **DPH10**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8):

δ = 142.5 (q, $^{6}J_{CF}$ = 1.3 Hz, C-1), 136.0 (s, C-c), 132.9 (s, C-a), 132.8 (s, C -b), 129.9 (q, $^{3}J_{CF}$ = 32.2 Hz, C-4), 127.8 (s, C-2), 126.6 (q, $^{3}J_{CF}$ = 3.9 Hz, C-3), 125.7 (q, $^{2}J_{CF}$ = 271.4 Hz, C-5) ppm.

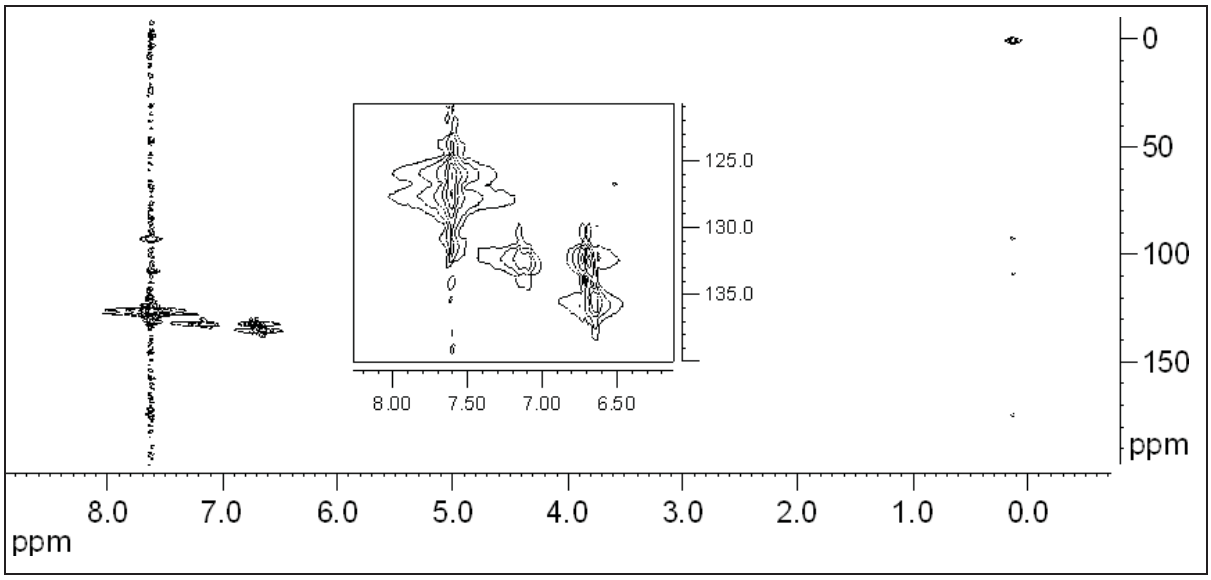


Abbildung 6.137: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, THF-d_8), **DPH10**.

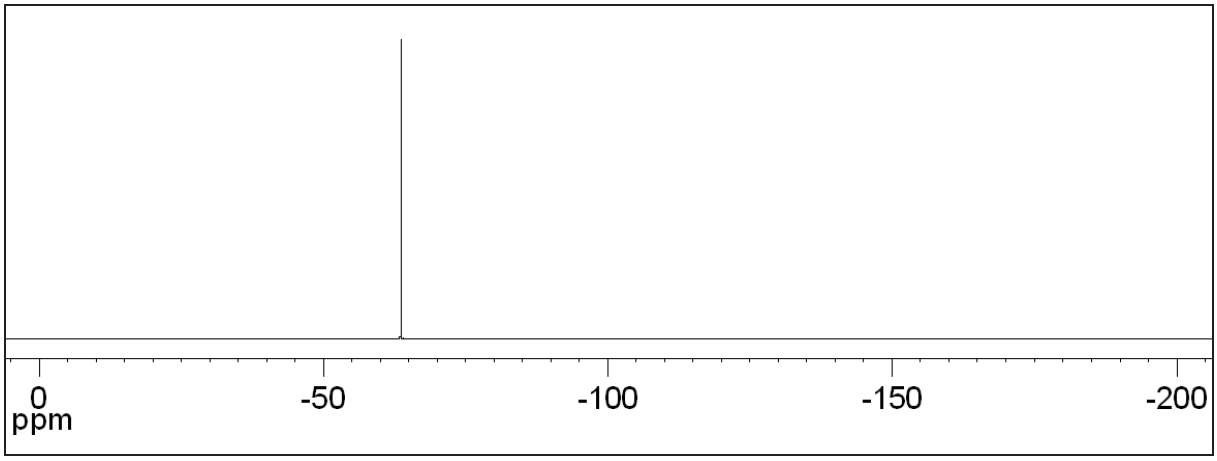


Abbildung 6.138: ^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, THF-d_8), **DPH10**.

^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, THF-d_8):

δ = -63.7 ppm.

MS (70 eV):

m/z = 368 (M+, 100 %), 299 (16 %), 209 (69 %), 184 (18 %), 159 (71 %), 115 (12 %)

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 64.02 (65.22)

% H: 4.09 (3.83)

% N: /

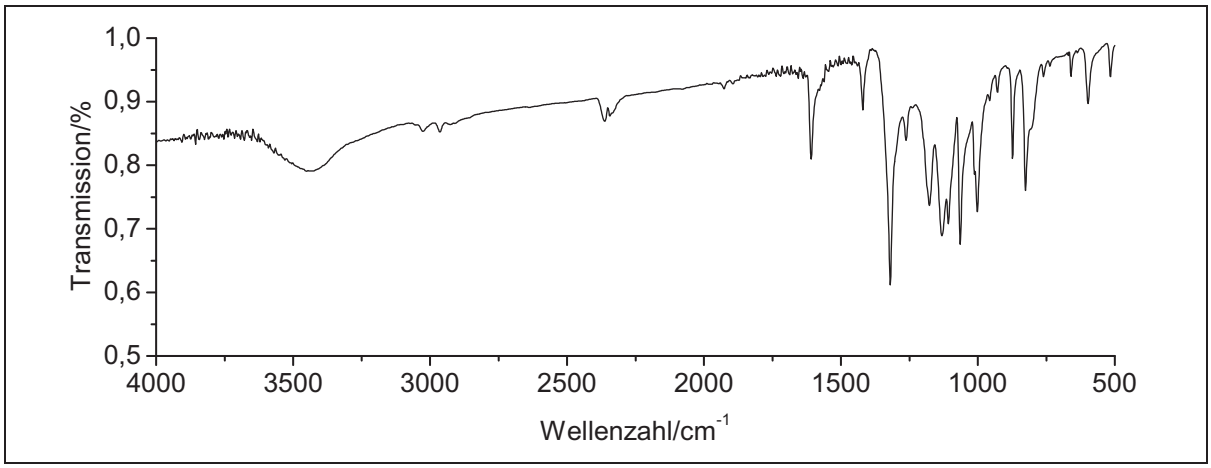
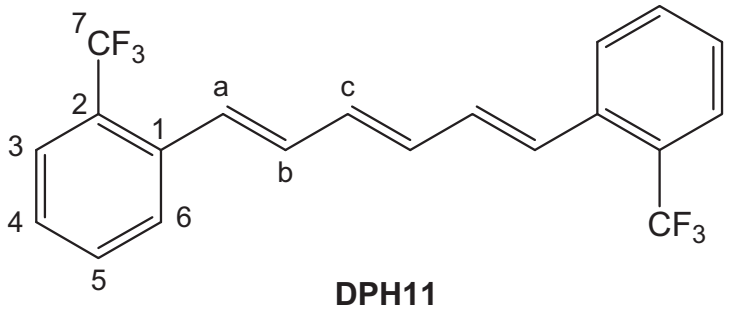


Abbildung 6.139: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH10**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 1608 (C=C-Valenzschwingung), 1420 (aromatische Ringschwingung), 1319 (C-F-Schwingung), 826 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierter Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 40: 1,6-Bis-[2-(trifluormethyl)phenyl]hexa-1,3,5-trien (DPH11)



DPH11

Zu einer Suspension von 0.23 g (9.6 mmol) 60%igem Natriumhydrid in 20 ml abs. Tetrahydrofuran werden unter Rühren bei Raumtemperatur 3.2 g (9.7 mmol) (*E*)-Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) in 10 ml absoluten Tetrahydrofuran zugetropft. Nach 0.5 h tropft man 5.1 g (29 mmol) 2-(Trifluormethyl)-benzaldehyd (**210**) in 10 ml absolutem Tetrahydrofuran zu und rührt weitere 30 min. Man gibt 0.25 g (10 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zu und lässt das Reaktionsgemisch 16 h rühren.

Es wird mit 50 ml Wasser hydrolysiert und 100 ml Diethylether werden zur Phasentrennung hinzu gegeben. Die wässrige Phase wird dreimal mit 50 ml Tetrahydrofuran/Diethylether im Verhältnis 3/1 extrahiert; die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 20 ml Wasser und 10 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird in Ethanol digeriert und der hellgelbe, kristalline Feststoff **DPH11** abfiltriert.

$C_{20}H_{14}F_6$ (M = 368.32 g/mol)

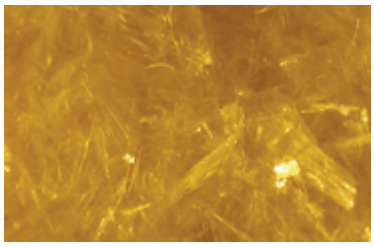


Abbildung 6.140: DPH11 in Form gelber Kristalle.

Ausbeute: 0.47 g (1.3 mmol, 13 %) **DPH11**

Schmelzpunkt: 152 °C

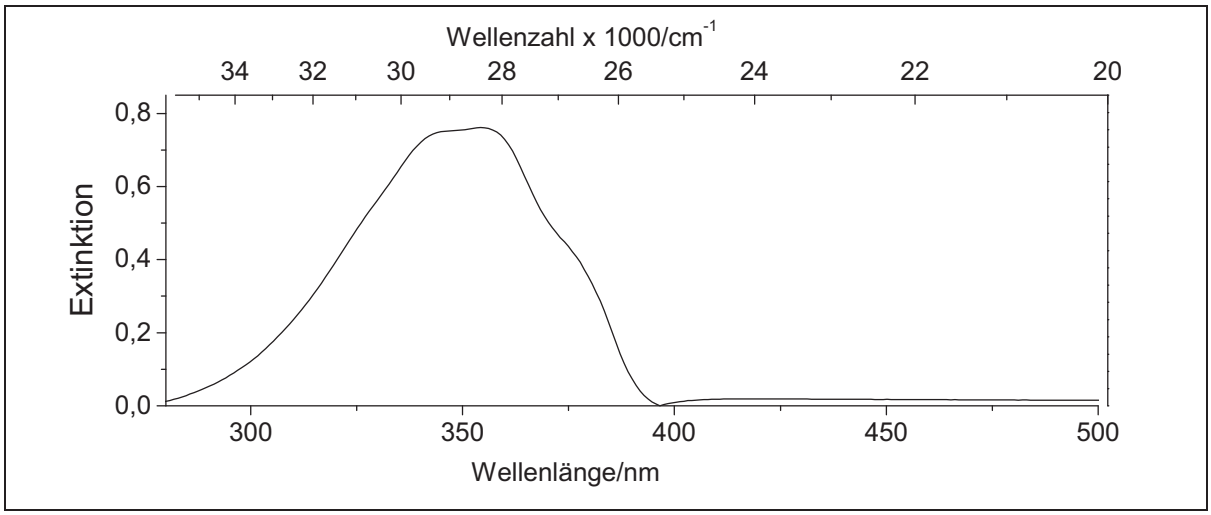


Abbildung 6.141: UV-Vis-Spektrum von **DPH11** in Chloroform (c = 30.4 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 355 (50100 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

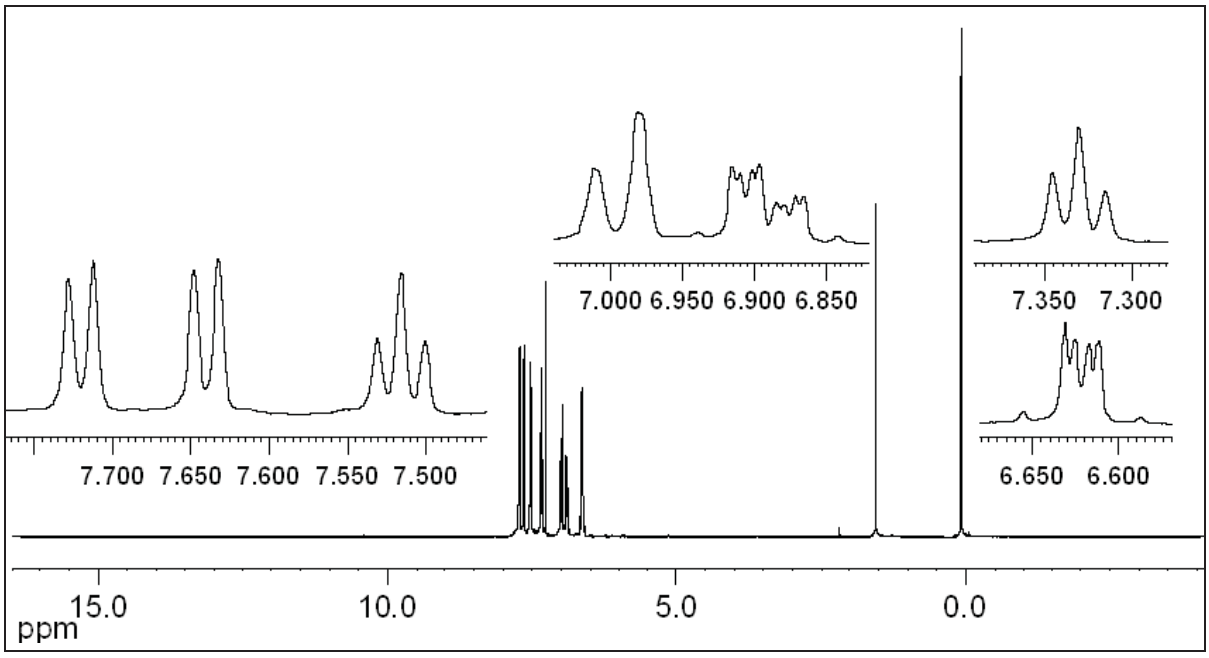


Abbildung 6.142: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH11**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.72 (d, 2 H, $^{3}J_{65}$ = 7.9 Hz, H-6), 7.64 (d, 2 H, $^{3}J_{36}$ = 7.9 Hz, H-3), 7.51 (dd, 2 H, $^{3}J_{53}$ = 7.6 Hz, $^{3}J_{56}$ = 7.6 Hz, H-5), 7.33 (dd, 2 H, $^{3}J_{45}$ = 7.6 Hz, $^{3}J_{43}$ = 7.6 Hz, H-4), 6.99*(d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.2 Hz, H-a), 6.89* (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.3 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.7 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.8 Hz, H-b), 6.62* (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 6.6 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.5 Hz, H-c) ppm.

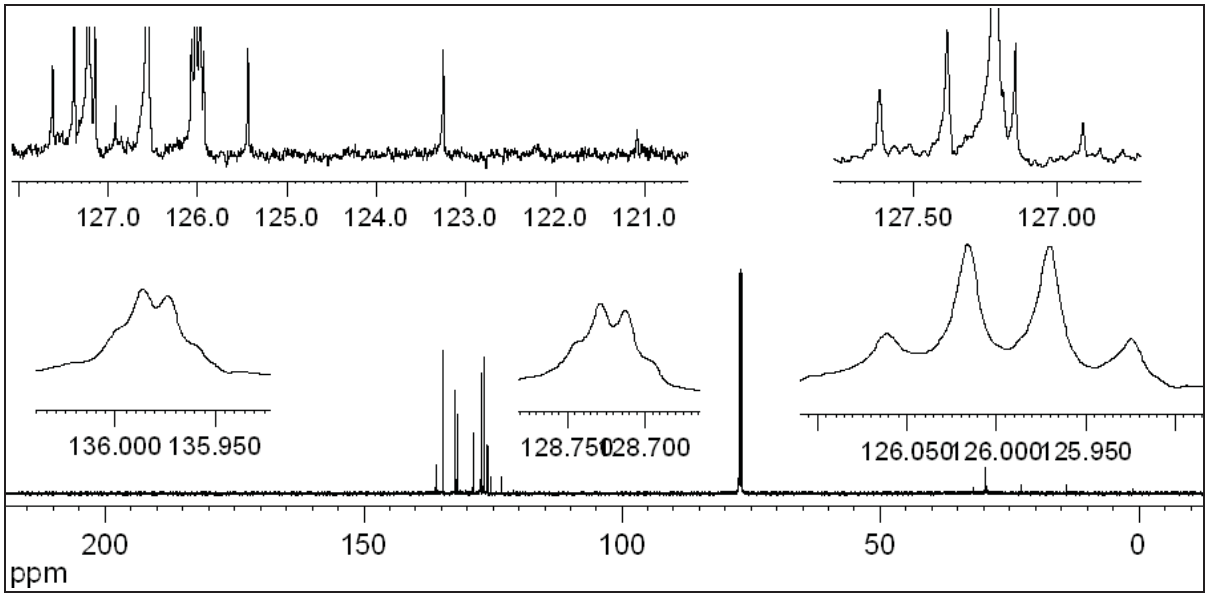


Abbildung 6.143: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (75 MHz, $CDCl_3$), **DPH11**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (75 MHz, $CDCl_3$):

δ = 136.0 (q, $^{3}J_{1F}$ = 1.6 Hz, C-1), 134.7 (s, C-c), 132.4 (s, C-b), 131.8 (s, C-5), 128.7 (q, $^{4}J_{aF}$ = 2.0 Hz, C-a), 127.3 (q, $^{2}J_{2F}$ = 29.6, C-2), 127.2 (s, C-4), 126.6 (s, C-6), 126.0 (q, $^{3}J_{3F}$ = 5.7 Hz, C-3), 124.3 (q, $^{1}J_{7F}$ = 274.0 Hz, C-7) cm^{-1}.

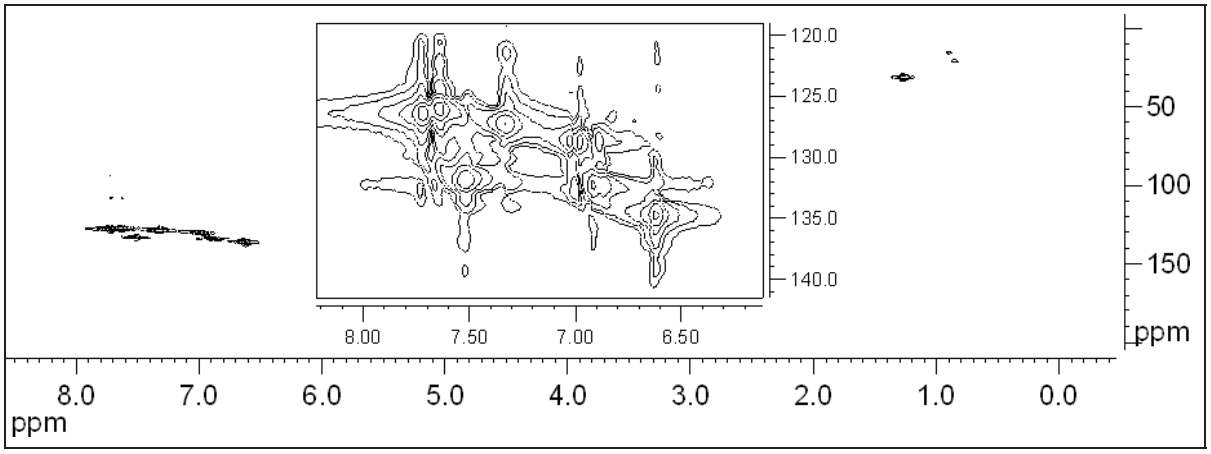


Abbildung 6.144: HMQC (500 MHz, $HCCl_3$), **DPH11**.

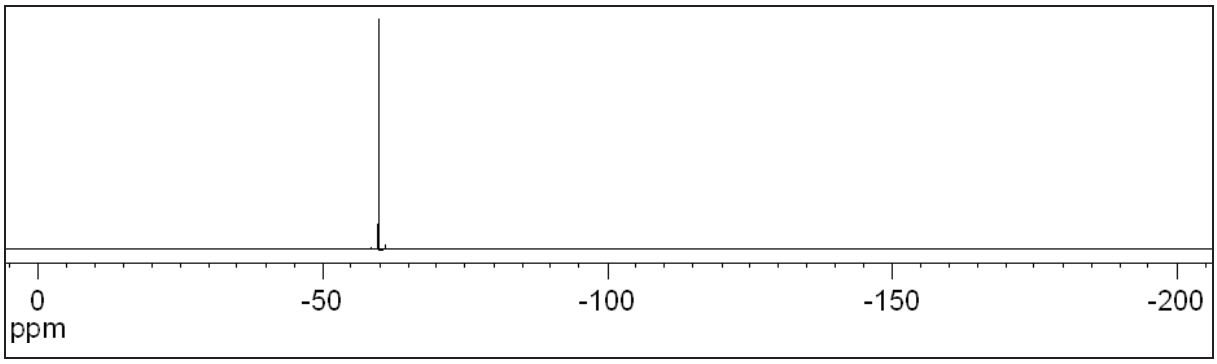


Abbildung 6.145: ^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **DPH11**.

^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$):

δ = -59.78(s) ppm.

MS (70 eV):

m/z = 368 (M+, 100 %), 299 (M-CF_3, 14 %), 209 (28 %), 184 (16 %), 159 (65 %), 115 (10 %)

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 63.28 (65.22)

% H: 4.08 (3.83)

% N: /

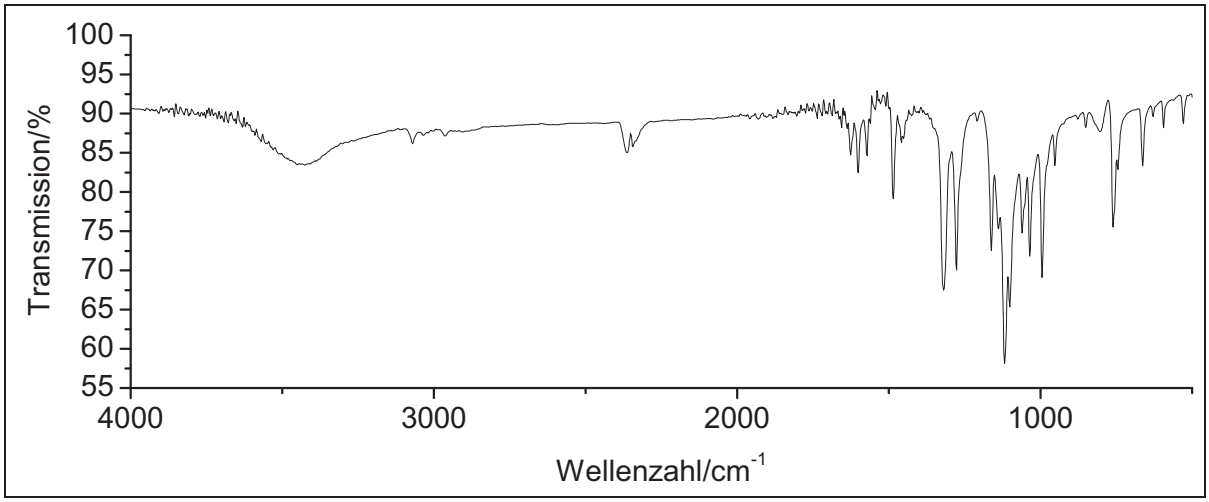
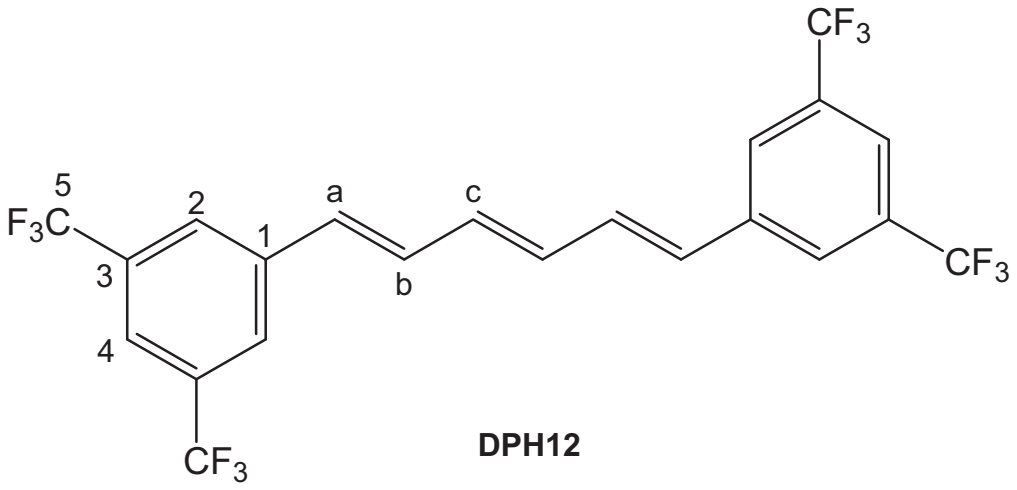


Abbildung 6.146: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH11**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 1625 und 1601 und 1572 (aromatische Ringschwingung), 1118 (C-F-Schwingung), 994 (C-H-Deformationsschwingung), 760 (C=C-Valenzschwingung eines 1,2-disubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 41: 1,6-Bis-[3,5-bis(trifluormethyl)phenyl]hexa-1,3,5-trien (DPH12)



DPH12

1.62 g (4.93 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.39 g (8.9 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 2.73 g (11.8 mmol) 3,5-Bis(trifluormethyl)benzaldehyd (**211**) in 40 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.37 g (9.3 mmol) 60%igem Natriumhydrid und 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 75 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Ausfallendes Rohprodukt **DPH12** wird in wenig Aceton aufgenommen und durch die Zugabe von Hexan wieder ausgefällt.

$C_{22}H_{12}F_{12}$ (M = 504.31 g/mol)

Ausbeute: 180 mg (357 µmol, 7 %) **DPH12**

Schmelzpunkt: 247 °C

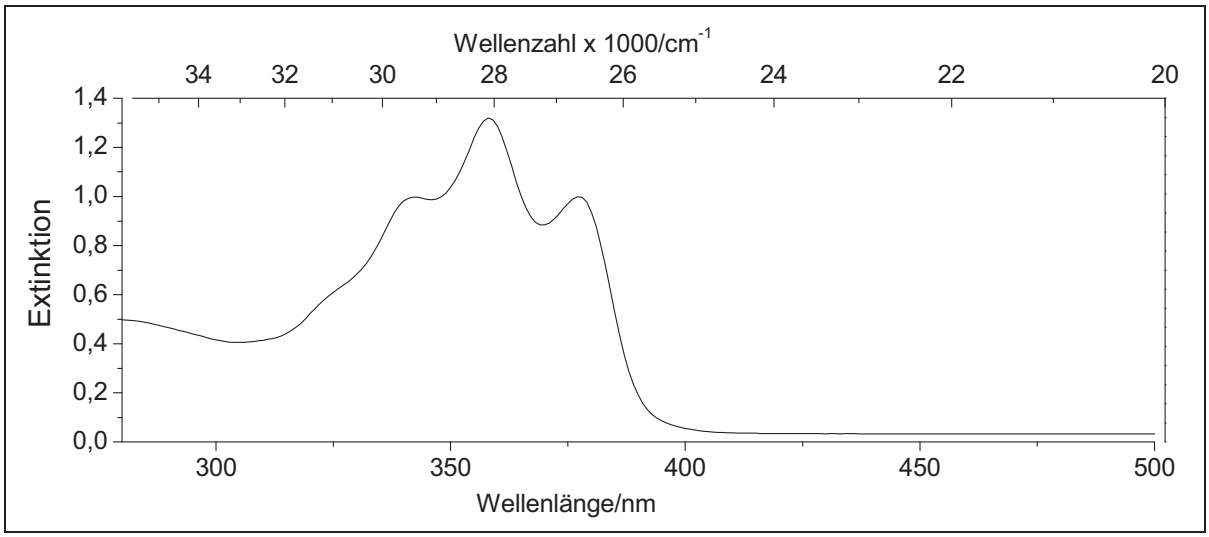


Abbildung 6.147: UV-Vis-Spektrum von **DPH12** in Chloroform (c = 17.4 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 342 (58700 (l/mol)*cm^{-1}), 358 (77700 (l/mol)*cm^{-1}), 377 (58700 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

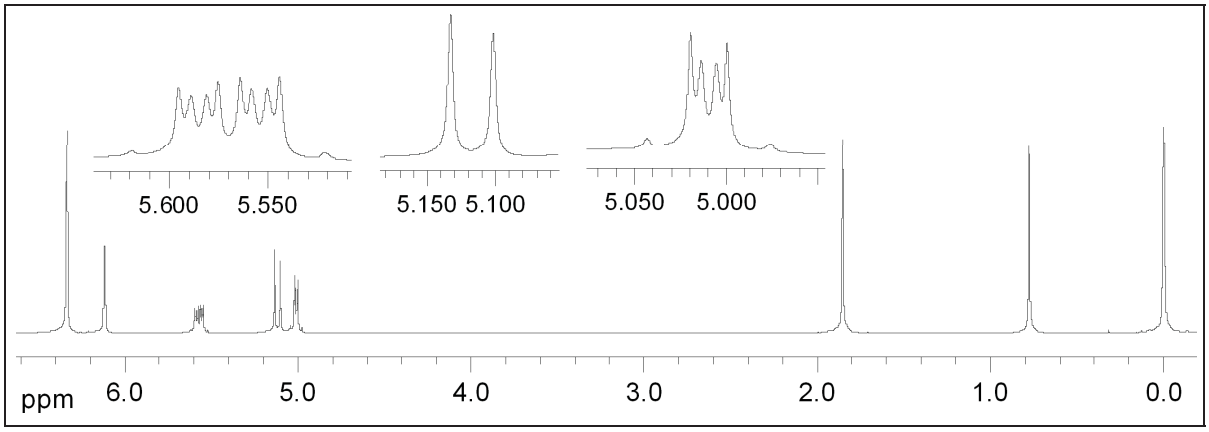


Abbildung 6.148: ^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8), **DPH12**.

^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8):

δ = 6.33 (s, 4 H, H-2), 6.12 (s, 2 H, H-4), 5.57▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.0 Hz, H-b), 5.12▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a), 5.01▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, H-c) ppm.

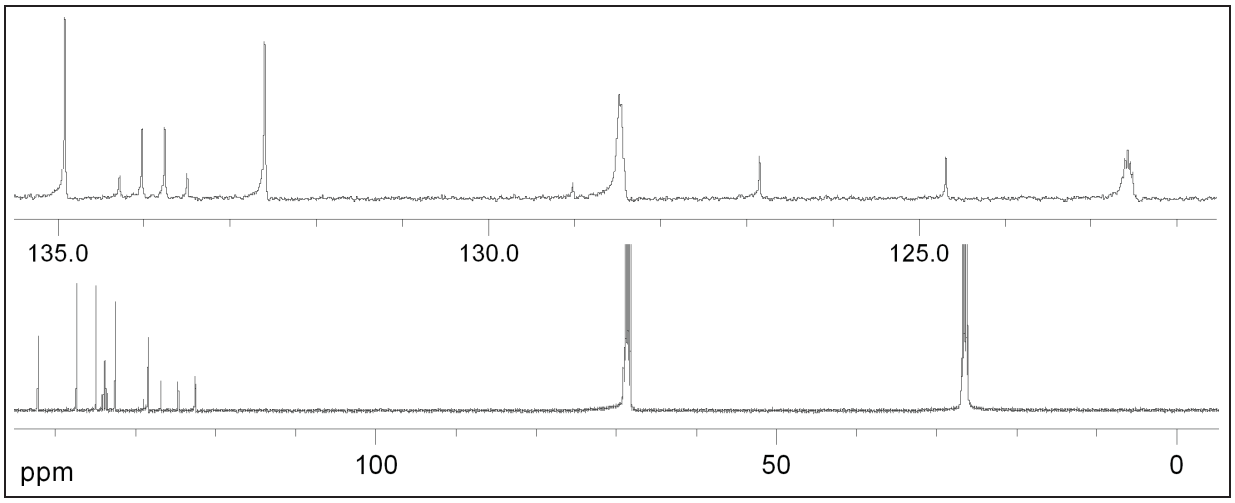


Abbildung 6.149: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8), **DPH12**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, THF-d_8):

δ = 142.2 (s, C-1), 137.4 (s, C-c), 134.9 (s, C-b), 133.9 (q, $^{2}J_{CF}$ = 33.0 Hz, C-3), 132.6 (s, C-a), 128.6 (qq, $^{3}J_{CF}$ = 3.7 Hz, $^{5}J_{CF}$ = 1.2 Hz, C-2), 125.8 (q, $^{1}J_{CF}$ = 272.5 Hz, C-5), 122.6 (q, $^{3}J_{CF}$ = 3.9 Hz, C-4) ppm.

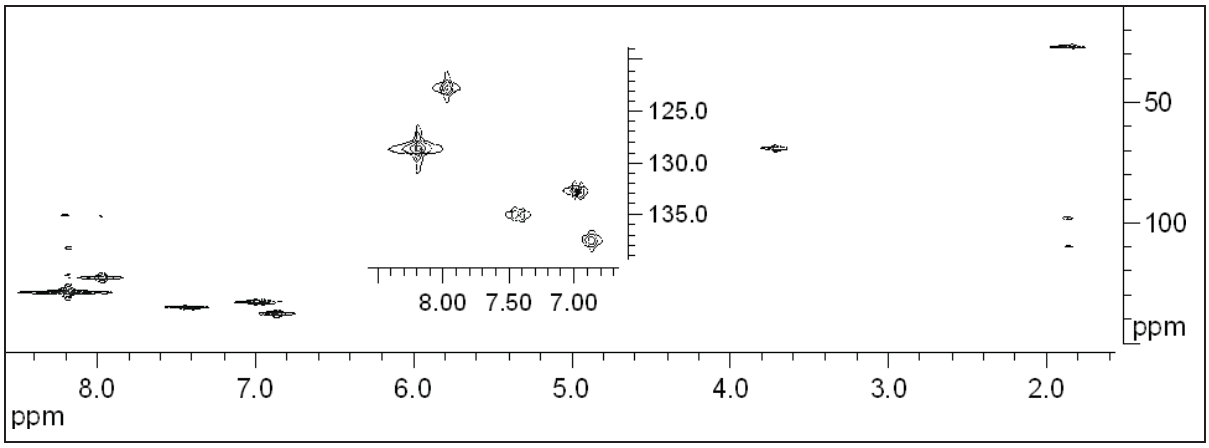


Abbildung 6.150: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPH12**.

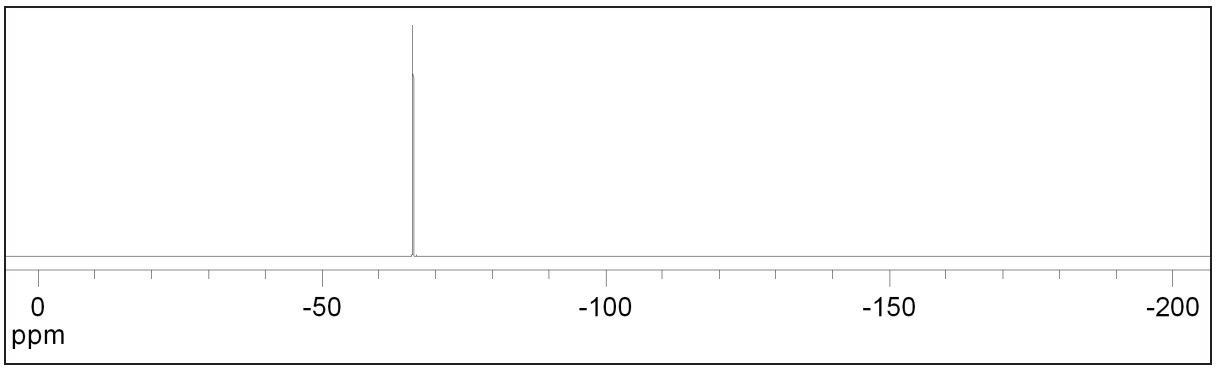


Abbildung 6.151: ^{19}F-{^{1}H}-NMR (470 MHz, $CDCl_3$), **DPH12**.

$^{19}F\{^{1}H\}$-NMR (470 MHz, $CDCl_3$):

δ = -66.0 ppm.

MS (70 eV):

m/z = 505 (M^++1, 27 %), 504 (M^+, 100 %),435 (M^+-CF_3, 9 %) 277 (M^+-CH_2-C_6H_4-$(CF_3)_2$, 65 %), 227 (-CH_2-C_6H_4-$(CF_3)_2$, 45 %), 96 (-CF_3, 9 %).

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 51.45 (52.40)

% H: 2.14 (2.40)

% N: /

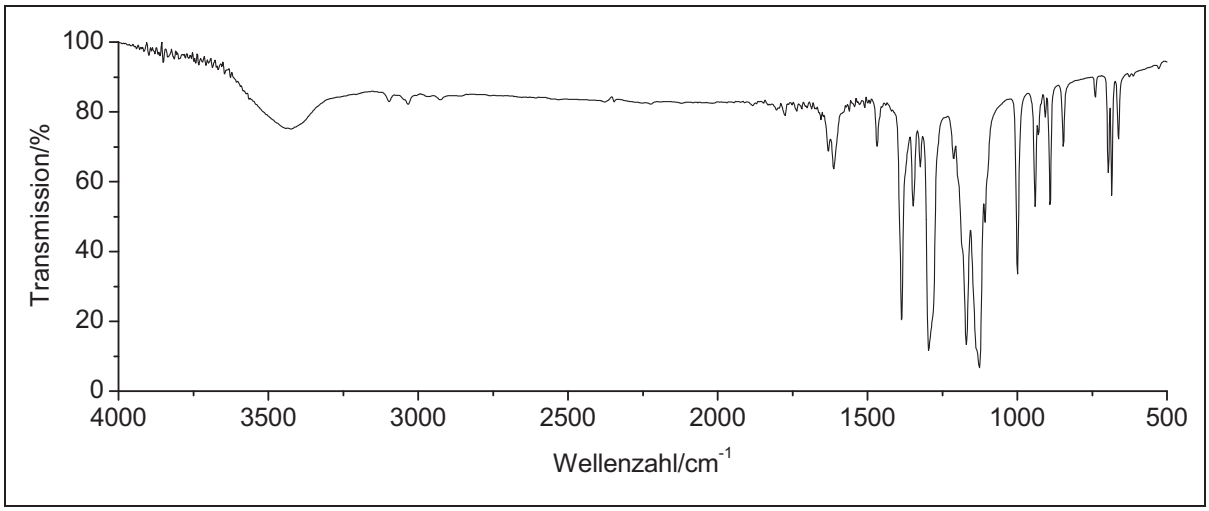
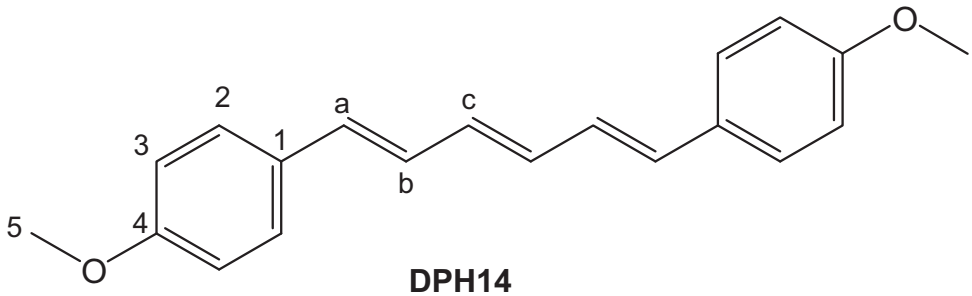


Abbildung 6.152: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH12**.

IR (KBr):

ṽ = 3098 und 3034 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1630 und 1612 (C=C-Valenzschwingung), 1386 und 1296 (-CF_3 symmetrische Deformationsschwingung), 1170 (C-F-Valenzschwingung), 1126 (C=C-Deformationsschwingung), 999 (C-H „out-of-plane“-Deformationsschwingung) cm^{-1}.

Versuch 42: 1,6-Bis-(4-methoxyphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH14)



DPH14

6.27 g (19.1 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 1.08 g (27.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in abs. Tetrahydrofuran 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 7.80 g (57.3 mmol) *p*-Anisaldehyd (**158**) in abs. Tetrahydrofuran gelöst werden zugetropft. Nach 1 h werden 1.08 g (27.0 mmol) 60%igem Natriumhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 7 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 25 ml Phosphatpuffer und 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Ausfallende Phosphate werden abfiltriert. Zur Phasentrennung wird Diethylether hinzu gegeben. An der Phasengrenze fällt das Produkt aus. Es wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet wird.

$C_{20}H_{20}O_2$ (M = 292.37 g/mol)



Abbildung 6.153: DPH14 als kristallines Produkt.

Ausbeute: 2.03 g (7.87 mmol, 41 %) **DPH14** **Lit**: 23 % [99]

Schmelzpunkt: 249 °C **Lit**: 247-248 °C [188], 250-251 °C [189]

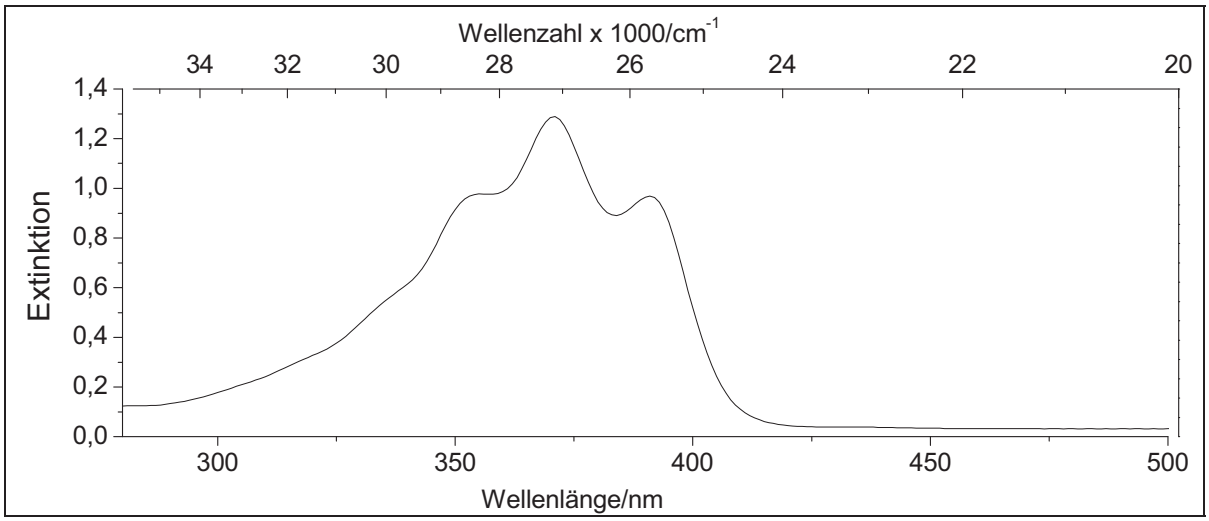


Abbildung 6.154: UV-Vis-Spektrum von **DPH14** in Chloroform (c = 35.6 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):[183, 190]*

λ_{max} (ε_{max}) = 355 (55000 (l/mol)*cm^{-1}), 371 (72400 (l/mol)*cm^{-1}), 391 (54500 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

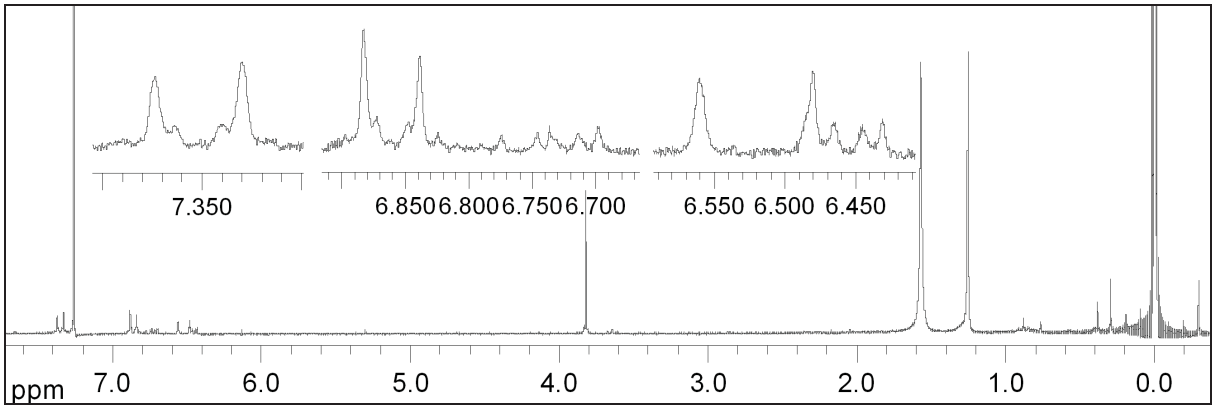


Abbildung 6.155: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **DPH14**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[99, 189]*

δ = 7.35 (m, 4 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{23}$ + $^5J_{23}$ = 8.8 Hz, H-2), 6.86 (m, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{23}$ + $^5J_{23}$ = 8.8 Hz, H-3), 6.76▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 9.7 Hz, $^3J_{bc}$ = 7.3 Hz, $^4J_{bc}$ = 3.3 Hz, H-b), 6.52▲ (d, 2 H, $^3J_{ac}$ = 16.0 Hz, H-a), 6.46▲ (dd, 2 H, $^3J_{ca}$ = 7.5 Hz, $^4J_{ca}$ = 3.5 Hz, H-c), 3.82 (s, 3 H, H-5) ppm.

MS (70 eV):

m/z = 293 (M^++1, 20 %), 292 (M^+, 100 %), 171 (M-$CH_2C_6H_4$-OCH_3, 13 %), 146 (M/2, 14 %), 121 (-$CH_2C_6H_4$-OCH_3, 61 %).

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 82.09 (82.16)

% H: 6.75 (6.89)

% N: /

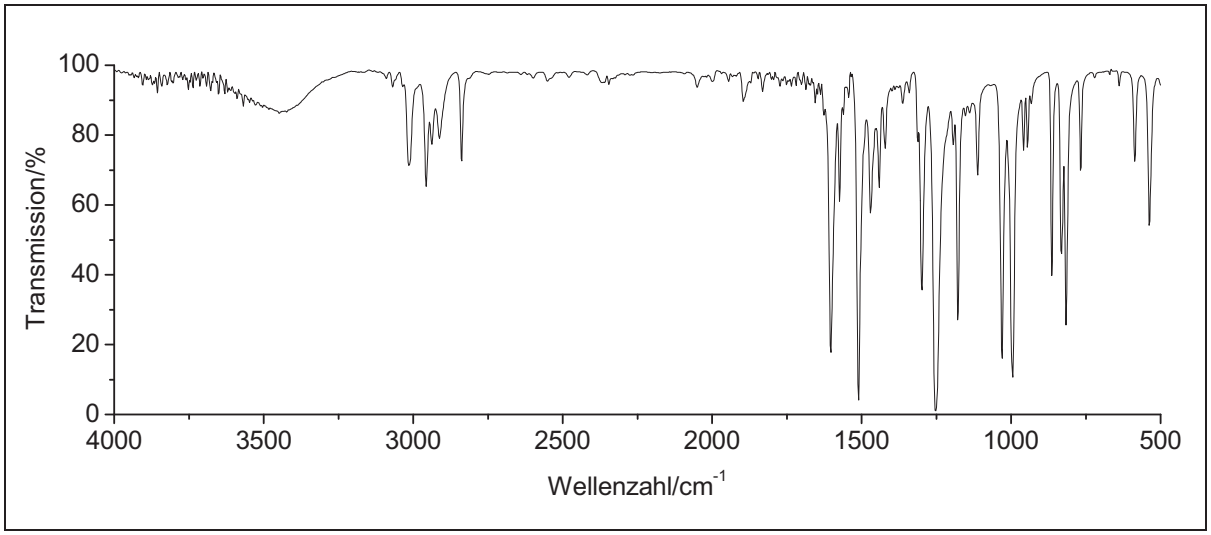
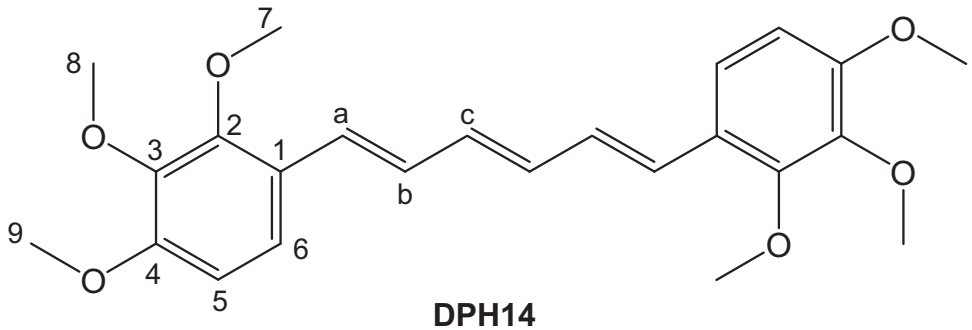


Abbildung 6.156: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH14**.

IR (KBr):[185, 191]*

$\tilde{\nu}$ = 3032 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2938, 2924 und 2855 (C-H-Valenzschwingung), 1681, 1616 und 1599 (C=C-Valenzschwingung), 1456 (C-H-Deformationsschwingung), 1294 (C-O-Valenzschwingung), 829 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 43: 1,6-Bis-(2,3,4-trimethoxyphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH14)



DPH14

1.49 g (4.54 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.26 g (6.4 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 2.67 g (13.64 mmol) 2,3,4-Trimethoxybenzaldehyd (**212**) in 20 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.26 g (6.4 mmol) 60%igem Natriumhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung hydrolysiert. Ausfallendes Natriumchlorid wird mit wenig destilliertem Wasser wieder gelöst. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml techn. Tetrahydrofuran/Diethylether (3:1) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mit Methanol versetzt und über Nacht bei 5 °C stehen gelassen. Das Produkt **DPH14** wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_{24}H_{28}O_6$ (M = 412.48 g/mol)

Ausbeute: 390 mg (946 µmol, 21 %) **DPH14**

Schmelzpunkt: 160 °C



Abbildung 6.157: DPH14 als kristallines Produkt.

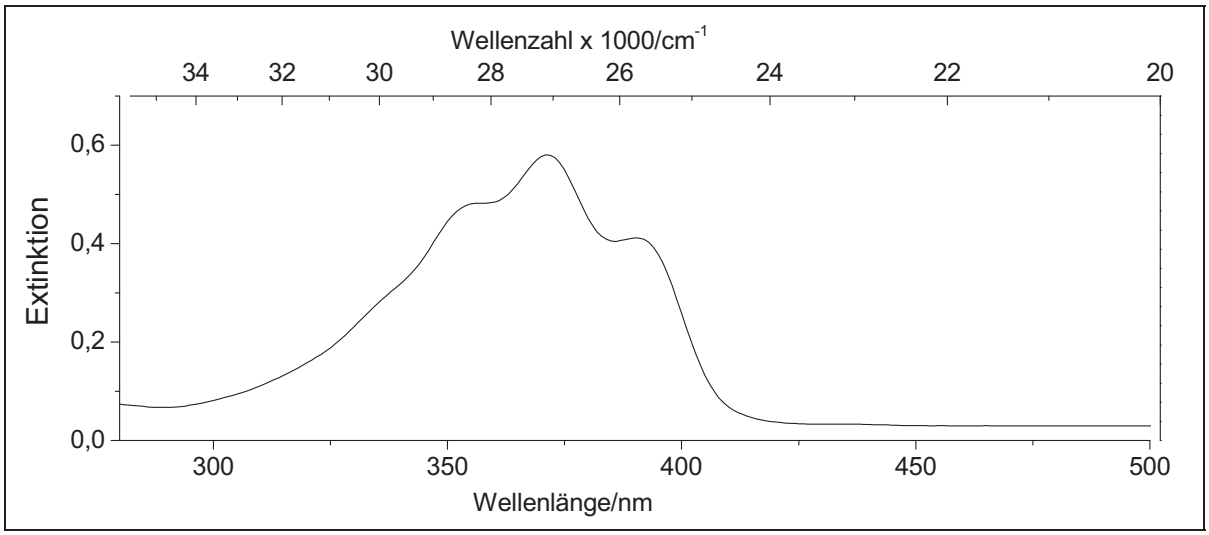


Abbildung 6.158: UV-Vis-Spektrum von **DPH14** in Cyclohexan (c = 46.1 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis(Cyclohexan):

λ_{max} (ε_{max}) = 356 (52300 (l/mol)*cm^{-1}), 371 (63000 (l/mol)*cm^{-1}), 390 (44700 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

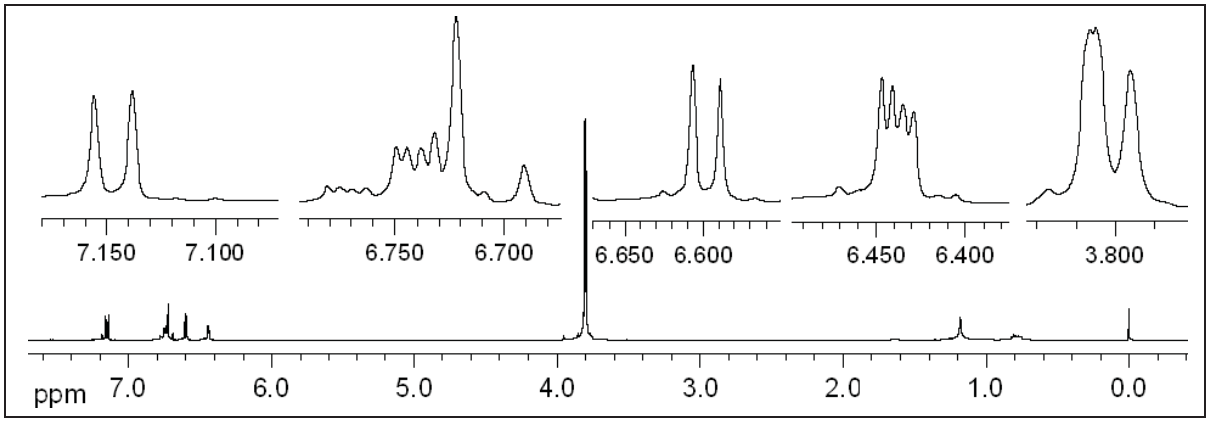


Abbildung 6.159: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH14**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.15 (d, 2 H, $^{3}J_{65}$ = 8.8 Hz, H-6), 6.76▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.7 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.9 Hz, H-b), 6.71▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ac}$ = 15.6 Hz, H-a), 6.60 (d, 2 H, $^{3}J_{56}$ = 8.8 Hz, H-5), 6.44▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{ca}$ = 5.9 Hz, $^{4}J_{ca}$ = 3.0 Hz, H-c), 3.81 (s, 6 H, H-7), 3.81 (s, 6 H, H-8), 3.80 (s, 6 H, H-9) ppm.

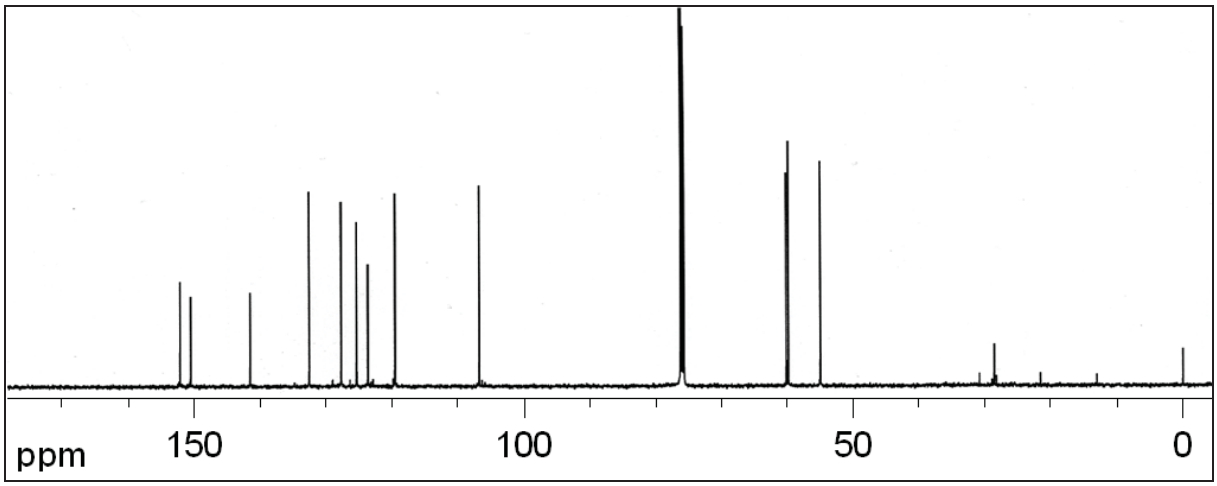


Abbildung 6.160: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH14**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (74 MHz, $CDCl_3$):

δ = 152.1 (s, C-2), 150.6 (s, C-4), 141.6 (s, C-3), 132.5 (s, C-c), 127.7 (s, C-a), 125.3 (s, C-b), 123.7 (s, C-1), 119.7 (s, C-6), 106.8 (s, C-5), 2x 60, 1 (2 s, C-7 und C-8), 55.0 (s, C-9) ppm.

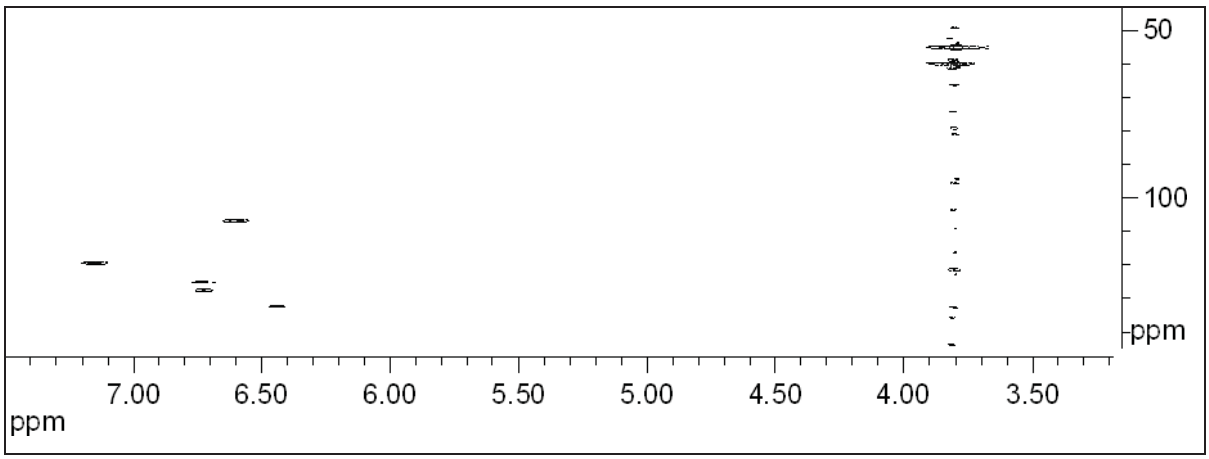
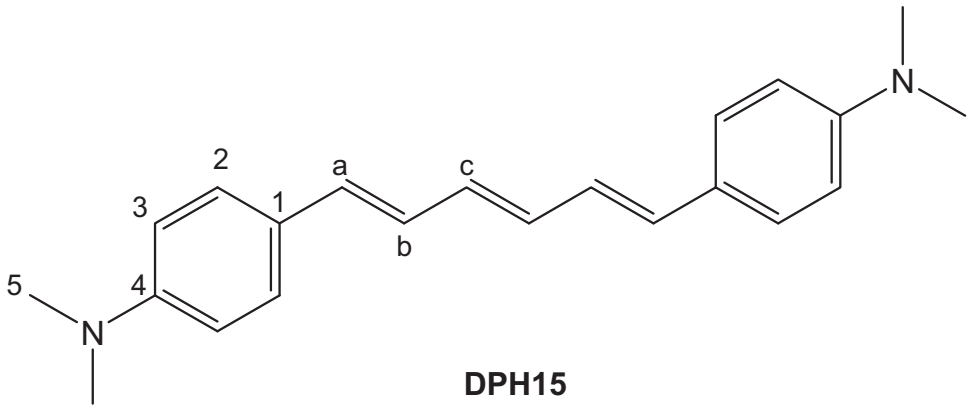


Abbildung 6.161: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPH14**.

Versuch 44: 1,6-Bis-[4-(dimethylamino)phenyl]hexa-1,3,5-trien (DPH15)



DPH15

5.16 g (15.7mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) werden in 40 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. 0.82 g (21 mmol) 60%iges Natriumhydrid in 10 ml Tetrahydrofuran werden zugegeben und das Reaktionsgemisch 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 7.22 g (48.4 mmol) 4-(Dimethylamino)benzaldehyd (**213**) in 40 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.82 g (21 mmol) 60%igem Natriumhydrid in 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit destilliertem Wasser hydrolysiert und die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml techn. Tetrahydrofuran/Diethylether (3:1) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck eingeengt. Der Rückstand wird in techn. Hexan 1 h zum Rückfluss erhitzt. Die auf Raumtemperatur gebrachte Lösung wird mit Methanol versetzt. Das ausfallende Produkt **DPH15** wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet wird.

$C_{22}H_{26}N_2$ (M = 318.46 g/mol)



Abbildung 6.162: DPH15 als gelber Feststoff.

Ausbeute: 976 mg (3.06 mmol, 20 %) **DPH15** **Lit**: 14 % [192], 38 % [99]

Schmelzpunkt: 247 °C **Lit**: 238- 240 °C [189]

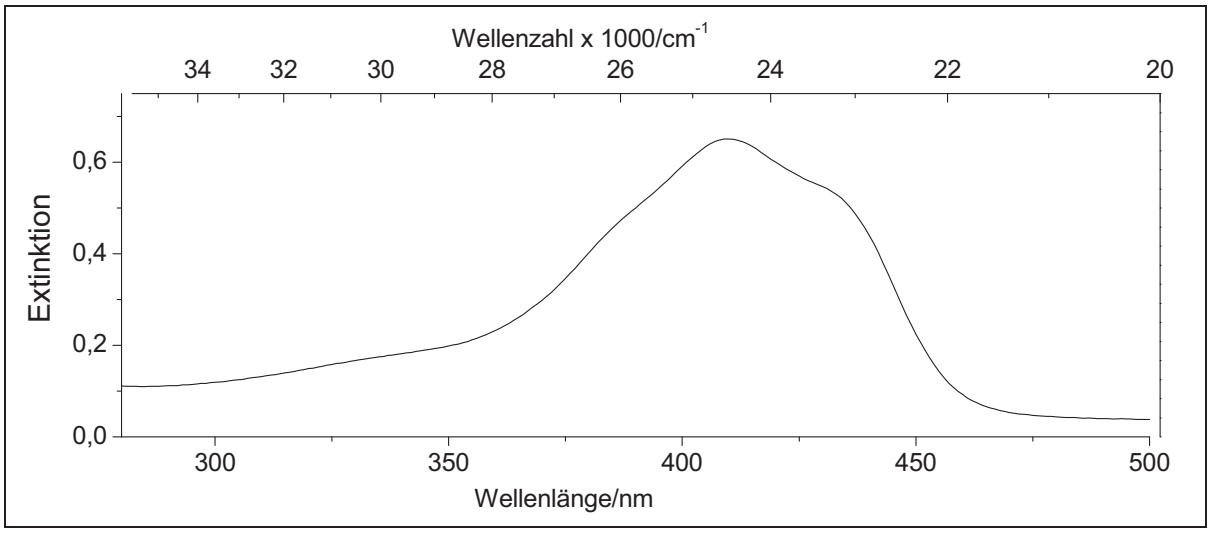


Abbildung 6.163: UV-Vis-Spektrum von **DPH15** in Chloroform (c = 107 µmol/l, d = 0.1 cm).

UV-Vis(Chloroform):[177, 189]*

λ_{max} (ε_{max}) = 410 (60800 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

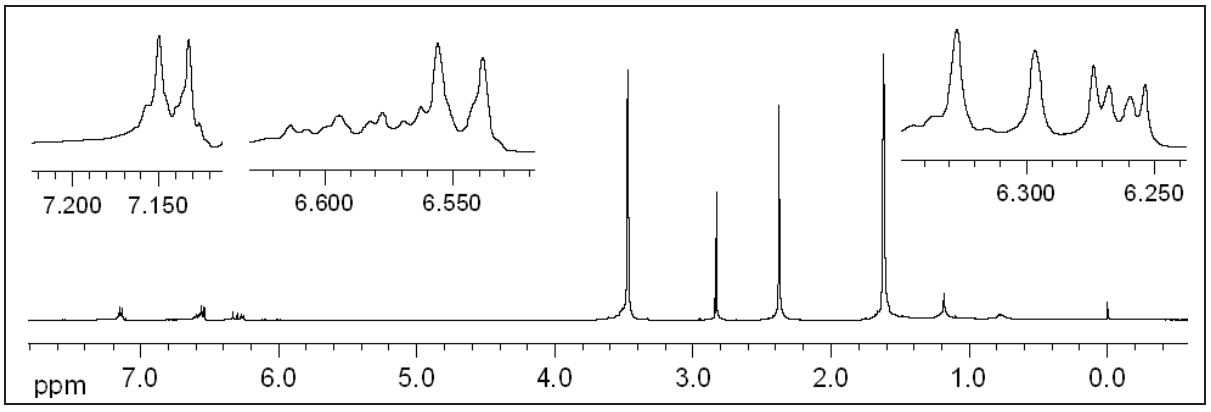


Abbildung 6.164: ^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8),**DPH15**.

^{1}H-NMR (500 MHz, THF-d_8):[99, 189]*

δ = 7.14 (m, 4 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{23}$ + $^5J_{23}$= 8.8 Hz, H-2), 6.59▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 15.3 Hz, $^3J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^4J_{bc}$ = 2.8 Hz, H-b), 6.55 (m, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{32}$ + $^5J_{32}$ = 8.8 Hz, H-3), 6.31▲ (d, 2 H, $^3J_{ac}$ = 15.3 Hz, H-a), 6.26▲ (dd, 2 H, $^3J_{ca}$ = 7.1 Hz, $^4J_{ca}$ = 2.9 Hz, H-c), 2.89 (s, 12 H, H-5) ppm.

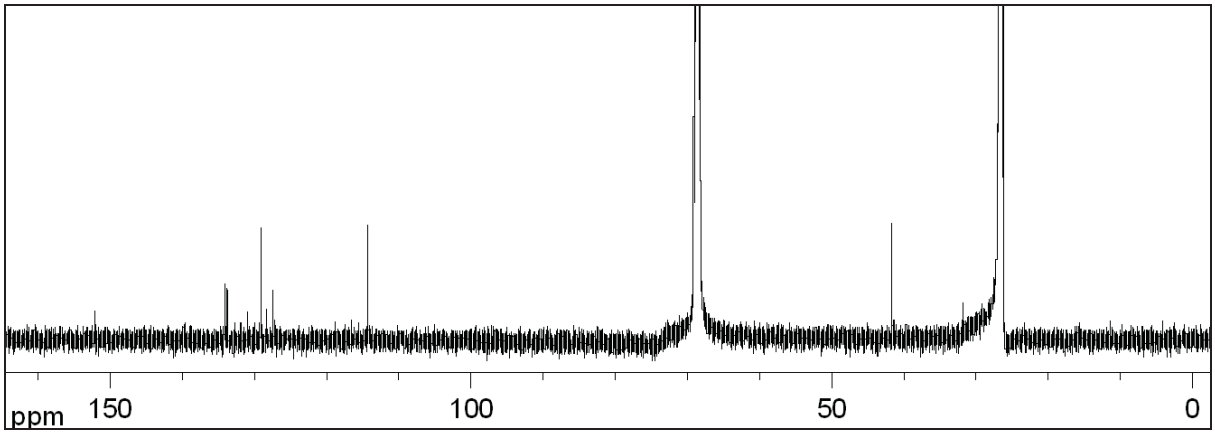


Abbildung 6.165: ^{13}**C-{**^{1}H}-NMR (74 MHz, THF-d_8), **DPH15**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (74 MHz, $CDCl_3$):

δ = 152.1 (s, C-4), 134.1 (s, C-c), 133.8 (s, C-a), 129.2 (s, C-2), 128.4 (s, C-1), 127.4 (s, C-b), 114.3 (s, C-3), 41.6 (s, C-5) ppm.

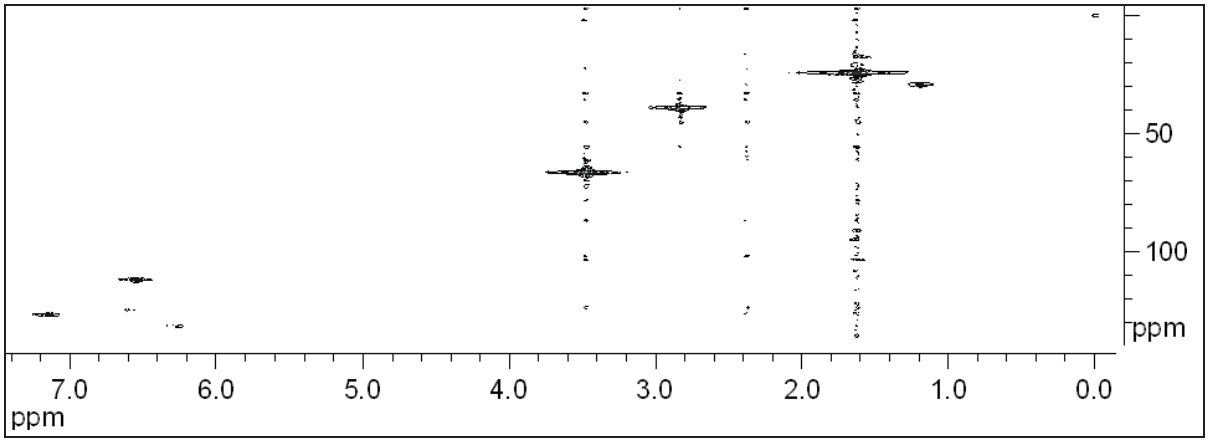


Abbildung 6.166: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, THF-d_8), **DPH15**.

MS (70 eV):

m/z = 319 (M^++1, 28 %), 318 (M^+, 100 %), 1843 (M-CH_2-C_6H_4-$N(CH_3)_2$, 9 %), 159 (M/2, 27 %), 134 (-CH_2-C_6H_4-$N(CH_3)_2$, 85 %).

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 82.14 (82.97)

% H: 8.08 (8.23)

% N: 8.30 (8.80)

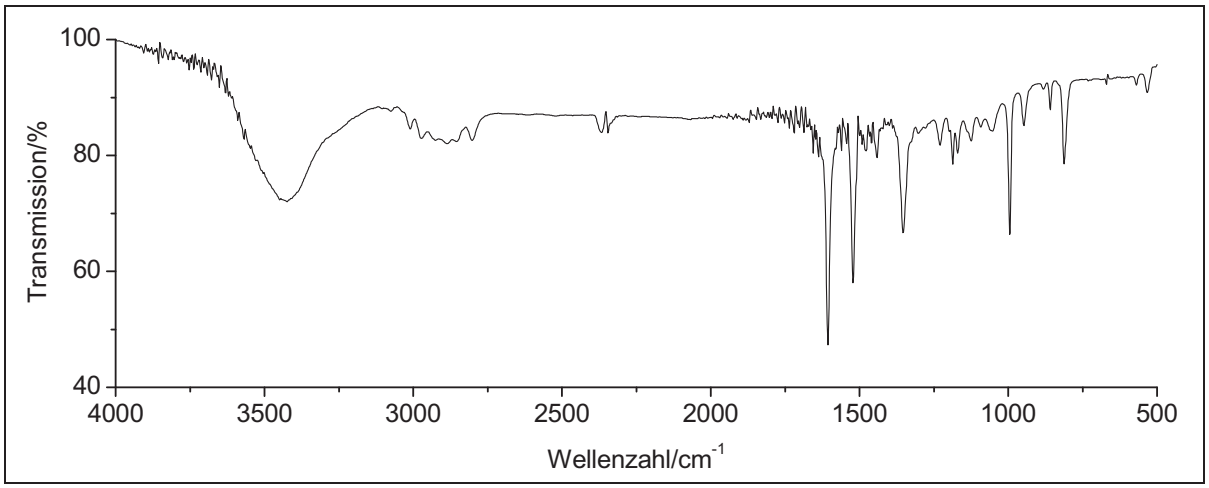
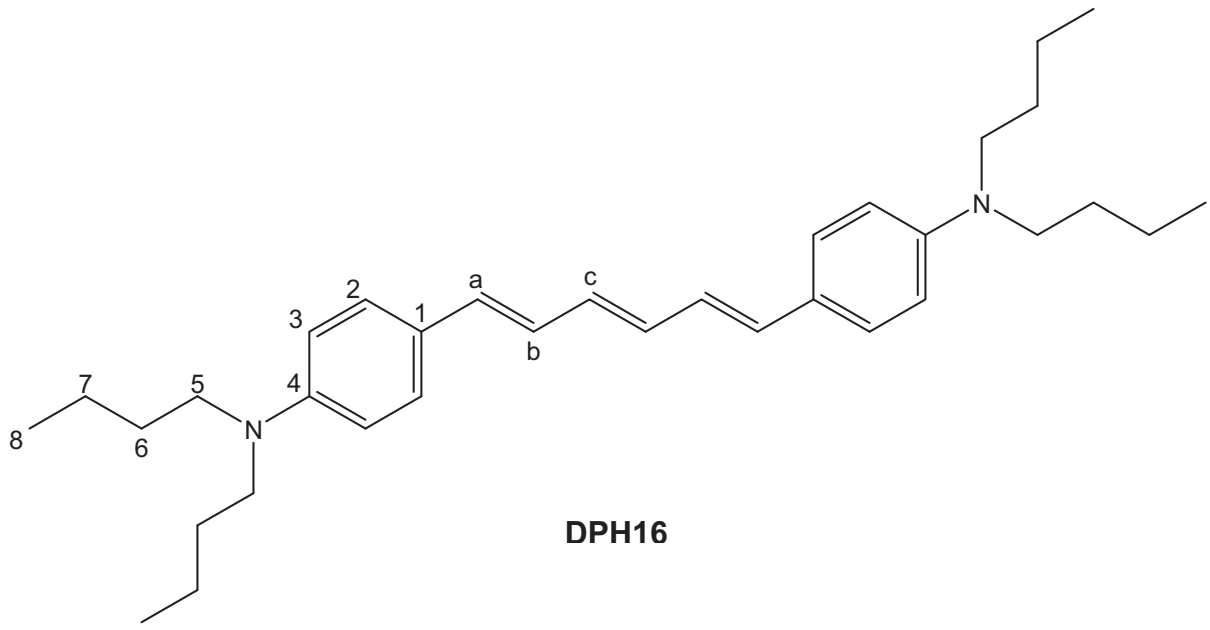


Abbildung 6.167: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH15**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 2885 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1606 und 1522 (C=C-Valenzschwingung), 1353 (C-H-Deformationsschwingung), 994 (C=C-Deformationsschwingung), 812 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 45: 1,6-Bis-(4-dibutylaminophenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH16)



DPH16

1.55 g (4.72 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 25 ml abs. Tetrahydrofuran 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 2.42 g (10.4 mmol) 4-Dibutylaminobenzaldehyd (**214**) werden zugetropft und weitere 30 min bei Raumtempera-tur gerührt. Nach Zugabe

weiterer 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid wird 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionsmischung wird mit 100 ml hydrolysiert. Die wässrige Phase wird mit Diethylether und Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten orga-nischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt **DPH16** wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit einem Laufmittelgemisch Ethylacetat/n-Hexan 10/90 gereinigt.

$C_{34}H_{50}N_2$ (M = 486.77 g/mol)

Ausbeute: 1.12 g (2.30 mmol, 44 %) **DPH16**

Schmelzpunkt: 42 °C

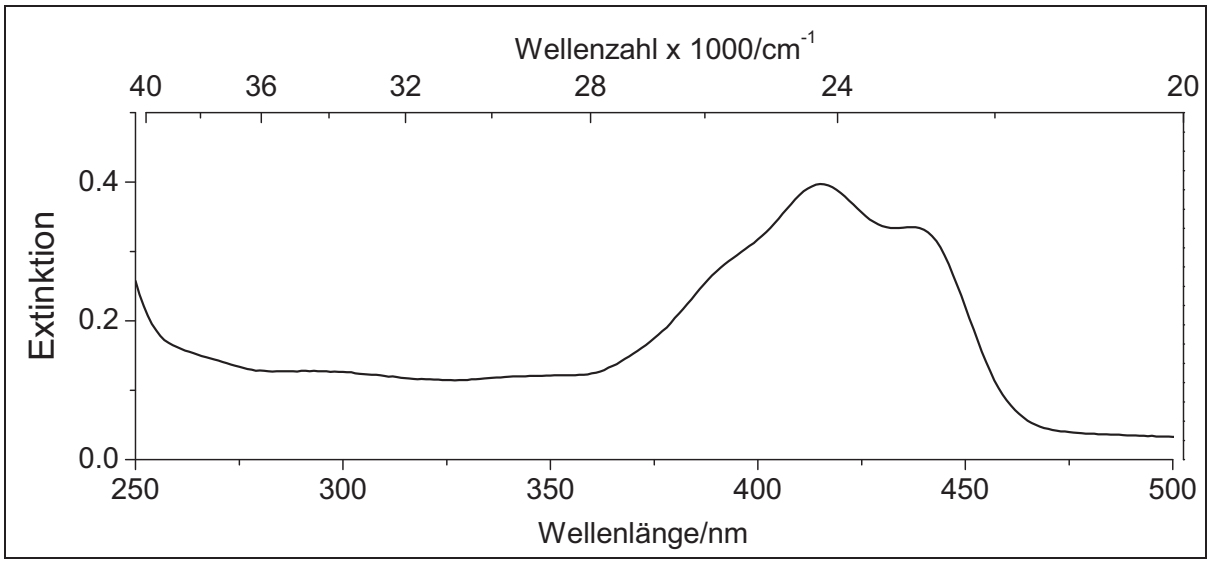


Abbildung 6.168: UV-Vis-Spektrum von **DPH16** in Tetrahydrofuran (c = 32.9 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Tetrahydrofuran):[193]*

λ_{max} (ε_{max}) = 415 (60400 (l/mol)*cm^{-1}), 437 (51000 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

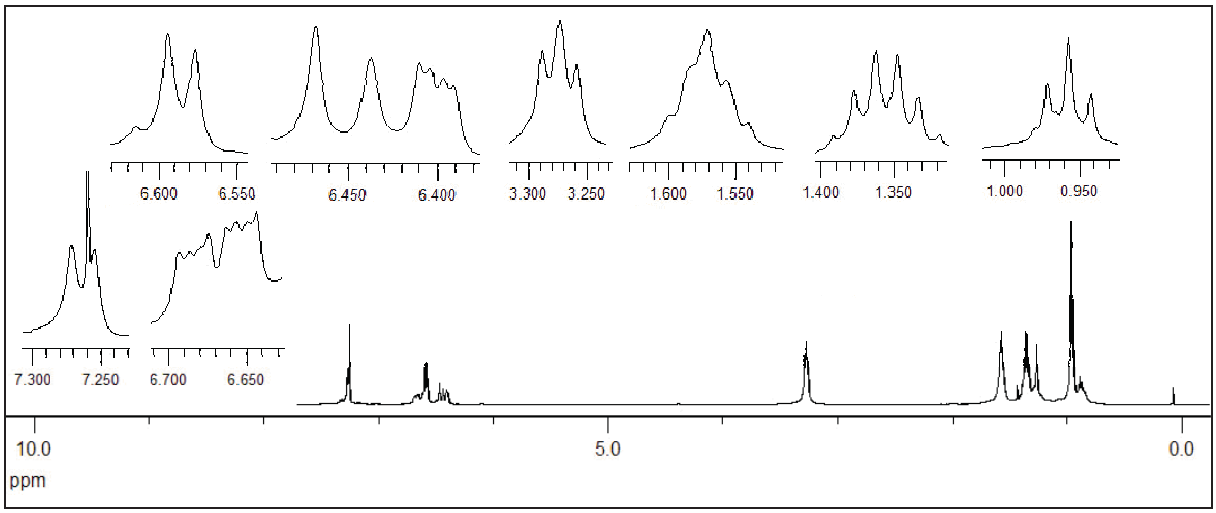


Abbildung 6.169: ^{1}H-NMR (500 MHzCDCl$_3$), **DPH16**.

^{1}H-NMR (500 MHz, CDCl$_3$):

δ = δ = 7.26 (m, $^{3+5}$J = 8.5 Hz, 4 H, A-Teil von [AB]$_2$, H-2), 6.67▲ (ddd, $^{3}J_{ba}$ = 15.4 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.6 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, 2 H, H-b), 6.59 (m, $^{3+5}J_{32}$ = 8.5 Hz, 4 H, B-Teil von [AB]$_2$, H-3), 6.45▲ (d, $^{3}J_{ab}$ = 15.4 Hz, 2 H, H-a), 6.40▲ (dd, $^{3}J_{cb}$ = 6.7 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, 2 H, H-c), 3.27 (t, $^{3}J_{56}$ = 7.6 Hz, 8 H, H-5), 1.57 (m, 8 H, H-6), 1.35 (m, 8 H, H-7), 0.96 (t, $^{3}J_{87}$ = 7.3 Hz, 12H, H-8) ppm.

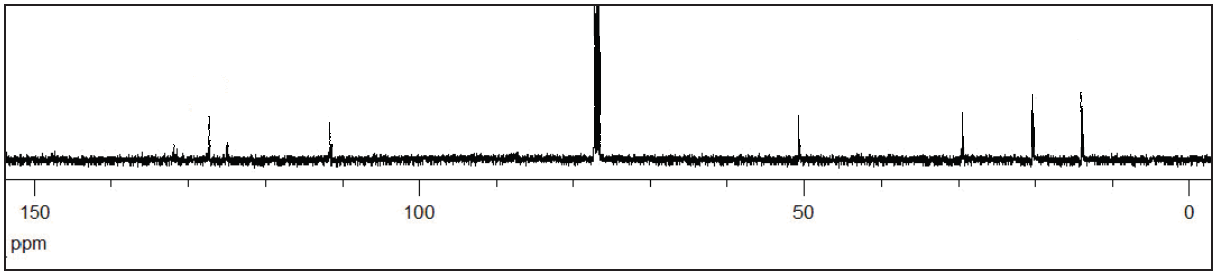


Abbildung 6.170: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, CDCl$_3$), **DPH16**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, CDCl$_3$):

δ = 147.5 (s, C-4), 131.9 (s, C-a), 131.6 (s, C-c), 127.5 (s, C-2'), 127.5 (s, C-b'), 125.0 (s, C-1), 111.6 (s, C-3), 50.8 (s, C-5), 29.48 (s, C-6), 20.3 (s, C-7), 14.0 (s, C-8) ppm.

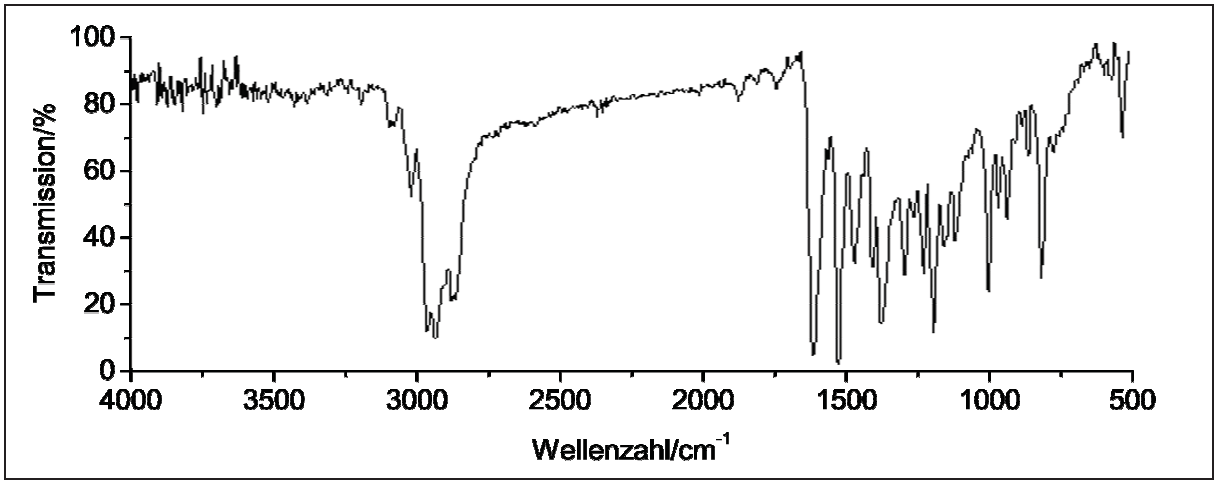
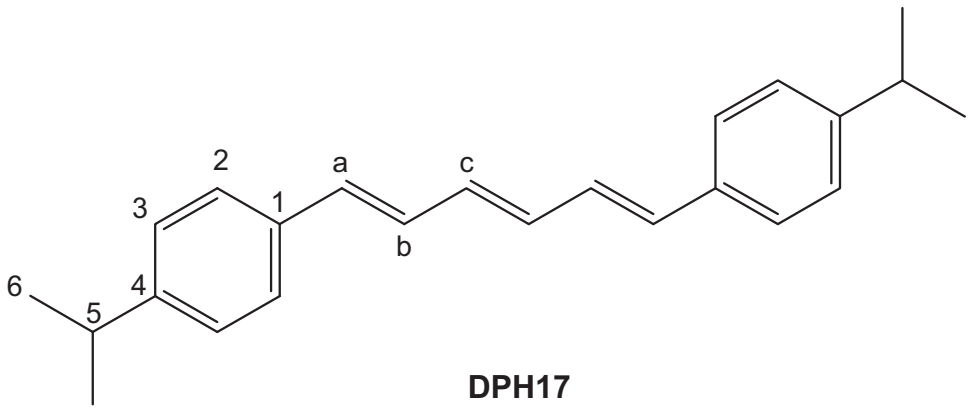


Abbildung 6.171: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH16**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3010 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2856 (CH_3-Valenzschwingung), 1600 (C=C-Valenzschwingung), 1483 (aromatische Ringschwingung), 1514 (CH_3-Deformationsschwingung), 1105 (C-N-Valenzschwingung), 989 (C-H-Deformationsschwingung), 804 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aromats) cm^{-1}.

Versuch 46: 1,6-Bis-(4-isopropylphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH17)



DPH17

1.49 g (4.54 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.26 g (6.4 mmol) 60%iges Natriumhydrid in Tetrahydrofuran p.a. werden 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 2.01 g (13.6 mmol) 4-Isopropylbenzaldehyd (**215**) in Tetrahydrofuran p.a. werden zugetropft. Nach 0.5 h werden 0.26 g (6.4 mmol) 60%igem

Natriumhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch 22 h bei Raumtemperatur gerührt.

Das Reaktionsgemisch wird mit 30 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml techn. Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck eingeengt. Der Rückstand wird mit techn. Ethanol versetzt. Das ausfallende Produkt **DPH17** wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet wird.

$C_{24}H_{28}$ (M = 316.48 g/mol)

Ausbeute: 410 mg (1.30 mmol, 29 %) **DPH17**

Schmelzpunkt: 163 °C

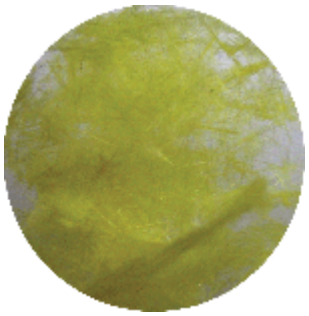


Abbildung 6.172: DPH17 in Form kristalliner Nadeln.

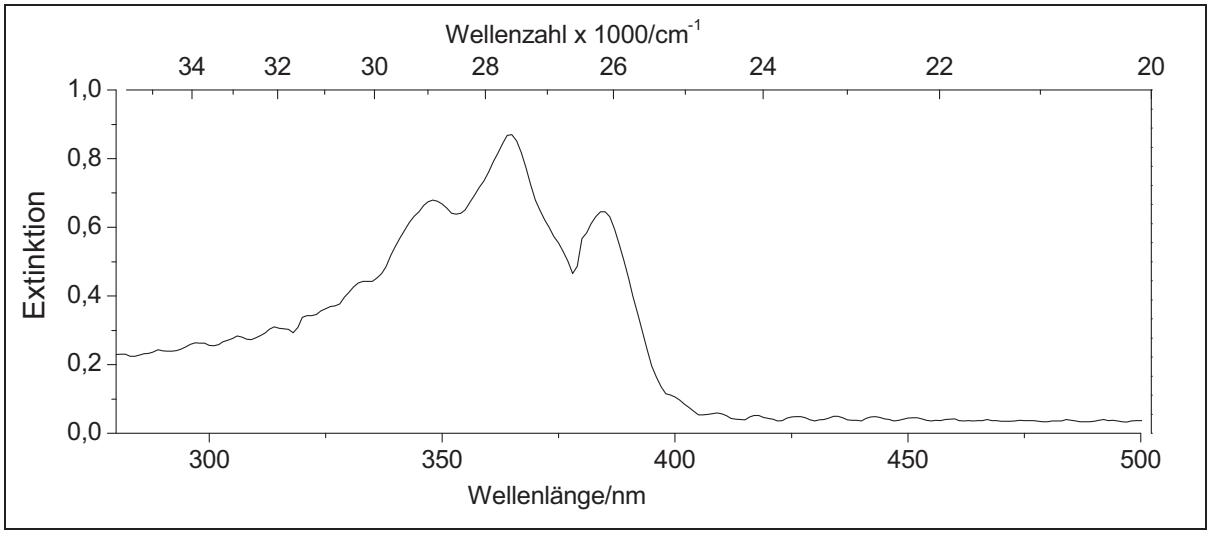


Abbildung 6.173: UV-Vis-Spektrum von **DPH17** in Chloroform (c = 65.7 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Chloroform):[183, 190]*

λ_{max} (ε_{max}) = 348 (20700 (l/mol)*cm^{-1}), 365 (26500 (l/mol)*cm^{-1}), 385 (19700 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

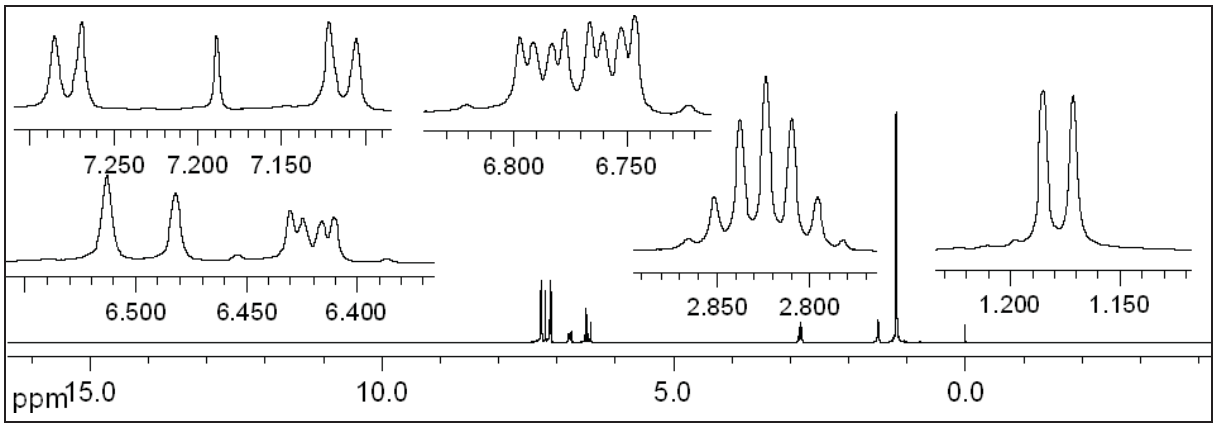


Abbildung 6.174: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **DPH17**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.28 (m, 4 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3}J_{23}$ + $^{5}J_{23}$= 8.1 Hz, H-2), 7.11 (m, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3}J_{32}$ + $^{5}J_{32}$ = 8.1 Hz, H-3), 6.77▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.4 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.0 Hz, H-b), 6.50▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ac}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.42▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{ca}$ = 6.9 Hz, $^{4}J_{ca}$ = 2.7 Hz, H-c), 2.82 (sept, 2 H, $^{3}J_{56}$ = 6.9 Hz, H-5), 1.18 (d, 12 H, $^{3}J_{65}$ = 6.9 Hz, H-6/7) ppm.

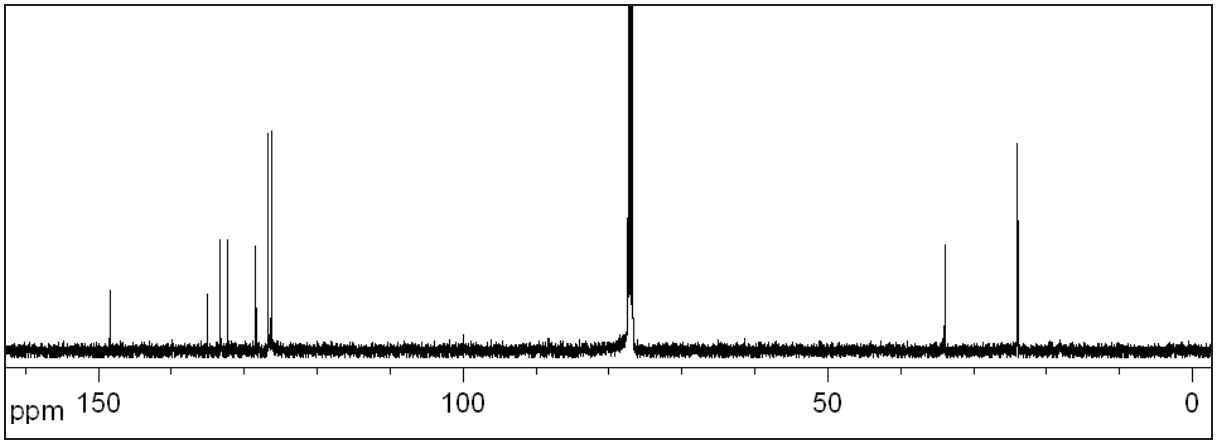


Abbildung 6.175: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (74 MHz, $CDCl_3$), **DPH17**.

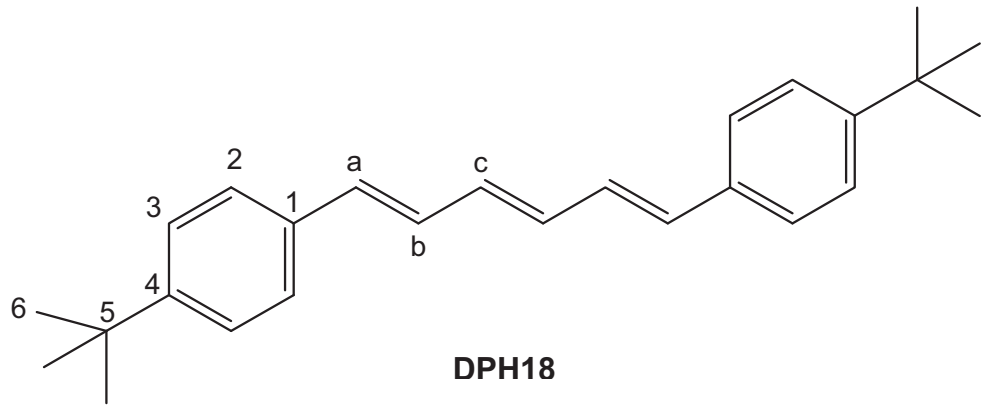
^{13}C-{^{1}H}-NMR (74 MHz, $CDCl_3$):

δ = 148.4 (s; C-4), 135.1 (s, C-1), 133.3 (s, C-c), 132.3 (s, C-a), 128.4 (s, C-b), 126.7 und 126.3 (2 s, C-2 und C-3), 33.9 (s, C-5), 23.9 (s, C-6) ppm.

MS (70 eV):

m/z = 317 (M^++1, 25 %), 316 (M^+, 100 %), 273 (M-iPr, 18 %), 231 (M-2iPr, 33 %), 153 (-$CH_2C_6H_4$-iPr, 59 %).

Versuch 47: 1,6-Bis-(4-*tert*-butylphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH18)



DPH18

1.50 g (4.57 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.28 g (7.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran ¾ h bei Raumtemperatur gerührt. 1.69 g (10.4 mmol) 4-*tert*-Butylbenzaldehyd (**216**) werden zugegeben. Nach 0.5 h werden 0.30 g (7.5 mmol) 60%igem Natriumhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 50 ml techn. Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand mit technischem Hexan versetzt, um überschüssigen Aldehyd **216** zu lösen. Das Produkt **DPH18** wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_{26}H_{32}N_2$ (M = 344.53 g/mol)

Ausbeute: 549 mg (1.59 mmol, 34 %) **DPH18**

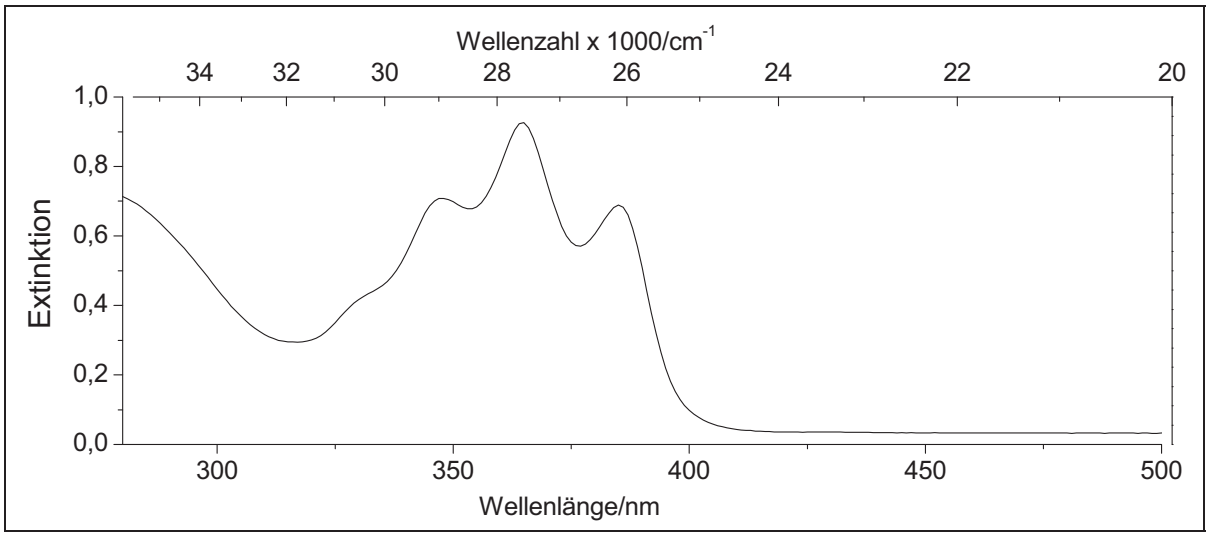


Abbildung 6.176: UV-Vis-Spektrum von **DPH18** in Chloroform (c = 52.2 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 349 (65700 (l/mol)*cm^{-1}), 365 (85600 (l/mol)*cm^{-1}), 385 (64400 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

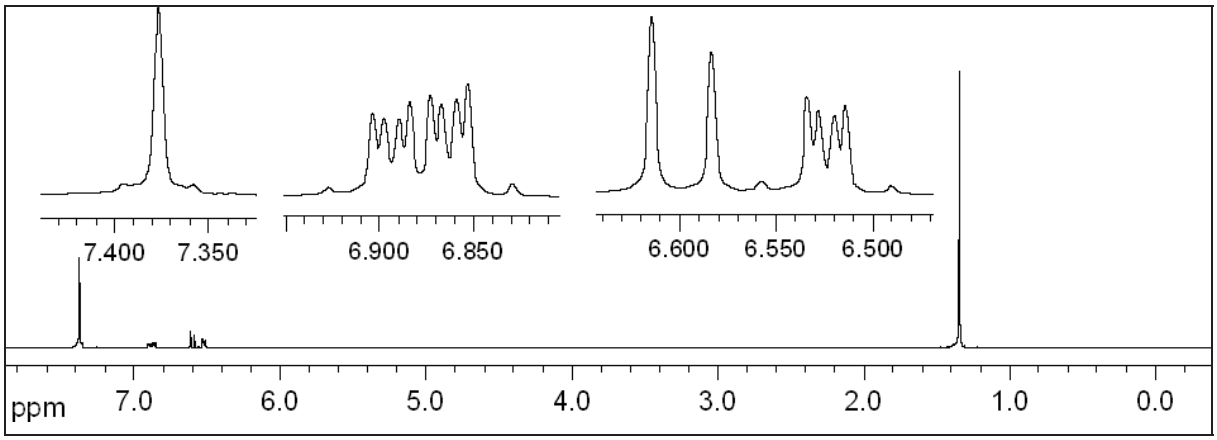


Abbildung 6.177: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH18**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.34-7.42 (m, 8 H, A- und B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2 und H-3), 6.88▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.0 Hz, H-b), 6.60▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.52▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c), 1.35 (s, 18 H, H-6) ppm.

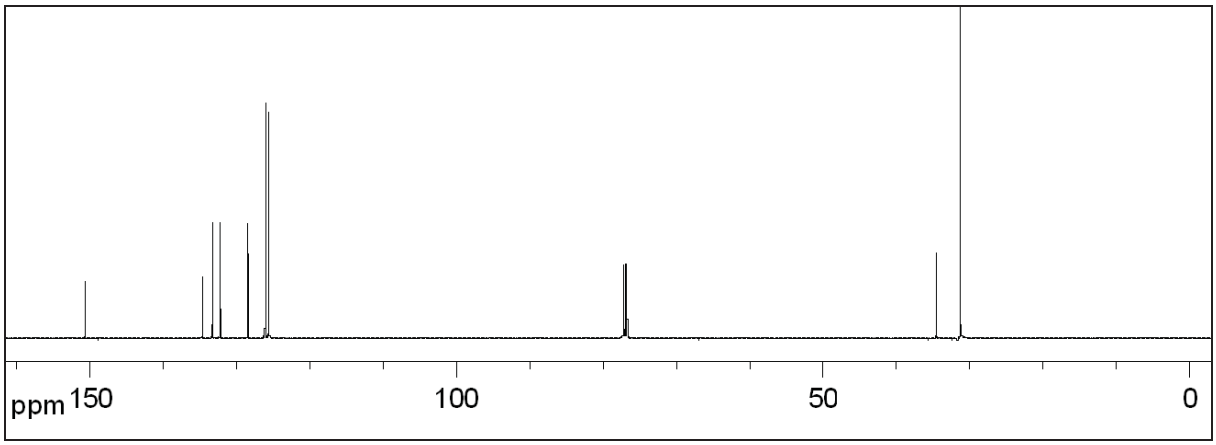


Abbildung 6.178: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH18**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 150.6 (s, C-4), 134.7 (s, C-1), 133.3 (s, C-c), 132.3 (s, C-a), 128.5 (s, C-b), 126.1 (s, C-2), 125.6 (s, C-3), 34.4 (s, C-5), 31.6 (s, C-6) ppm.

MS (70 eV):

m/z = 345 (M^++1, 27 %), 344 (M^+, 100 %), 329 (M^+-CH_3, 16 %), 287 (M^+-*t*Bu, 5 %), 231 (M^+-2*t*Bu, 8 %), 197 (M^+-CH_2-C_6H_4-*t*Bu, 7 %), 147 (-CH_2-C_6H_4-*t*Bu, 32 %), 57 (-*t*Bu, 69 %).

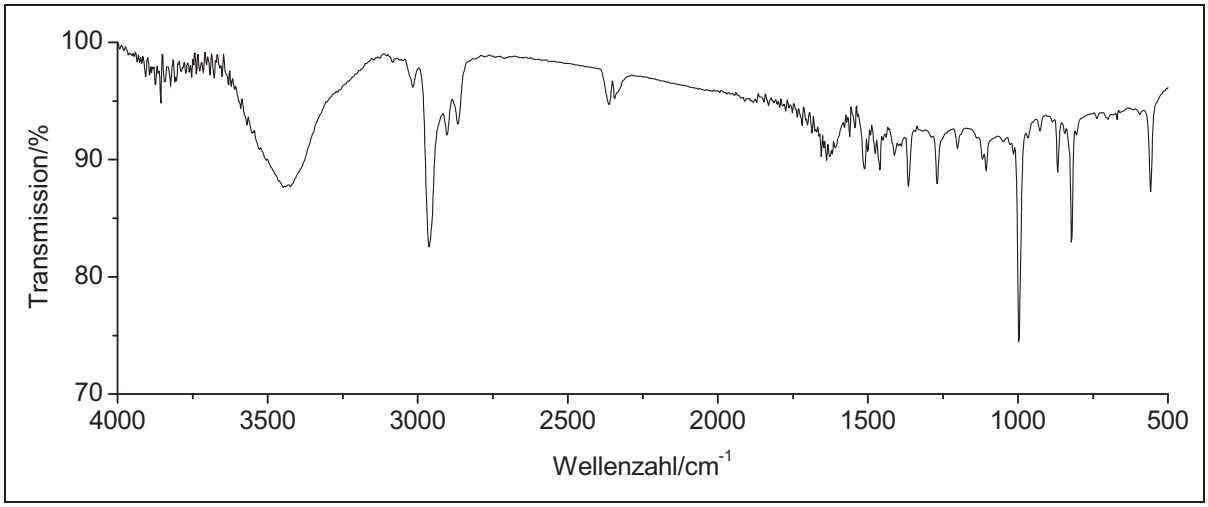
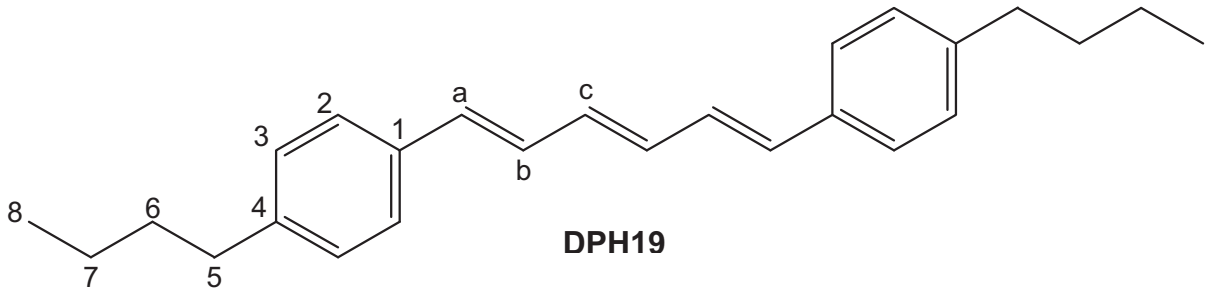


Abbildung 6.179: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH18**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 23017 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2961, 2902 und 2866 (C-H Valenzschwingung), 1606 und 1513 (C=C-Valenzschwingung), 1460 (C-H-Deformationsschwingung), 1365 (C-H symmetrische Deformationsschwingung), 996 (C=C-Deformationsschwingung), 820 (C=C-Valenzschwingung eines 1,4-disubstituierten Aromaten) cm^{1}.

Versuch 48: 1,6-Bis-(4-butylphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH19)



DPH19

Zu einer Suspension von 0.50 g (13 mmol) 60%igem Natriumhydrid in abs. Tetrahydrofuran werden 3.6 g (11 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylphosphonat) (**105**) in abs. Tetrahydrofuran unter Rühren zugetropft. Nach 30 min werden 5.0 g (15mmol) 4-Butylbenzaldehyd (**217**) in abs. Tetrahydrofuran zugetropft. Man rührt für weitere 30 min und gibt erneut 0.5 g (13 mmol) 60%iges Natriumhydrid in abs. Tetrahydrofuran zu. Das Reaktionsgemisch wird für 40 h g bei Raumtemperatur gerührt.
Die Reaktionslösung wird mit 100 ml gesättigter Natriumchloridlösung hydrolisiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 50 ml eines Gemisches von Tetrahydrofuran/Diethylether (3/1) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit jeweils 50 ml halbkonzentrierter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält eine hochviskose Flüssigkeit, welche in *n*-Hexan gegeben wird und über Nacht in der Kälte auskristallisiert. Die erhaltenen Kristalle werden in Ethanol für 1 h zum Rückfluss erhitzt. Das Produkt **DPH19** wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

$C_{26}H_{32}$ (M = 344.53 g/mol)

Ausbeute: 0.75 g (2.2 mmol, 20 %) **DPH19**

Schmelzpunkt: 152 °C

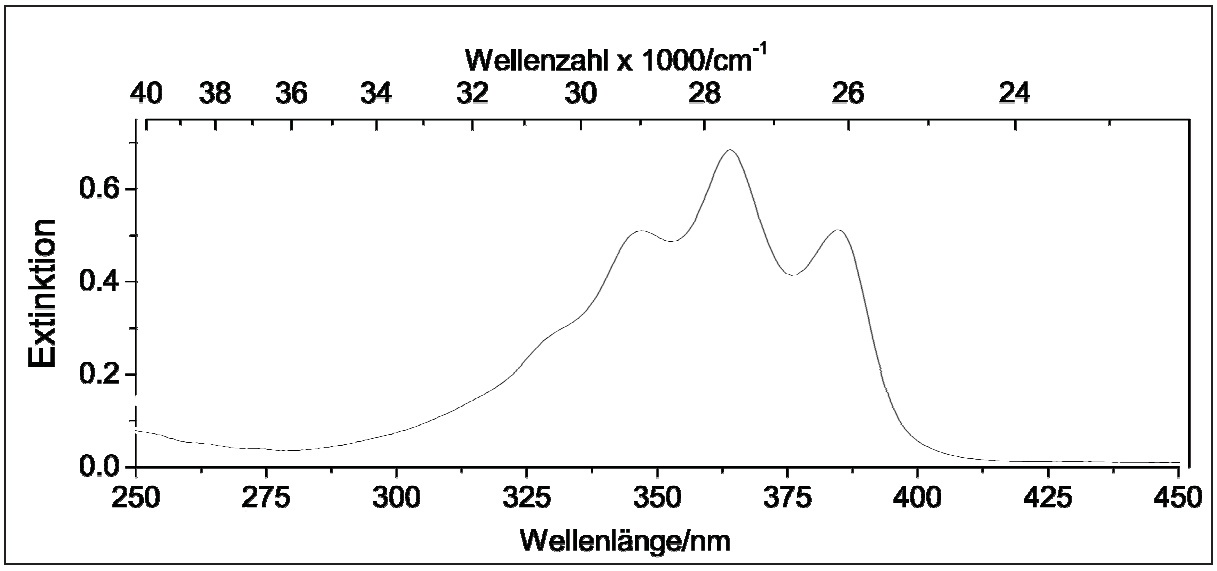


Abbildung 6.180: UV-Vis-Spektrum von **DPH19** in Dichlormethan (c = 103 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis(Dichlormethan):

λ_{max} (ε_{max}) = 347 (9800 l/(mol*cm)), 364 (13110 l/(mol*cm)), 384 (9840 l/(mol*cm)) nm.

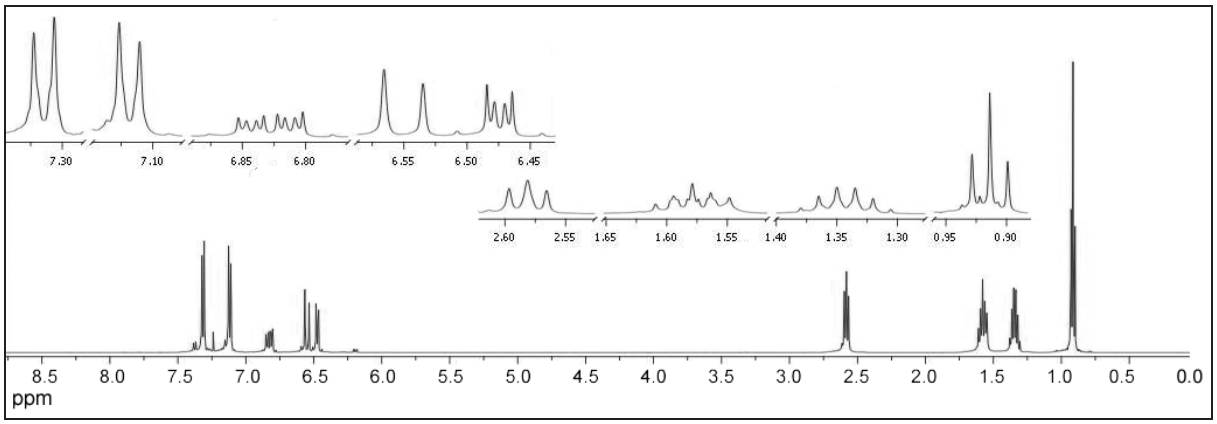


Abbildung 6.181: ^{1}H-NMR (500 MHzCDCl$_3$), **DPH19**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.30-7.33 (m, 4 H, A-Teil von $[AB]_2$-System, H-2), 7.10-7.14 (m, 4 H, B- Teil von $[AB]_2$-System, H-3), 6.83▲ (ddd, 2 H, $^4J_{bc}$= 3.1 Hz, $^3J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^3J_{ba}$ = 15.5 Hz, H-b), 6.55▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.4 Hz, H-a), 6.47▲ (dd, 2 H, $^4J_{cb}$ = 3.0 Hz, $^3J_{cb}$ = 7.0 Hz, H-c), 2.58 (t, 4 H, $^3J_{56}$ = 7.7 Hz, H-5), 1.58 (dt, 4 H, $^3J_{65}$ und $^3J_{67}$ = 7.6 Hz, H-6), 1.34 (tt, 4 H, $^3J_{76}$ und $^3J_{78}$ = 7.4 Hz, H-7), 0.91 (t, 6 H, $^3J_{87}$ = 7.4 Hz, H-8) ppm.

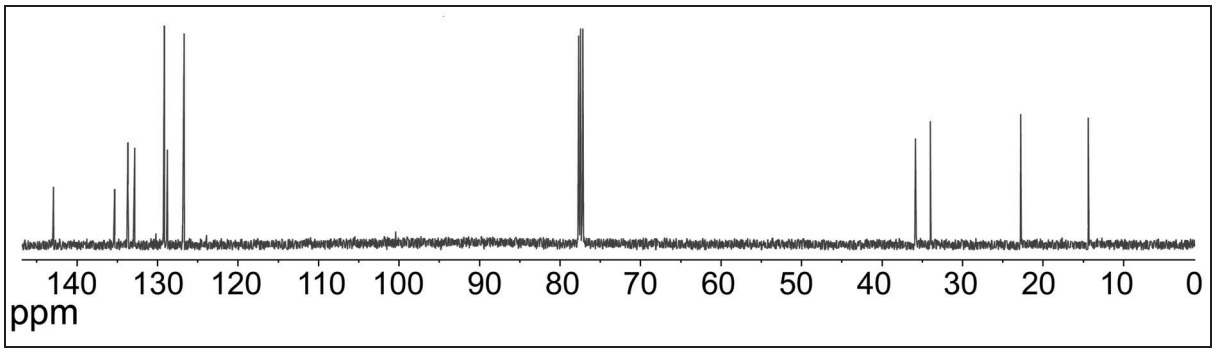


Abbildung 6.182: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH19**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 142.9 (s, C-4), 135.3 (s, C-1), 133.7 (s, C-c), 132.8 (s, C-a), 129.2 (s, C-2), 128.8 (s, C-b), 126.7 (s, C-3), 35.8 (s, C-5), 34.0 (s, C-6), 22.8 (s, C-7), 14.4 (s, C-8) ppm.

MS (70 eV, EI):

m/z = 344 ($M^{+\bullet}$, 13 %), 345 ($M^{+\bullet}$+1, 2 %), 343 ($M^{+\bullet}$-1, 1 %), 287 (3 %), 231 (7 %), 147 (66 %), 117 (22 %), 91 (100 %), 57 (61 %), 41 (41 %).

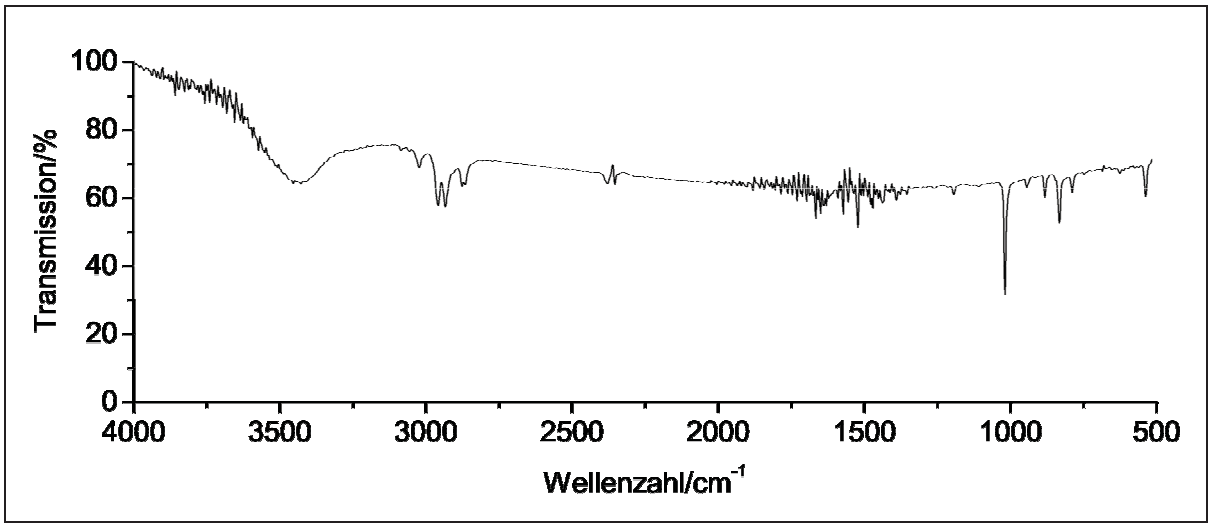
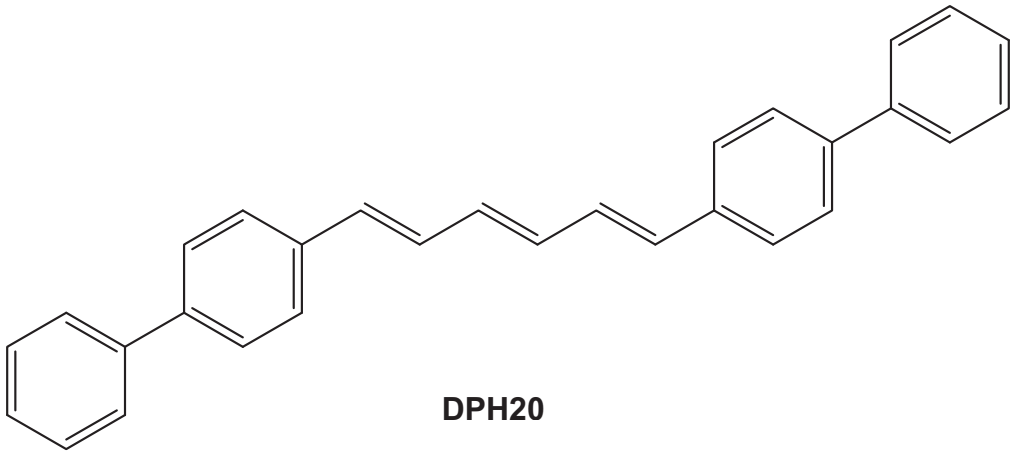


Abbildung 6.183: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH19**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3018 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2954 und 2870 (CH_3-Valenzschwingung), 2927 & 2870 (CH_2-Valenzschwingung) 1654 (C=C-Valenzschwingung), 1510 (aromatische Ringschwingung), 1458 und 817 (C-H-Deformationsschwingung (aromatisch)), 1180 und 1004 (aromatische Beugungsschwingung in der Ebene) cm^{-1}.

Versuch 49: 1,6-Di(biphenyl-4-yl)hexa-1,3,5-trien (DPH20)



DPH20

In einem Kolben werden 0.500 g (12.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid in abs. Tetrahydrofuran vorgelegt und 3.60 g (11.0 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylphosphonat) (**105**) in abs. Tetrahydrofuran zugetropft und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 5.00 g (27.5 mmol) Biphenyl-4-carbaldehyd (**218**) werden hinzugegeben und die Lösung wird für weitere 40 min gerührt. Weitere 0.500 g (12.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden zugegeben und die Reaktionsmischung für 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 100 ml gesättigter Natriumchlorid-Lösung hydrolisiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit einem Gemisch aus Tetrahydrofuran/Diethylether (3/1) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit halbkonzentrierter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

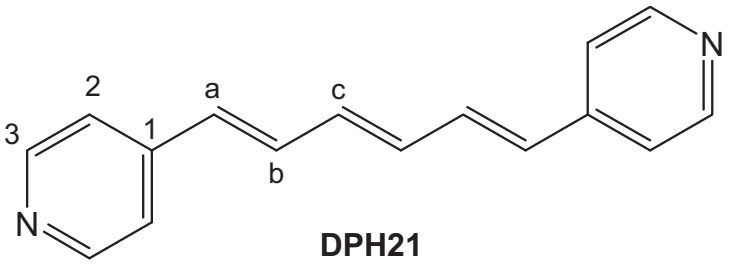
Das erhaltene Rohprodukt **DPH20** wird in Ethanol für 1 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit einem Gemisch von *n*-Hexan/Ethylacetat (4/1) gereinigt. Der Feststoff ist nicht ausreichend rein und wurde aus zeitlichen Gründen auch nicht weiter aufgereinigt.

$C_{30}H_{24}$ (M = 384.51 g/mol)

MS (70 eV, EI):

m/z = 384 ($M^{+\bullet}$, 13 %), 385 ($M^{+\bullet}$+1, 2 %), 230 (1 %), 218 (4 %), 205 (4 %), 192 (4 %), 179 (5 %), 166 (5 %), 153 (8 %), 128 (3 %), 115 (7 %), 77 (5 %).

Versuch 50: 1,6-Di(pyridin-4-yl)hexa-1,3,5-trien (DPH21)



DPH21

1.50 g (4.57 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.20 g (5.00 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 1/2 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.08 g (10.1mmol) 4-Pyridincarbaldehyd (**219**) in 20 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 1/2 h bei Raumtemperatur werden 0.40 (10.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird 100 ml destilliertem Wasser hydroysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand mit wenig eiskaltem Aceton versetzt. Der ausfallende Feststoff wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_{16}H_{14}N_2$ (M = 234.30 g/mol)

Ausbeute: 268 mg (1.14 µmol, 25 %) **DPH21** **Lit**: 15 %[194]

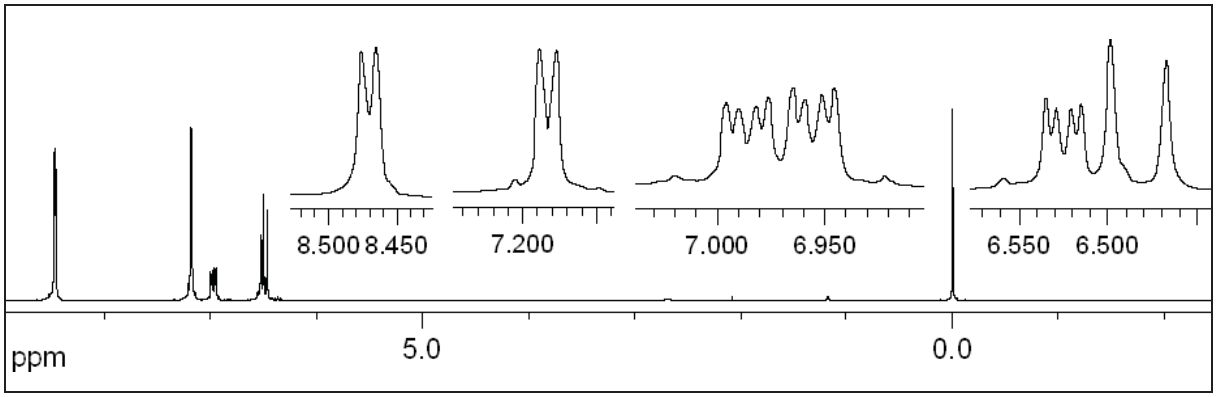


Abbildung 6.184: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH21**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.47 (d, 4 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 5.4 Hz, H-3), 7.18 (d, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 5.6 Hz, H-2) 6.97▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.6 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 2.9Hz, H-b), 6.53▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 6.9 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.7 Hz, H-c), 6.48▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a) ppm.

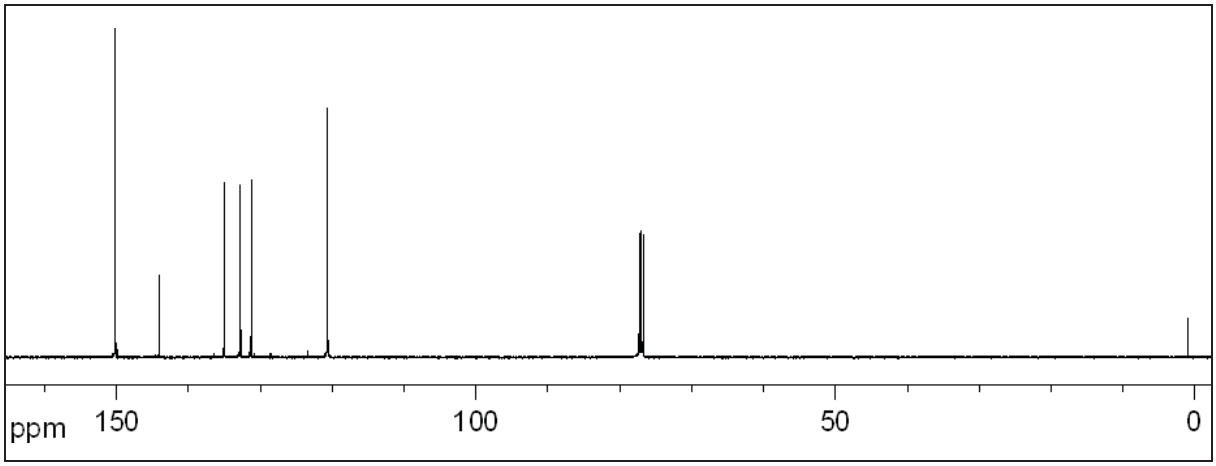
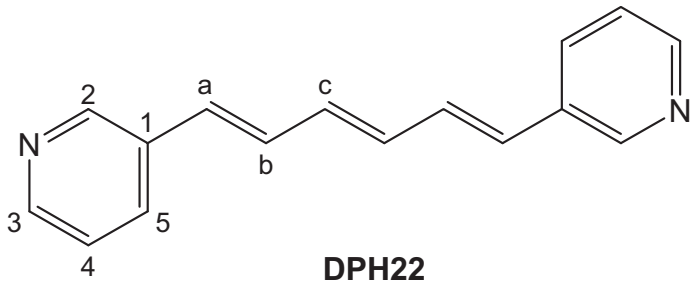


Abbildung 6.185: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH21**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 150.1 (s, C-3), 144.1 (s, C-1), 134.9 (s, C-c), 132.8 (s, C-a), 131.2 (s, C-b), 120.6 (s, C-2) ppm.

Versuch 51: 1,6-Di(pyridin-3-yl)hexa-1,3,5-trien (DPH22)



DPH22

1.63 g (4.97 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.44 g (11.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.39 g (13.0 mmol) 3-Pyridincarbaldehyd (**220**) in 20 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 6 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 75 ml eines 0.2 M Natriumhydrogenphosphat/Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer hydroysiert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird mit Ethanol versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt **DPH22** wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_{16}H_{14}N_2$ (M = 234.30 g/mol)

Ausbeute: 190 mg (811 µmol, 16 %) **DPH22**

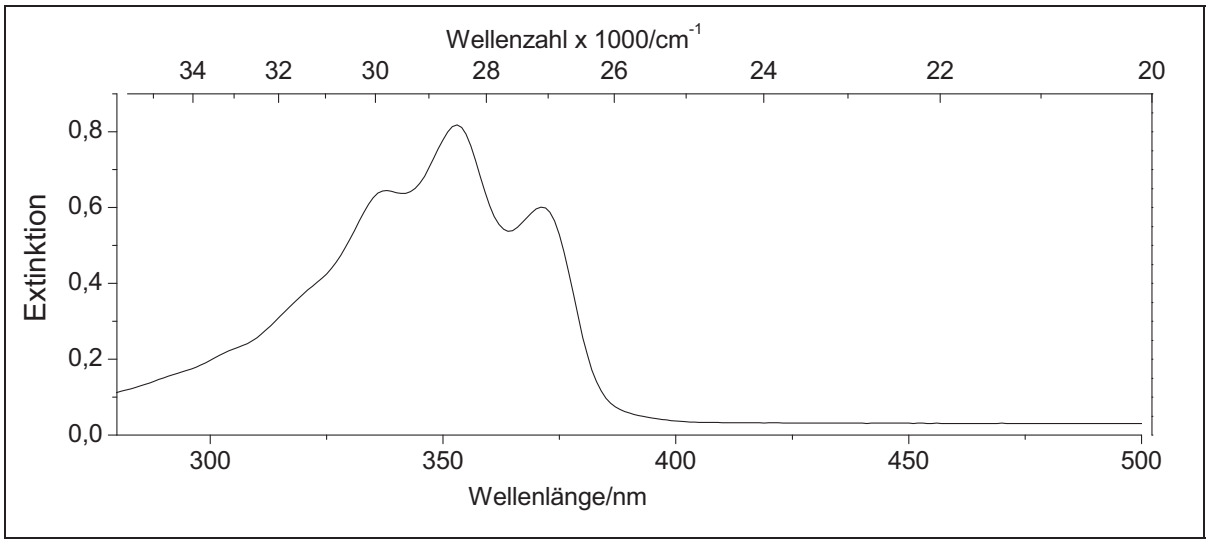


Abbildung 6.186: UV-Vis-Spektrum von **DPH22** in Cyclohexan (c = 52.9 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Cyclohexan):[195, 196]*

λ_{max} (ε_{max}) = 338 (60900 (l/mol)*cm^{-1}), 353 (77300 (l/mol)*cm^{-1}), 371 (56800 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

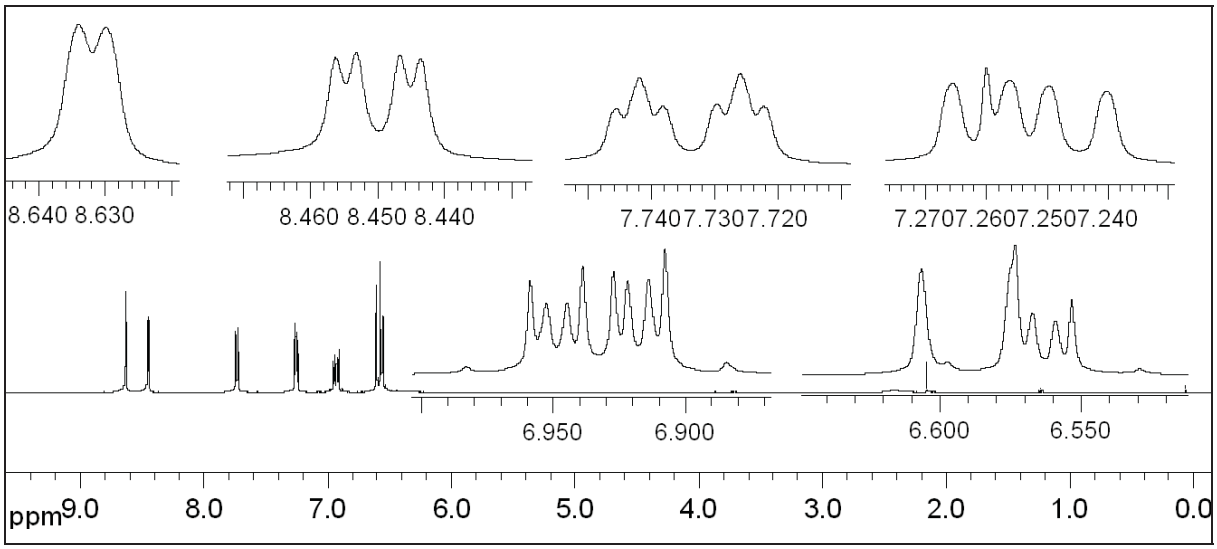


Abbildung 6.187: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH22**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.63 (d, 2 H, $^{3}J_{25}$ = 2.1 Hz, H-2), 8.45 (dd, 2 H, $^{4}J_{32}$ = 1.5 Hz, $^{3}J_{35}$ = 6.0 Hz, H-3), 7.73 (ddd, 2 H, $^{3}J_{52}$ = 1.9 Hz, $^{3}J_{53}$ = 1.9 Hz, $^{3}J_{54}$ = 8.0 Hz, H-5), 7.25 (dd, 2 H, $^{3}J_{45}$ = 4.7 Hz, $^{3}J_{43}$ = 8.0 Hz, H-4), 6.93▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.6 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.59▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a), 6.93▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, H-c) ppm.

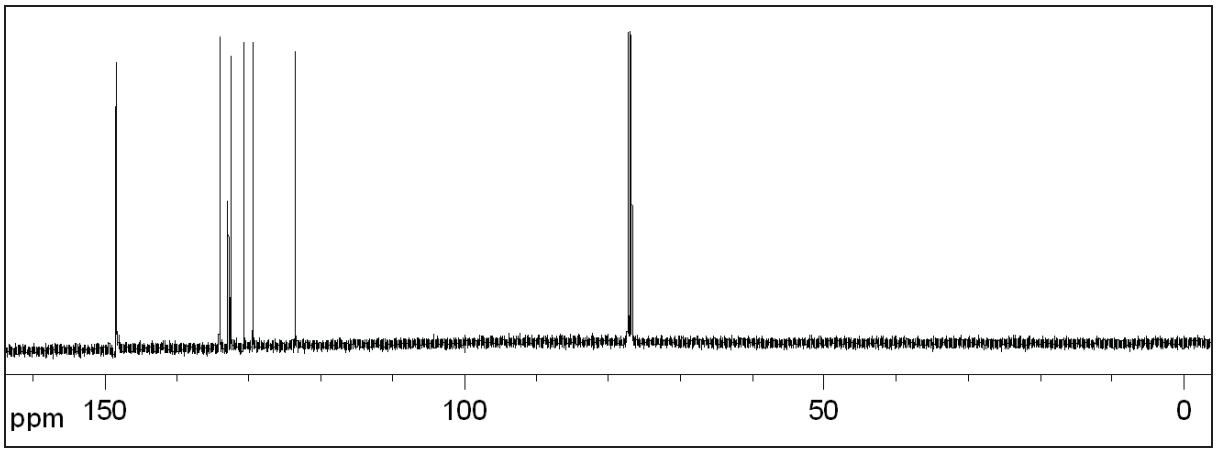


Abbildung 6.188: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH22**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 148.4 (s, C-3), 148.3 (s, C-2), 134.1 (s, C-c), 132.8 (s, C-1), 132.5 (s, C-5), 130.7 (s, C-b), 129.4 (s, C-a), 123.5 (s, C-4) ppm.

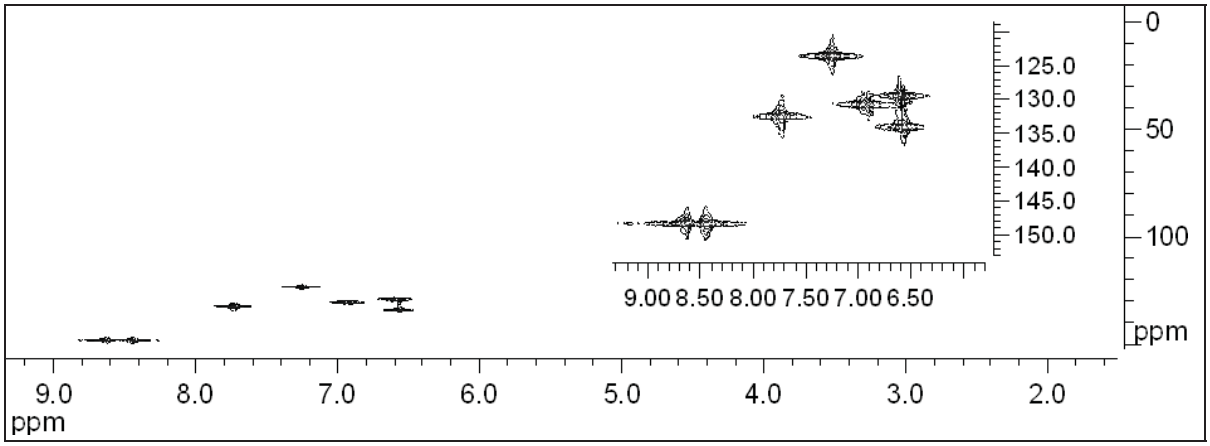


Abbildung 6.189: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **DPH22**.

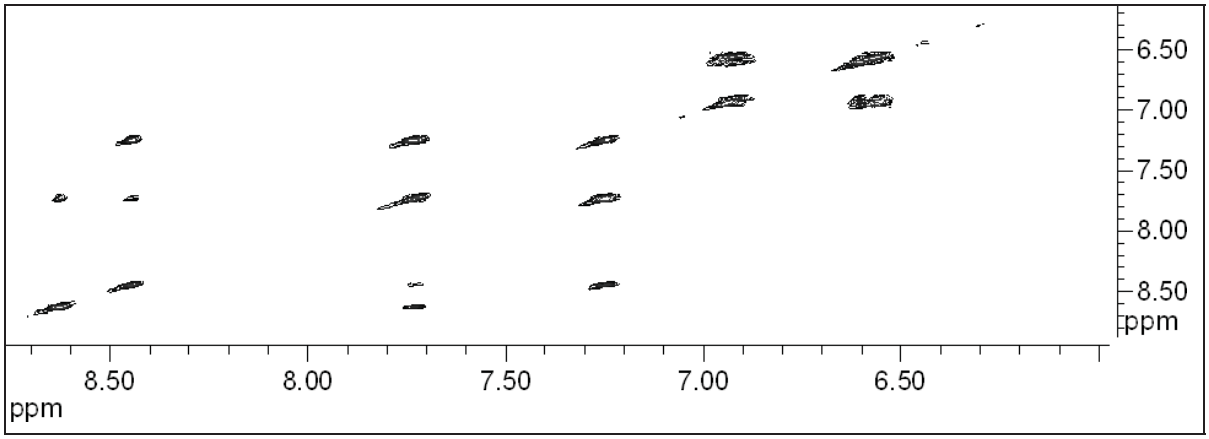


Abbildung 6.190: COSY (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH22**.

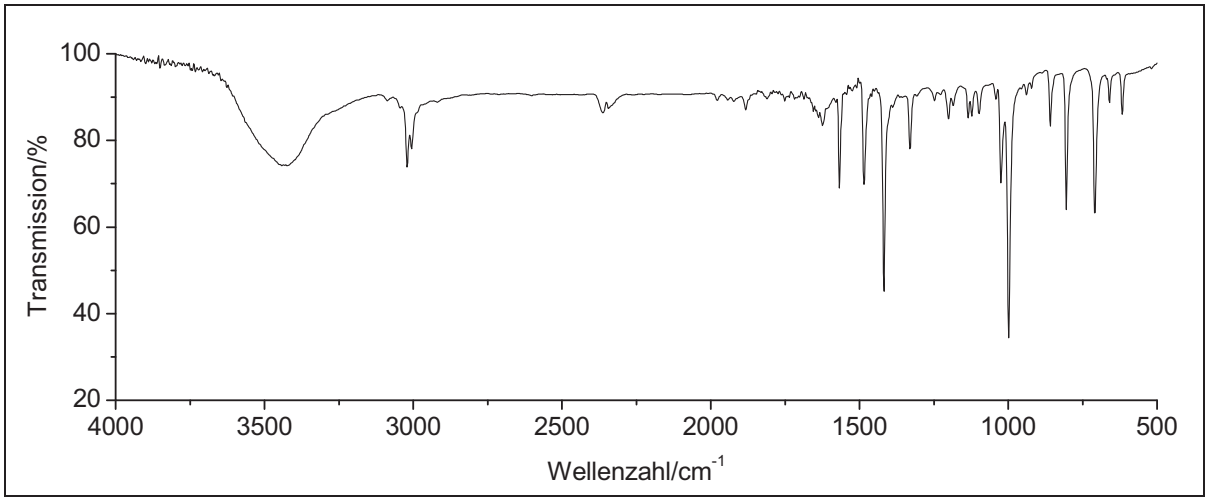
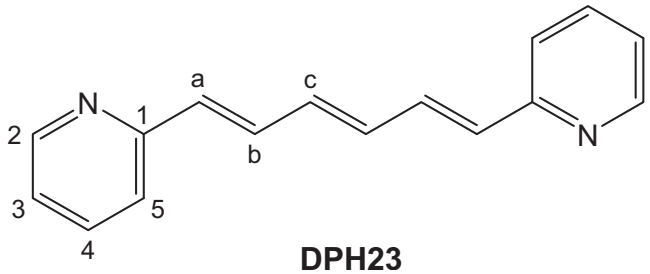


Abbildung 6.191: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH22**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3020 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1624, 1568, 1485 und 1418 (C=C-Valenzschwingung), 1330 (C-H-Deformationsschwingung), 999 (C=C-Deformationsschwingung), 805 und 709 (C=C-Valenzschwingung eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 52: 1,6-Di(pyridin-2-yl)hexa-1,3,5-trien (DPH23)



DPH23

1.53 g (4.66 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.36 g (9.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.17 g (10.9 mmol) 2-Pyridincarbaldehyd (**221**) in 10 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 1 h werden 0.38 g (9.5 mmol) 60%igem Natriumhydrid und 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 6 d bei Raumtemperatur gerührt.
Die Reaktion wird mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Das Reaktionsgemisch wird viermal mit je 100 ml techn. Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden einmal mit 250 ml destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{16}H_{14}N_2$ (M = 234.30 g/mol)

Ausbeute: 229 mg (977 µmol, 21 %) **DPH23** **Lit**: 17 %[194]

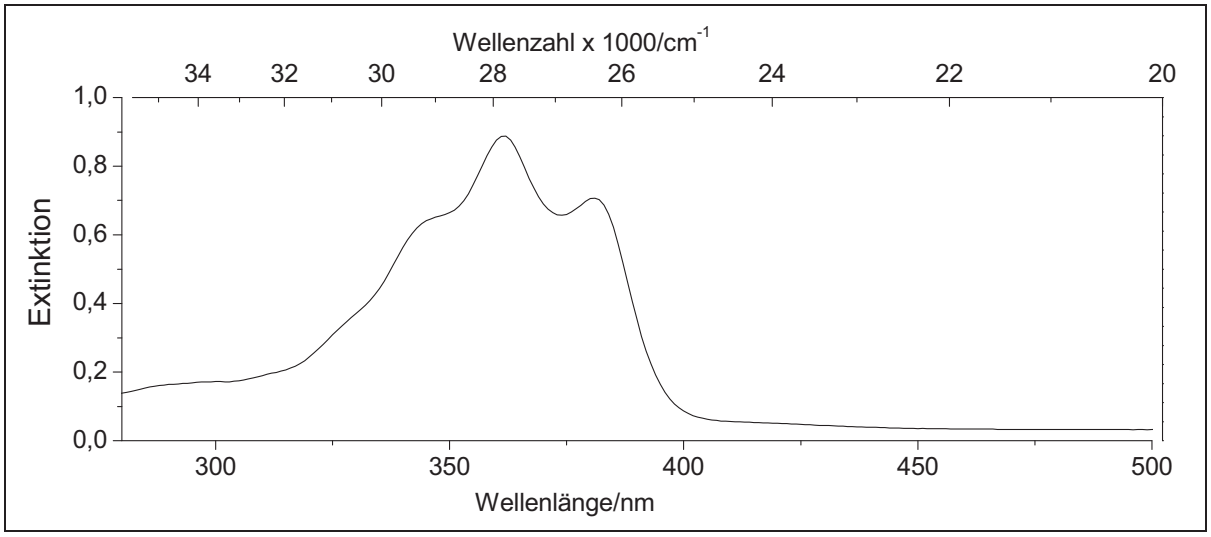


Abbildung 6.192: UV-Vis-Spektrum von **DPH23** in Chloroform (c = 13.8 µmol/l, d = 1 cm).

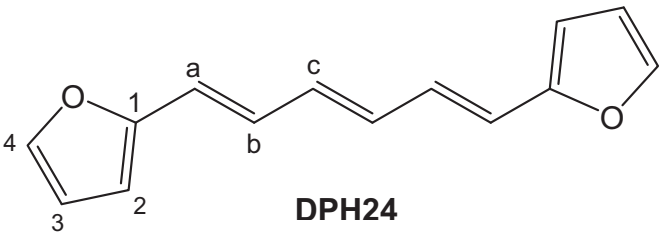
UV-Vis(Chloroform):[196]*

λ_{max} (ε_{max}) = 362 (64300 (l/mol)*cm^{-1}), 381 (51200 (l/mol)*cm$^{-1)}$ nm.

MS (70 eV):

m/z = 234 (M^++1, 18 %), 233 (M^+, 100 %), 156 (M^+ -C_5H_4N, 53 %), 130 (M^+-C_2H_2-C_5H_4N, 35 %), 118 (M^+/2, 27 %), 78 (-C_5H_4N, 18 %).

Versuch 53: 1,6-Bis(2-furanyl)hexa-1,3,5-trien (DPH24)



DPH24

1.55 g (4.72 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 25 ml abs. Tetrahydrofuran 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 1.00 g (10.4 mmol) Furaldehyd (**222**) werden zugetropft und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe weiterer 0.30 g (7.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionsmischung wird mit 200 ml hydrolysiert. Das Rohprodukt **DPH24** setzt sich als gelber Niederschlag ab, wird abfiltriert und aus Ethanol/Wasser umkristallisiert.

$C_{14}H_{12}O_2$ (M = 212.24 g/mol)

Ausbeute: 83 mg (0.39 mmol, 8 %) **DPH24**

Schmelzpunkt: > 300°C

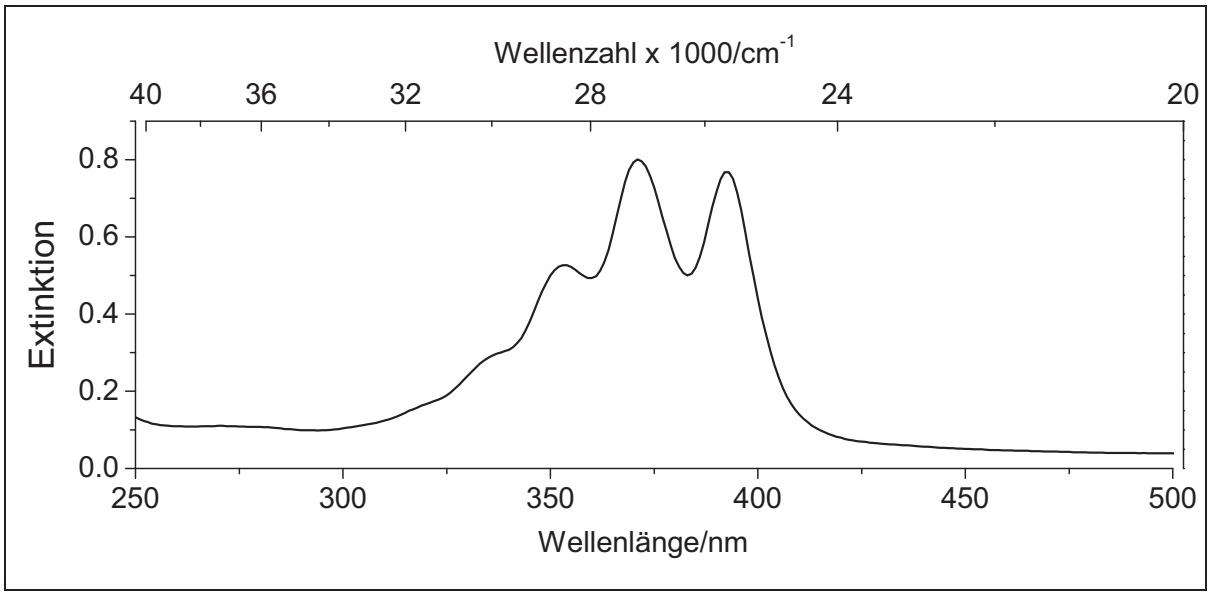


Abbildung 6.193: UV-Vis-Spektrum von **DPH24** in Chloroform (c = 203 µmol/l, d = 0.1 cm).

UV-Vis(Chloroform):[197]*

λ_{max} (ε_{max}) = 353 (26000 (l/mol)*cm^{-1}), 371 (39500 (l/mol)*cm^{-1}), 393 (37900 (l/mol)*cm^{-1}), nm.

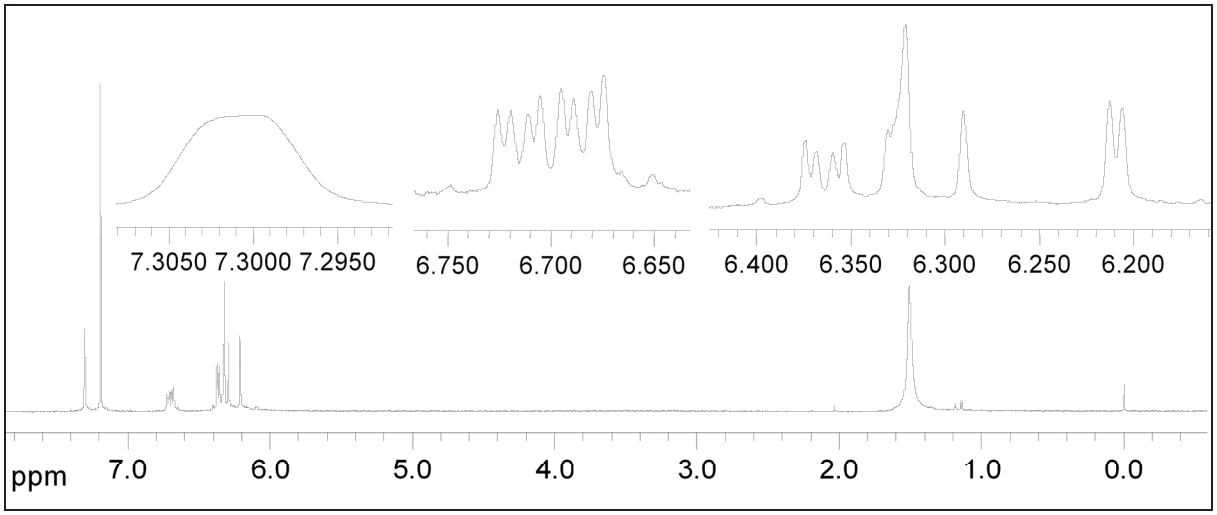


Abbildung 6.194: ^{1}H-NMR (500 MHzCDCl$_3$), **DPH24**.

^{1}H-NMR (500 MHz, CDCl$_3$):[197]*

δ = 7.30 (d, $^{3}J_{43}$ = 1.8 Hz, 2 H, H-4), 6.70▲ (ddd, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.3 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, 2 H, H-b), 6.36▲ (dd, $^{3}J_{cb}$ = 7.3 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 3.0 Hz, 2 H, H-c), 6.32-6.34 (teilverdecktes dd, $^{3}J_{32}$ = 3.3 Hz, $^{3}J_{34}$ = 1.5 Hz, 2H, H-3), 6.31▲ (d, $^{3}J_{ab}$ = 15.4 Hz, 2 H, H-a), 6.21 (d, $^{3}J_{23}$ = 3.3 Hz, 2 H, H-2) ppm.

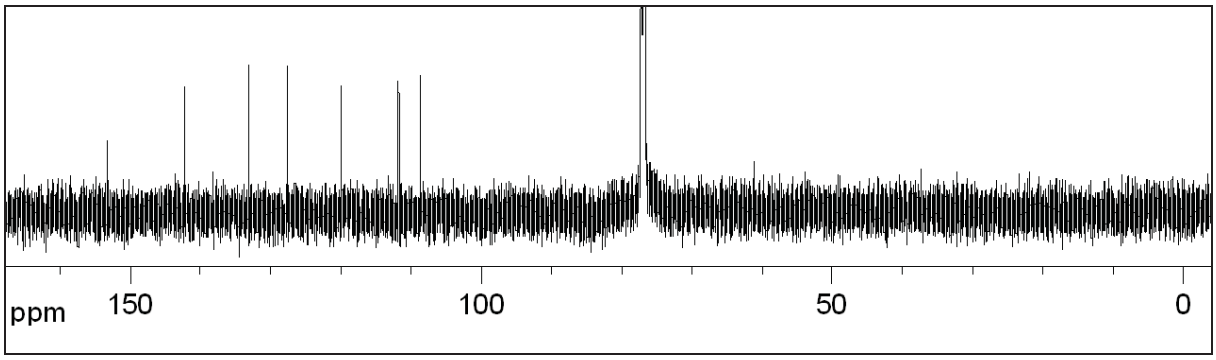


Abbildung 6.195: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH24**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 153.4 (s, C-1), 142.2 (s, C-4), 133.2 (s, C-b), 127.7 (s, C-c), 119.9 (s, C-a), 111.8 (s, C-2), 108.6 (s, C-3) ppm.

MS (70 eV, GC/MS [RT = 9.24 min]):

m/z = 213 ($M^{+\bullet}$+1, 20 %), 212 ($M^{+\bullet}$, 100 %), 211 ($M^{+\bullet}$-1, 6 %), 184 (5 %), 183 (17 %), 169 (5 %), 156 (5 %), 132 (4 %), 131 (30 %), 118 (3 %), 106 (13 %), 92 (2 %), 81 (22 %), 77 (8 %), 52 (2 %), 51 (4 %), 40 (2).

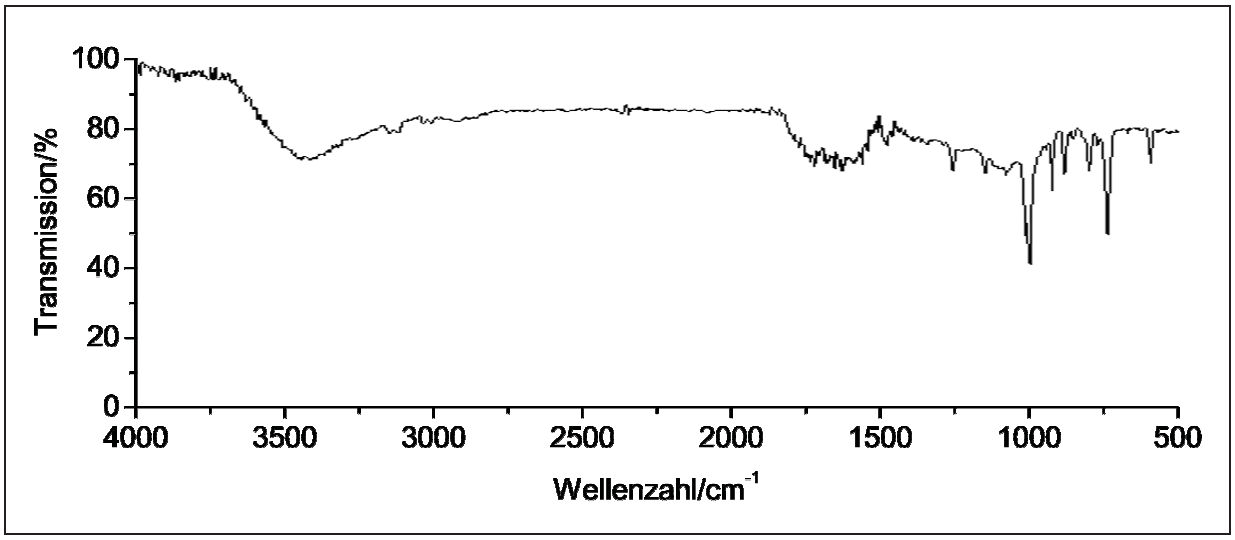
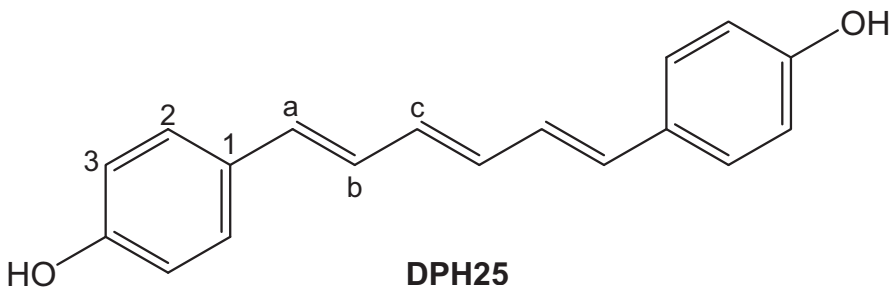


Abbildung 6.196: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **DPH24**.

IR (KBr):[197]*

$\tilde{\nu}$ = 3117 (Aryl-H-Valenzschwingung), 1626 (C=C-Valenzschwingung), 1255 und 923 (C-O-C-Valenzschwingung), 997 (C-H-Deformationsschwingung) cm^{-1}.

Versuch 54: 4,4'-(Hexa-1,3,5-triene-1,6-diyl)diphenol (DPH25)



DPH25

5.00 g (40.9 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**), 10.1 g (13.7 mmol) But-2-en-1,4-diylbis[(triphenylphosphonium)-bromid] (**106**), 150 ml 3M Natriumcarbonatlösung und 150 ml Ethylacetat werden 30 min mit Ultraschallbad behandelt.

Das Mehrphasengemisch wird mit 200 ml Wasser versetzt, um ausgefallenes Salz zu lösen. Die Reaktionsmischung wird über eine Glasfritte filtriert. Die wässrige Phase wird mit Salzsäure auf pH 5 gebracht und zweimal mit je 200 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird auf Kieselgel 60 aufgetragen. Die Filtersäule wird zunächst mit Methylenchlorid gespült. Der Rückstand wird mit Diethylether von der Säule gewaschen und säulenchromatisch mit Diethylether über Kieselgel 60 gereinigt.

Die erste Säulenfraktion enthält als Hauptkomponente 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) und Spuren des gewünschten Produkts **DPH25**.

$C_{18}H_{16}O_2$ (M = 264.32 g/mol)

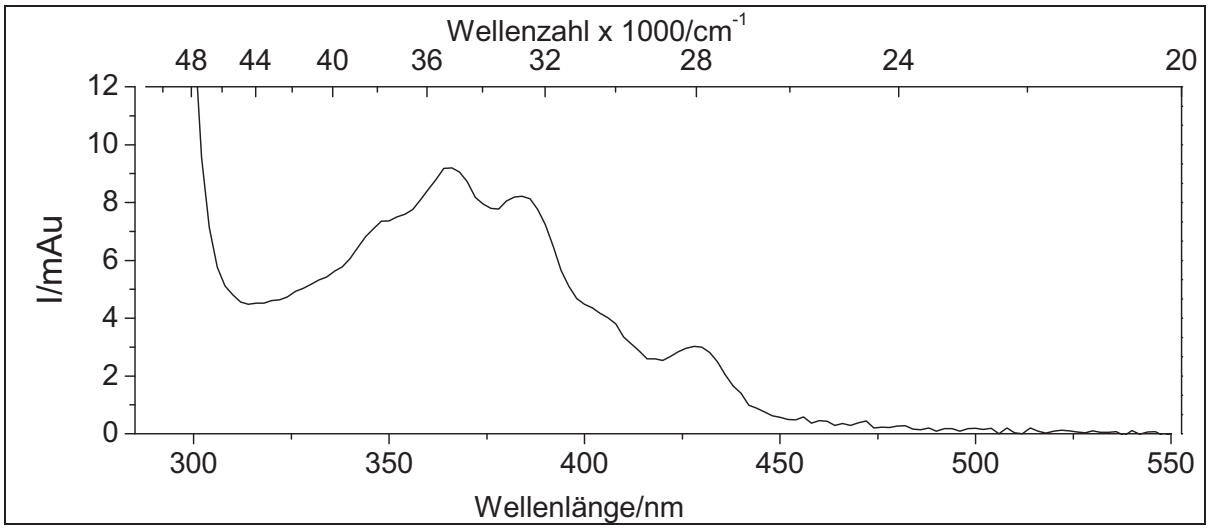


Abbildung 6.197: UV-Vis-Spektrum in Ethylacetatl, 0.1 ml/min; t_R = 6.3 min, **DPH25**.

UV-Vis(Ethylacetat):

λ_{max} (ε_{max}) = 346, 366 und 384 nm.

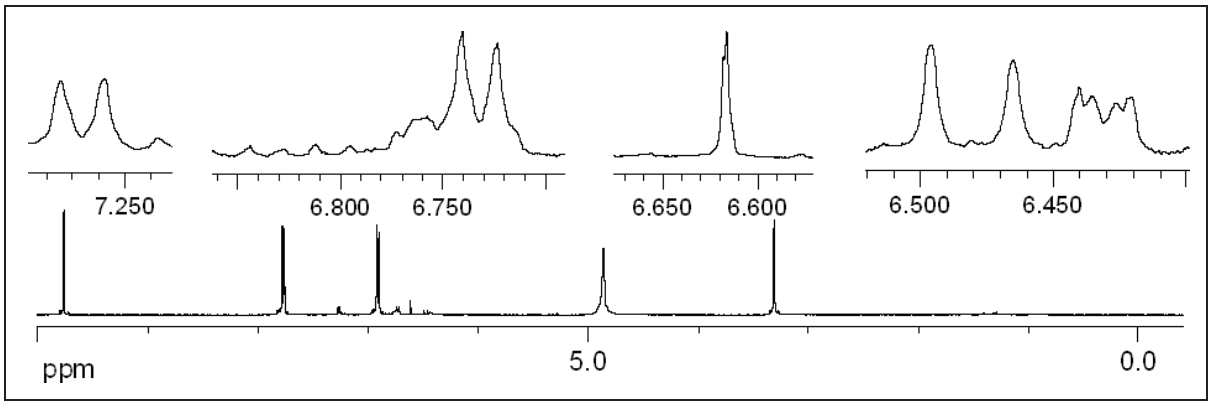
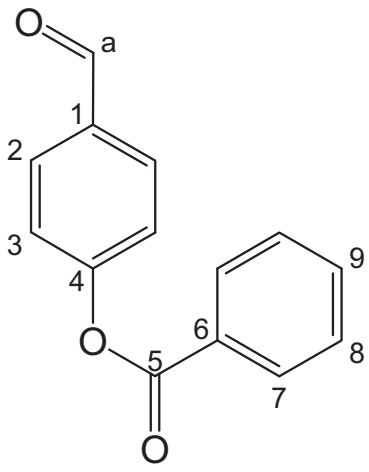


Abbildung 6.198: ^{1}H-NMR (500 MHz, MeOH-D_4), **DPH25**.

^{1}H-NMR (500 MHz, MeOH-D_4):[99, 198]*

δ = 7.27 (d, 4 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.4 Hz, H-2), 6.73 (d, 4 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.6 Hz, H-3) ~6.8▲ (H-b, überdeckt von 4-Hydroxybenzaldehyd), 6.62 (s, 2 H, H-5), 6.48▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.43▲ (dd, 2 H, $^3J_{cb}$ = 7.2 Hz, $^4J_{cb}$ = 2.6 Hz, H-c) ppm.

Versuch 55: 4-(Formylphenyl)-benzoat (115)[199]#



115

10.11 (82.79 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) und 8.40 g (106.2 mmol) abs. Pyridin werden in 100 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst und auf 0 °C abgekühlt. 13.91 g (98.95 mmol) Benzoylchlorid (**42**) in 50 ml abs. Tetrahydrofuran werden langsam zugetropft. Die Reaktion lässt man unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmen. Nach 24 h wird ausgefallener Feststoff abfiltriert. Die organische Phase wird viermal mit je 100 ml destilliertem Wasser und dreimal mit je 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **115** wird im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet.

$C_{14}H_{10}O_3$ (M = 226.23 g/mol)

Ausbeute: 17.39 g (76.86 mmol, 93 %) **115** **Lit**: 86 % [199]

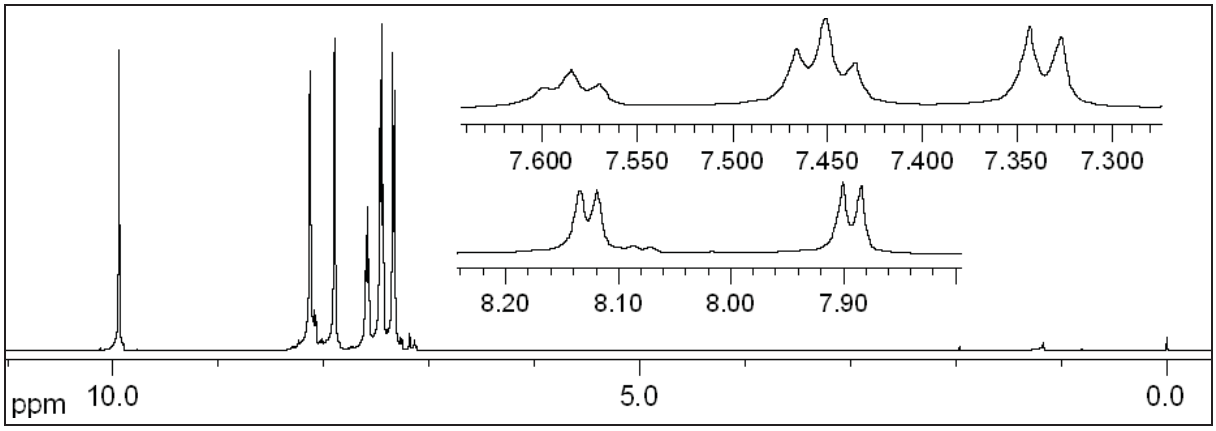


Abbildung 6.199: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **115**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[199]*

δ = 9.94 (1 H, s, H-a), 8.13 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+5}J_{78}$ = 7.6 Hz, H-7), 7.89 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.5 Hz, H-2), 7.58 (m, 1 H, B-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+3}J_{98}$ = 7.4 Hz, H-9), 7.45 (m, 2 H, A-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+5}J_{87}$ = 7.7 Hz, $^{3+3}J_{89}$ = 7.7 Hz, H-8), 7.34 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.4 Hz, H-3) ppm.

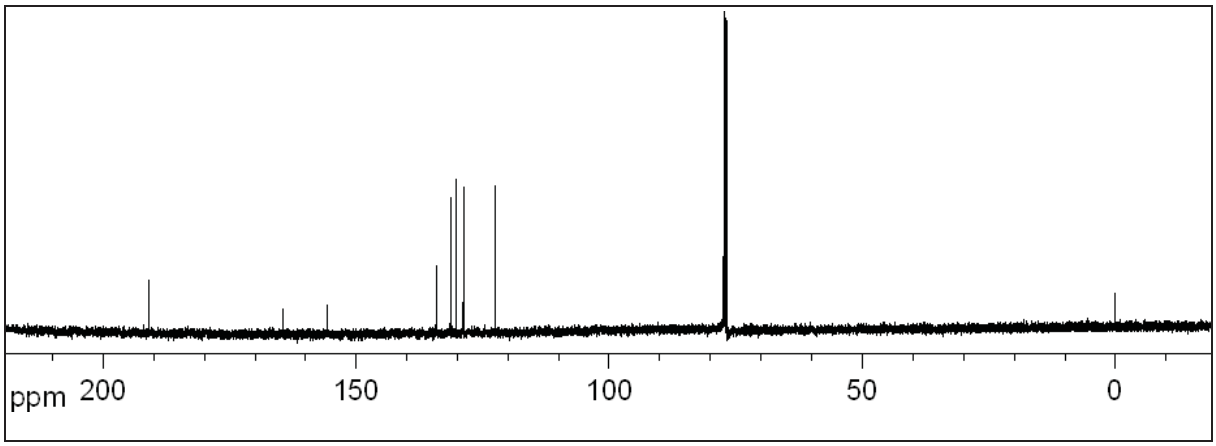


Abbildung 6.200: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **115**.

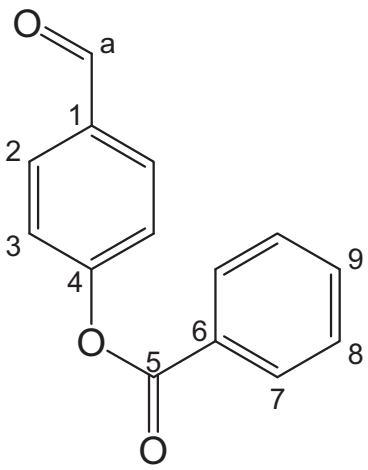
^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[199]*

δ = 191.9 (s, C-a). 164.5 (s, C-5), 155.6 (s, C-4), 134.0 (s, C-1), 134.0 (s, C-9), 131.2 (s, C-2), 130.2 (s, C-7), 128.9 (s, C-6), 128.7 (s, C-8), 122.5 (s, C-3) ppm.

Versuch 56: 4-(Formylphenyl)benzoat (115)

In 50 ml Pyridin werden 10.0 g (81.9 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Mit einer Spritze werden langsam über ein Septum 10.0 ml (12.1 g, 86.1 mmol) Benzoylchlorid (**42**) zugetropft. Die Reaktion lässt man unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmen.

Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Der Feststoff wird abfiltriert, zweimal mit je 50 ml destilliertem Wasser, einmal mit 100 ml verdünnter Salzsäure (pH ≈ 1), einmal mit 100 ml destilliertem Wasser und einmal mit 100 ml Hexan gewaschen. Das



115

Produkt **115** in Form eines weißen Feststoffs wird im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet.

$C_{14}H_{10}O_3$ (M = 226.23 g/mol)

Ausbeute: quantitativ **115** **Lit**: 86 % [199]

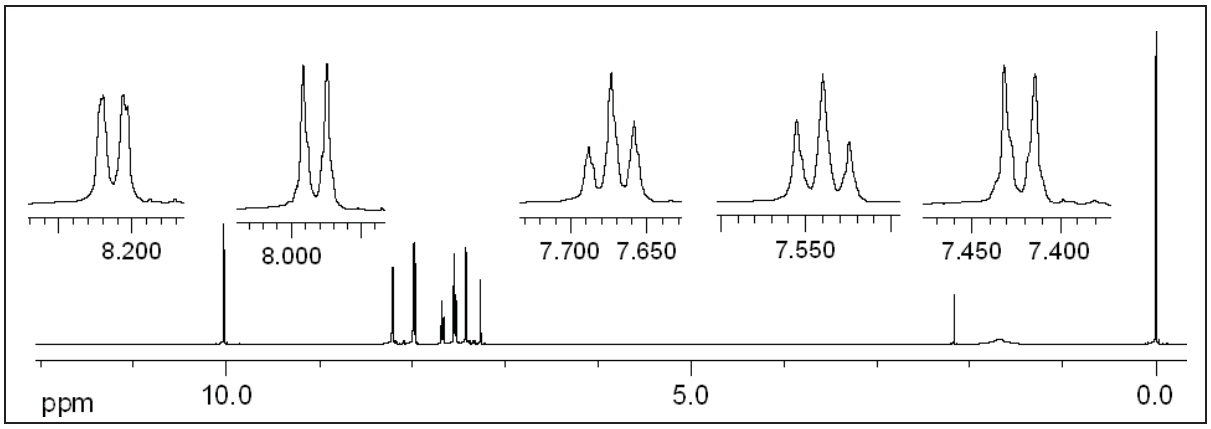


Abbildung 6.201: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **115**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[199]*

δ = 10.03 (1 H, s, H-a), 8.21 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+5}J_{78}$ = 7.8 Hz, $^4J_{79}$ = 1.2 Hz, H-7), 7.98 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.5 Hz, H-2), 7.67 (m, 1 H, B-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+3}J_{98}$ = 7.5 Hz, $^{4+4}J_{97}$ = 1.2 Hz, H-9), 7.54 (m, 2 H, A-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, $^{3+5}J_{87}$ = 7.8 Hz, $^{3+3}J_{89}$ = 7.8 Hz, H-8), 7.42 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3) ppm.

Die chemischen Verschieungen dieses Spektrum unterscheiden sich um ~ 0.09 ppm von dem NMR-Spektrum aus Versuch 55, da hier nicht aufs Lösungsmittel sondern auf TMS geloggt wurde.

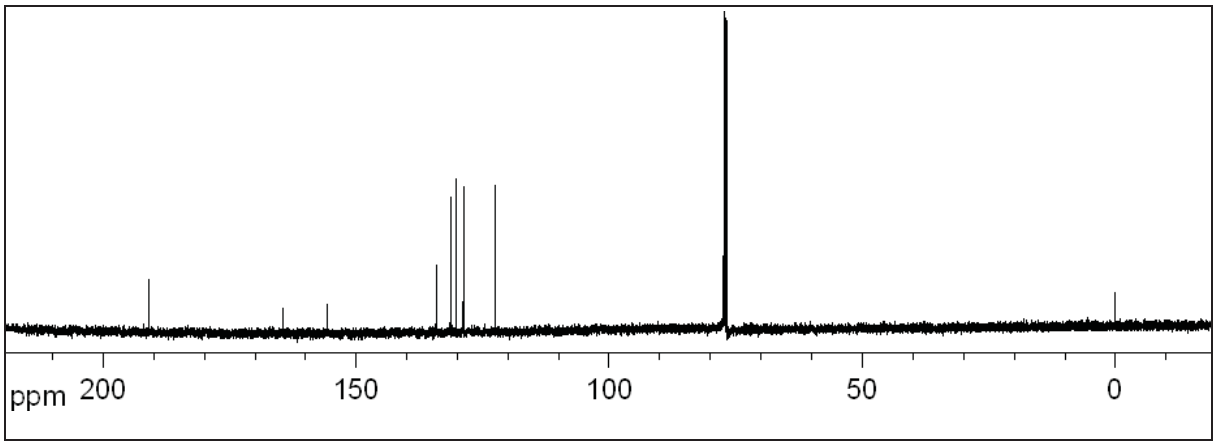
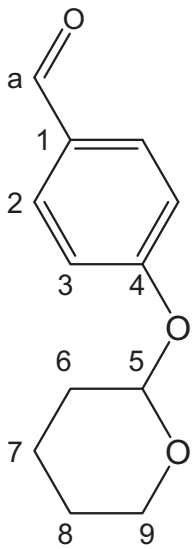


Abbildung 6.202: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **115**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[199]*

δ = 191.0 (s, C-a). 164.5 (s, C-5), 155.7 (s, C-4), 134.1 (s, C-1), 134.0 (s, C-9), 131.3 (s, C-2), 130.3 (s, C-7), 128.9 (s, C-6), 128.7 (s, C-8), 122.6 (s, C-3) ppm.

Versuch 57: 4-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (118)



118

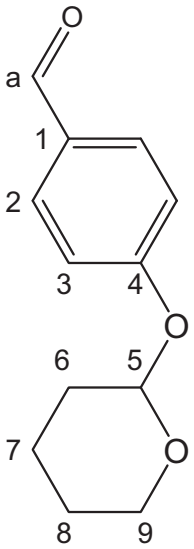
2.98 g (24.4 mmol) *p*-Hydroxybenzaldehyd (**112**) und 1 ml konzentrierte Salzsäure werden in 100 ml Ethylacetat vorgelegt. 8.21 g (8.91 ml, 97.6 mmol) 3,4-Dihydro-*2H*-pyran (**117**) werden zugetropft und die Reaktionslösung wird bei Raumtemperatur gerührt.

Nach 3 d wird das Reaktionsgemisch mit 50 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung versetzt. Die Phasen werden getrennt, die organische Phase wird noch zweimal mit 50 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird zur weiteren Reinigung über Kieselgel 60 mit einer Ethylacetat-Hexan Mischung (1:4) chromatographiert. Die Schutzgruppe wird durch das saure Kieselgel teilweise wieder abgespalten, so dass von einer weiteren Reinigung abgesehen wird. Ein ^{1}H-NMR Spektrum zeigt, dass das Rohprodukt etwa 30 % *p*-Hydroxybenzaldehyd (**112**) enthält.

$C_{12}H_{14}O_3$ (M = 206.24 g/mol)

Ausbeute: 1.30 g (max. 6.30 mmol, max. 26 %) **118**

Versuch 58: 4-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (118)[200]#



118

Zu einer Suspension aus 7.05 g (57.7 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) und 0.3 g (1.2 mmol) Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (**223**) in 75 ml Methylenchlorid wird eine Lösung von 13.2 g (157 mmol) 3,4-Dihydro-*2H*-pyran (**117**) in 50 ml Methylenchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt.

Nach 3 d wird das Reaktionsgemisch viermal mit 50 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **118** enthält noch etwa 5 % 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**).

$C_{12}H_{14}O_3$ (M = 206.11 g/mol)

Ausbeute: 11.7 g (56.7 mmol, 98 %) **112** **Lit**: quantitativ[200]

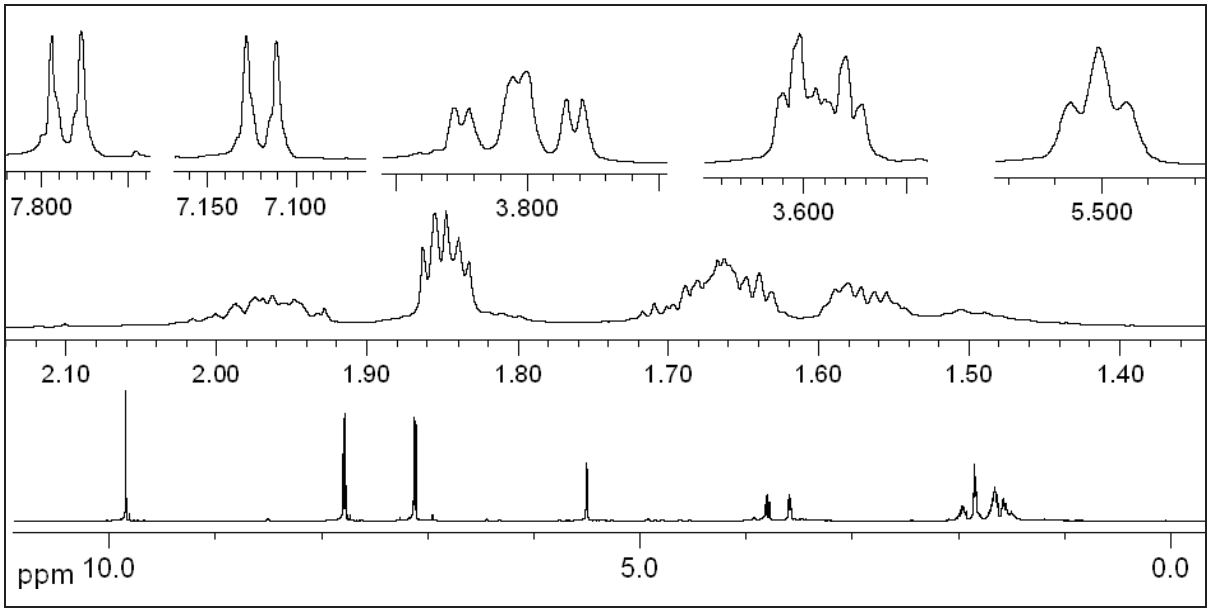
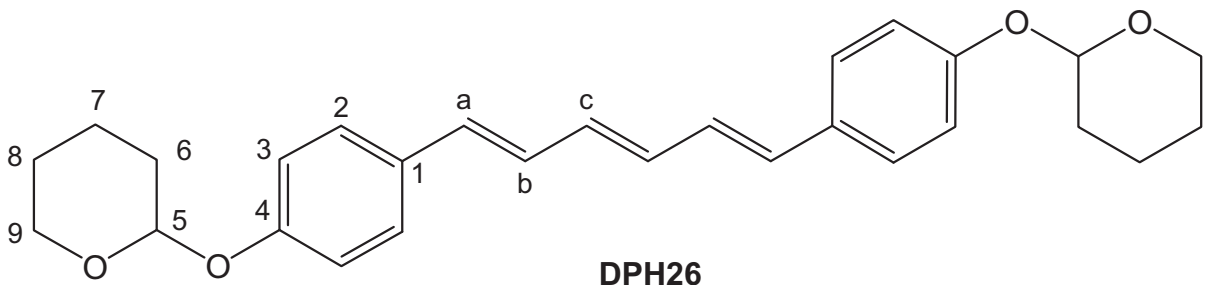


Abbildung 6.203: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **112**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[200]*

δ = 9.85 (s, 1 H, H-a), 7.79 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{23}+^5J_{23}$ = 8.5 Hz, H-2), 7.11 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{23}+^5J_{23}$ = 8.7 Hz, H-3), 5.50 (t, 1 H, $^3J_{56}$ = 3.0 Hz, H-5), 3.80 (m, 1 H, H-9a), 3.59 (m, 1 H, H-9b), 1.91-2.04 (m, 1 H, H-7a), 1.82-1.88 (m, 2 H, H-6[a] und H-7b), 1.40-1.74 (m, 3 H, H-6b, H-8a und H-8b) ppm.

Versuch 59: 1,6-Bis(4-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)phenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH26)



DPH26

1.06 g (3.20 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 0.18 g (4.6 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 50 ml abs. Tetrahydrofuran 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 2.00 g (9.7 mmol) 4-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (**118**) in 20 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 30 min werden weitere 0.18 g (4.6 mmol) 60%iges Natriumhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird mit 50 ml eines 0.2 M Natriumhydrogenphosphat/Dinatrium-hydrogenphosphat-Puffer hydroysiert. Die Phasentrennung wird durch die Zugabe von Diethylether erzwugen. Ausfallendes Phosphat wird anfiltriert. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt. Der Rückstand wird in Hexan ausgekocht und mit Tetrahydrofuran über eine Filtersäule mit Aluminiumoxid gereinigt. Man erhält ein mit Dihydropyran **117** verunreinigtes Rohprodukt. Weitere Reinigungsversuche führten zur Zersetzung des Produkts **DPH29**.

$C_{28}H_{32}O_4$ (M = 432.55 g/mol)

Ausbeute: max. 126 mg (3.0 mmol, 9 %) **DPH29**

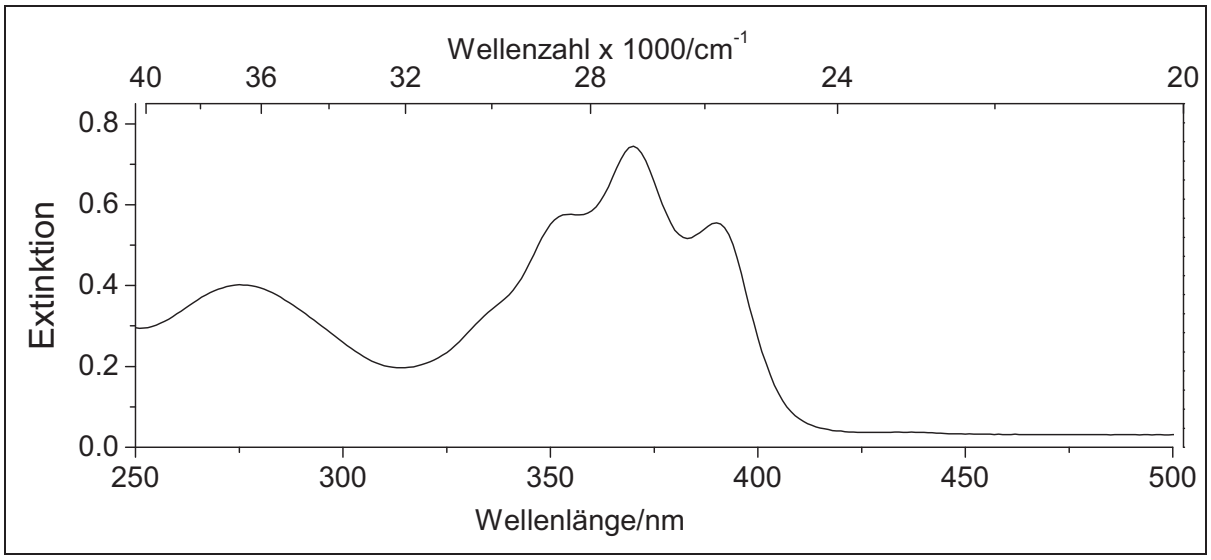


Abbildung 6.204: UV-Vis-Spektrum von **DPH29** in Chloroform (c = 50.9 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis(Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 355 (56600 (l/mol)*cm^{-1}), 370 (73100 (l/mol)*cm^{-1}), 390 (54500 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

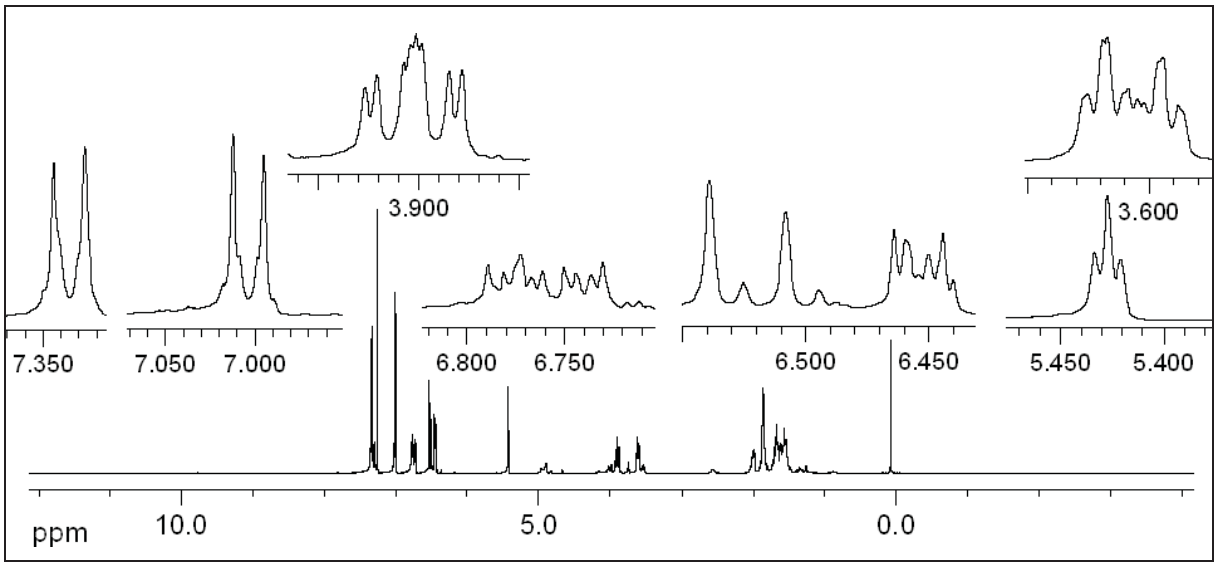


Abbildung 6.205: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH29**.

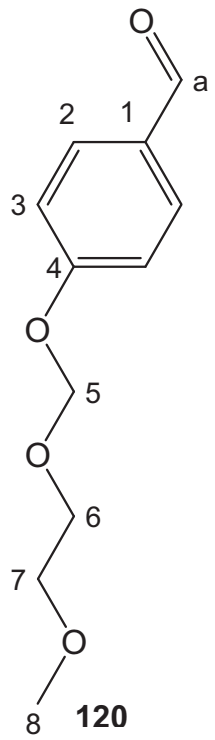
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.34 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.7 Hz, H-2), 7.00 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.7 Hz, H-3), 6.76▲ (ddd, 2 H, $^3J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^3J_{bc}$ = 6.9 Hz, $^4J_{bc}$ = 3.6 Hz, H-b), 6.52▲ (d, 2 H, $^3J_{ab}$ = 15.4 Hz, H-a), 6.46▲ (dd, 2 H, $^3J_{cb}$ = 7.0 Hz, $^4J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c), 5.43 (t, 2 H, $^3J_{56}$ = 3.2 Hz, H-5), 3.90 (m, 2 H, H-9a), 3.61 (m, 2 H, H-9b), 195-2.05 (m, H-6, H-7 H-8 und H-9 verdeckt von Dihydropyran) ppm.

Versuch 60: 4-[(2-Methoxyethoxy)methoxy]benzaldehyd (120)[99, 201]#

Es werden 2.56 g (21.0 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**112**) und 5.3 ml Diisopropylamin in 42 ml Methylenchlorid vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Eine Lösung aus 3.50 ml (3.82 g, 30.7 mmol) Methoxyethoxymethylchlorid (**119**) in 20 ml Methylenchlorid wird langsam zugetropft. Man lässt die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmen.

Nach 12 h wird die Reaktion durch die Zugabe von 80 ml 0.5 N Salzsäure gequencht. Die organische Phase wird abgetrennt, mit 1 N Natronlauge neutralisiert, zweimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.



120

$C_{11}H_{14}O_4$ (M = 210.23 g/mol)

Ausbeute: 3.83 g (18.2 mmol, 87 %) **120** **Lit**: 97 %[99], 99 %[201]

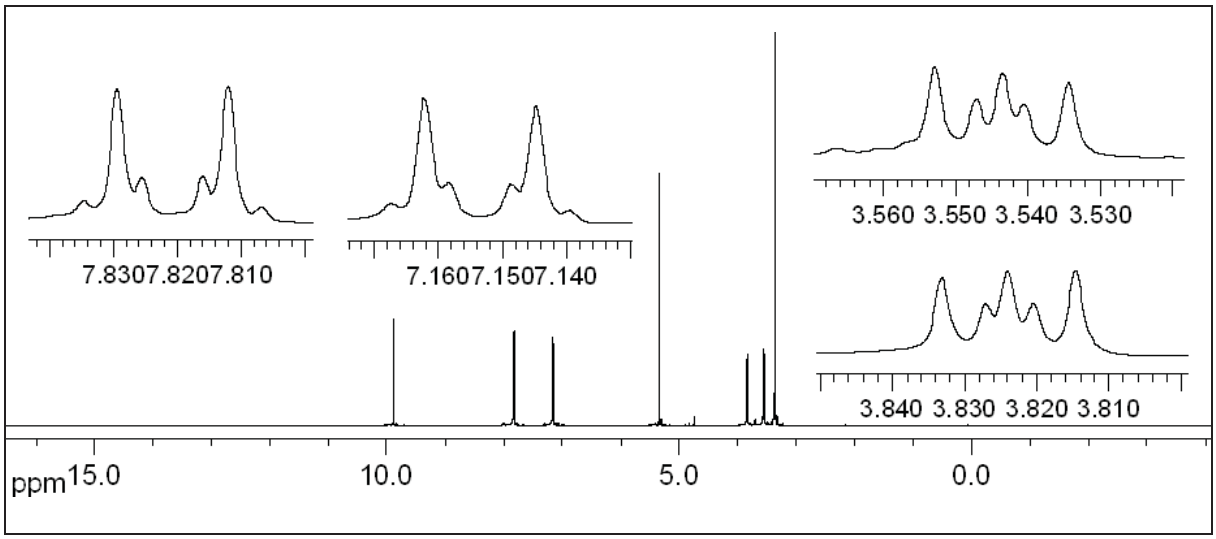


Abbildung 6.206: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **120**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[99, 201]*

δ = 9.88 (s, 1 H, H-a), 7.82 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.7 Hz, H-2), 7.15 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.8 Hz, H-3), 5.34 (s, 2 H, H-5), 3.82 (m, 2 H, H-6 oder H-7), 3.54 (m, 2 H, H-6 oder H-7), 3.35 (s, 3 H, H-8) ppm.

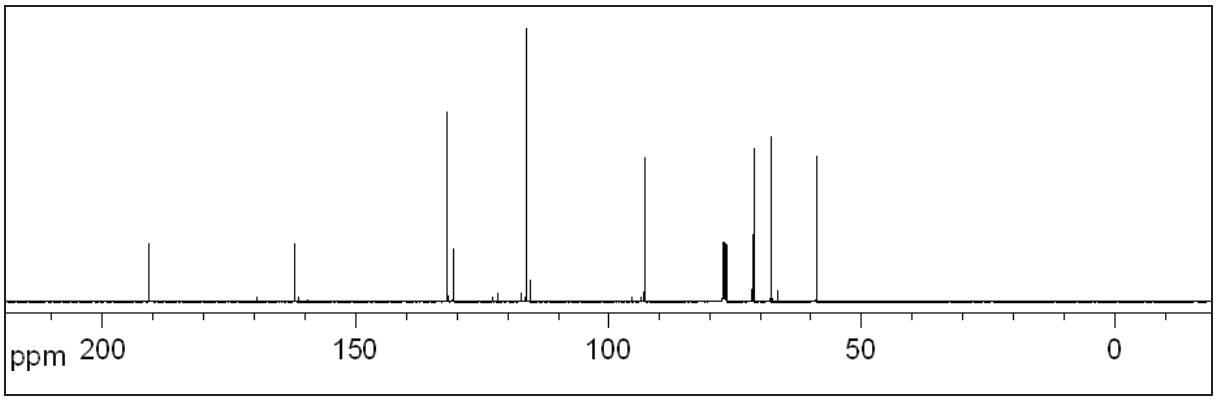
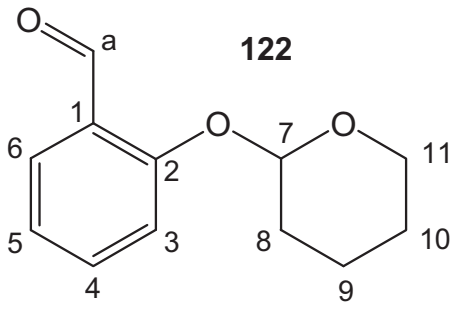


Abbildung 6.207: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **120**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[202]*

δ = 190.8 (s, C-a), 162.1 (s, C-4), 131.7 (s, C-2), 130.6 (s, C-1), 116.1 (s, C-3), 93.0 (s, C-5), 71.4 (s, C-7), 68.0 (s, C-6), 58.9 (s, C-8) ppm.

Versuch 61: 2-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (122)

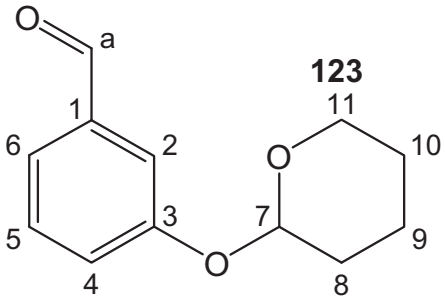


Zu einer Suspension aus 7.05 g (57.7 mmol) *o*-Hydroxybenzaldehyd (**124**) und 0.3 g (1.2 mmol) Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (**223**) in 75 ml Methylenchlorid wird eine Lösung von 13.2 g (157 mmol) 3,4-Dihydro-*2H*-pyran (**117**) in 50 ml Methylenchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Als Rohprodukt **122** erhält man ein gelbes Öl.

$C_{12}H_{14}O_3$ (M = 206.11 g/mol)

Ausbeute: 6.97 g (33.8 mmol, 59 %) **122**

Versuch 62: 3-(Tetrahydropyran-2-yloxy)benzaldehyd (123) [203]#



Zu einer Suspension aus 7.05 g (57.7 mmol) *m*-Hydroxybenzaldehyd (**125**) und 0.3 g (1.2 mmol) Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (**223**) in 75 ml Methylenchlorid wird eine Lösung von 13.2 g (157 mmol) 3,4-Dihydro-*2H*-pyran (**117**) in 50 ml Methylenchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 48 h bei Raumtemperatur gerührt.
Das Reaktionsgemisch wird dreimal mit 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Membranpumpenvakuum entfernt. Als Rohprodukt **123** erhält man ein gelbes Öl. Es ist mit Dihydropyran **117** verunreinigt. Weitere Reinigungsversuche führen zum Verlust des Produkts **123**.

$C_{12}H_{14}O_3$ (M = 206.11 g/mol)

Ausbeute: quantitativ **123** **Lit**: 85 %[203]

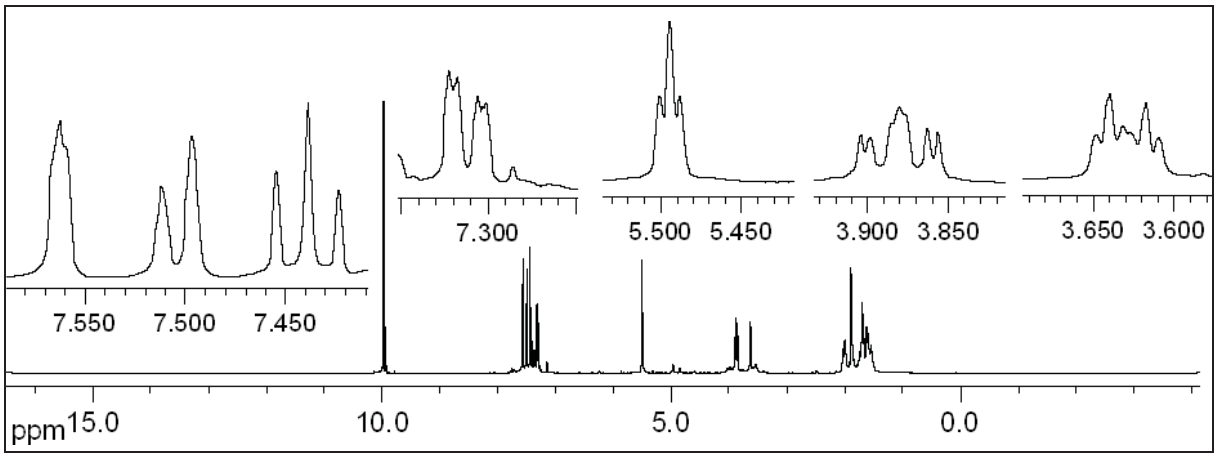
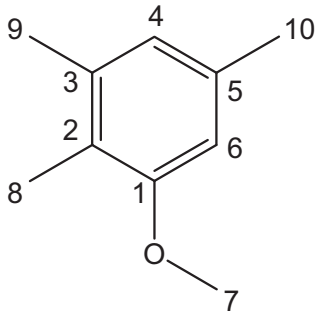


Abbildung 6.208: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **123**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [204]*

δ = 9.96 (s, 1 H, H-α), 7.56 (m, 1 H, H-2), 7.50, (m, 1 H, H-6), 7.44 (m, 1 H, H-5), 7.31 (m, 1 H, H-4), 5.49 (dd, 1 H, $^{3}J_{78a} \approx {}^{3}J_{78b}$ = 3.2 Hz, H-7), 3.88 (m, 1 H, H-11a), 3.63 (m, 1 H, H-11b), 1.50-2.10 (H-8, H-9 und H-10 überdeckt von Dihydropyran) ppm.

Versuch 63: Methoxy-2,3,5-trimethylbenzol (129)[96]#



129

Zu 16.2 g (40.5 mmol) 60%iges Natriumhydrid in 150 ml Dimethylsulfoxid in Uvasolreinheit wird eine Lösung von 30.1 g (22.1 mmol) 2,3,5-Trimethylphenol (**127**) in 150 ml Dimethylsulfoxid langsam zugetropft. Anschließend werden 31.8 g (22.4 mmol) Iodmethan (**128**) in 10 ml Dimethylsulfoxid zugetropft. Mit einem Eisbad wird die Temperatur unter 25 °C gehalten. Man lässt über Nacht bei Raumtemperatur rühren.

Die Reaktion wird mit 250 ml destilliertem Wasser hydrolisiert und dreimal mit je 250 ml Diethylether extrahiert. Die vereintigen organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum einer Membranpumpe entfernt.

Das Rohprodukt **129** wird im Vakuum einer Membranpumpe fraktioniert destilliert.

$C_{10}H_{14}O$ (M = 150.22 g/mol)

Ausbeute: 26.9 g (179 mmol, 81 %) **129** **Lit**: 95 %[96]

Siedepunkt: 92 °C/15 mbar **Lit**: 87 °C/10 mbar[96], 92 °C/13 mbar[205]

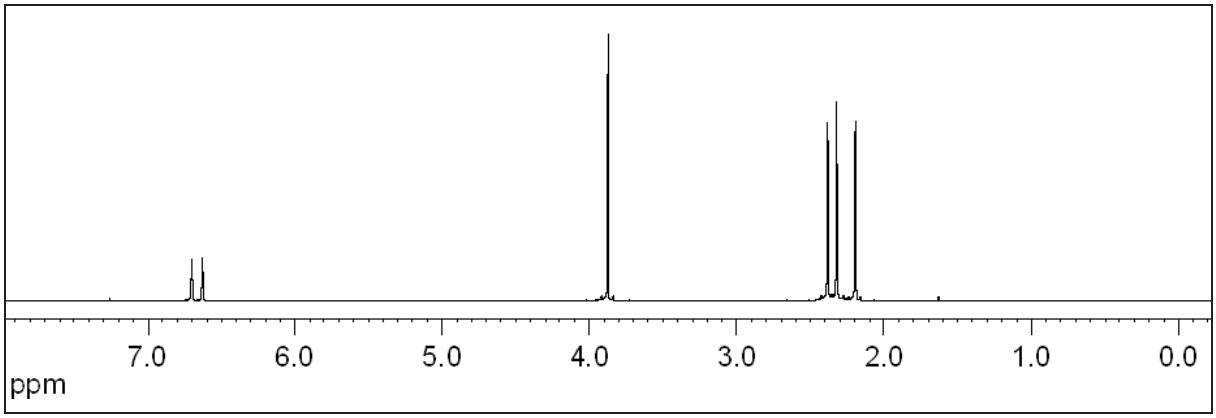


Abbildung 6.209: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **129**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[206, 207]*

δ = 6.70 (s, 1 H, H-6), 6.63 (s, 1 H, H-4), 3.88 (s, 1 H, H-7), 2.38 (s, 3 H, H-9), 2.32 (s, 3 H, H-10), 2.20 (s, 3 H, H-8) ppm.

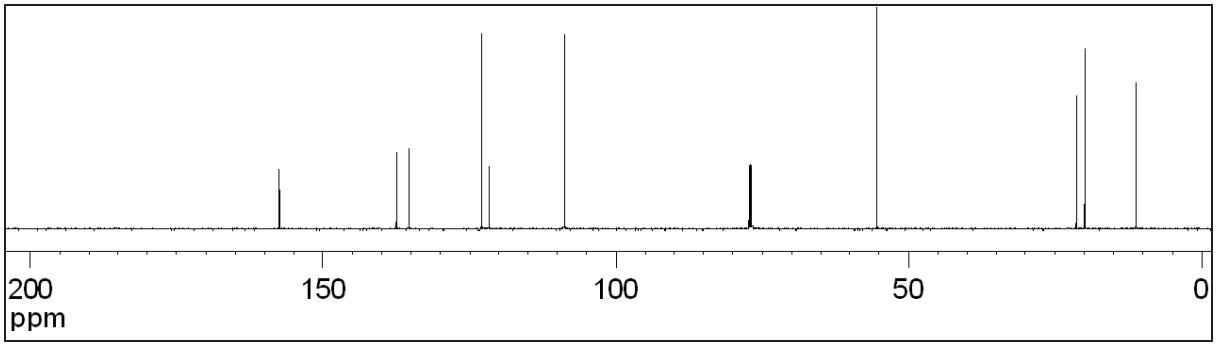


Abbildung 6.210: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **129**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz), CDCl3

δ = 157.4 (s, C-1), 137.5 (s, C-3), 135.4 (s, C-5), 122.9 (s, C-6), 121.7 (s, C-2), 108.8 (s, C-4), 55.4 (s, C-7), 21.3 (s, C-9), 19.9 (s, C-10), 11.2 (s, C-8) ppm.

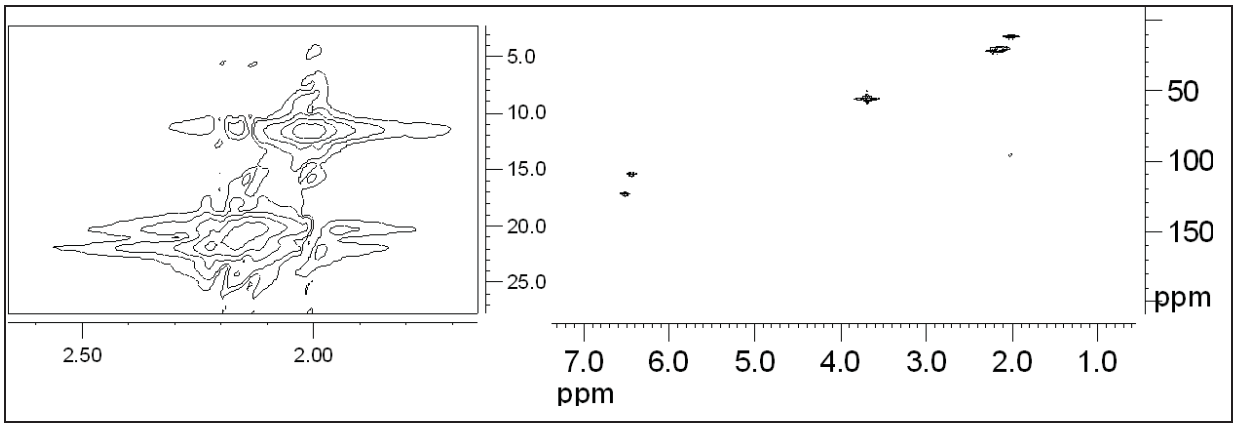


Abbildung 6.211: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **129**.

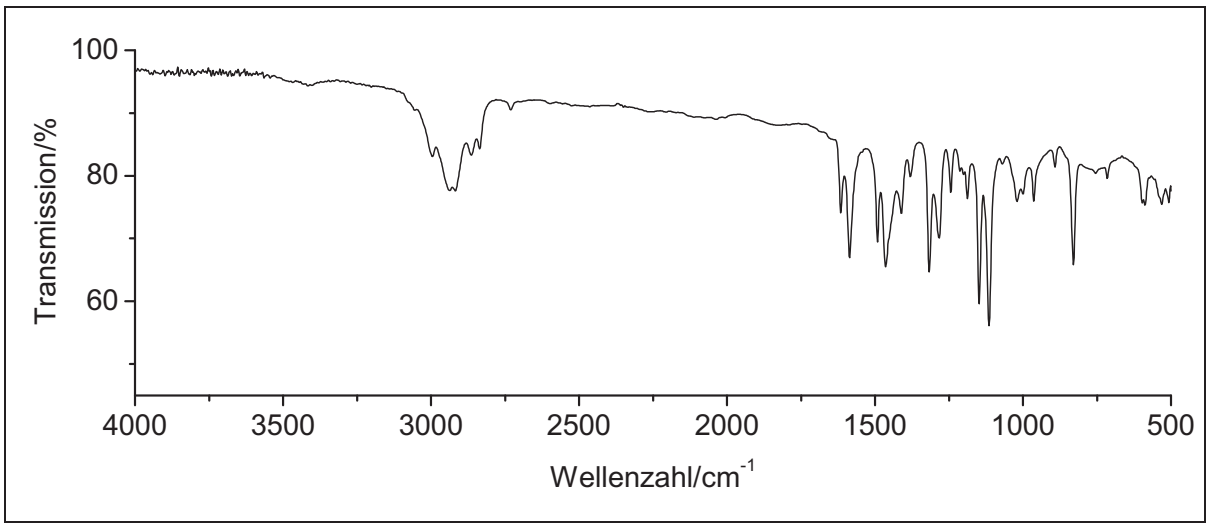
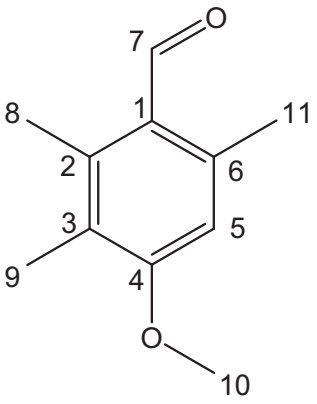


Abbildung 6.212: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **129**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 2995 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2937, 1918 und 2864 (C-H-Valenzschwingung von CH_3), 2835 (C-H-Valenzschwingung von O-CH_3), 1616, 1586 und 1492 (C=C-Valenzschwingung), 1465 (C-H-Deformationsschwingung von CH_3), 1380 (symmetrische C-H-Deformationsschwingung von CH_3), 1148 und 1115 (C-O-Schwingung), 892 und 829 (einzelnes aromatische H) cm^{-1}.

Versuch 64: 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (130)[96]#



130

9.5 ml (8.9 g, 120 mmol) Dimethylformamid (**131**) werden mit einem Wasserbad auf 15 °C temperiert. Unter Rühren werden 11 ml (18 g, 120 mmol) Phosphorylchlorid (**132**) zugetropft. Nach 20 min werden 15 g (100 mmol) 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzol (**129**) portionsweise zugegeben wird. Dabei wird wiederholt die Mischung mit einem Spatel gemischt bis sich eine rührbare Konsistenz einstellt. Die Reaktionsmischung wird 4 h auf 110 °C erhitzt.
Die abgekühlte Lösung wird unter starkem Rühren auf 750 ml Eiswasser gegossen. Mit Natriumhydroxid wird der pH-Wert auf 9 gebracht. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und aus Hexan umkristallisiert. Um weitere Verunreinigungen zu entfernen wird das Rohprodukt **130** in Ethylacetat gelöst und über Kieselgel 60 filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{11}H_{14}O_2$ (M = 178.23 g/mol)

Ausbeute: 15 g (84 mmol, 84 %) **130** **Lit**: 63 %[207], 69 %[96]

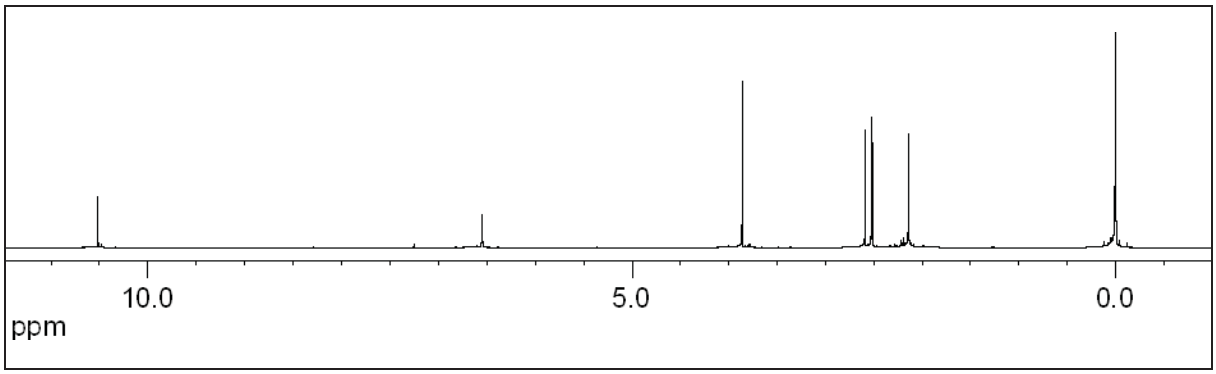


Abbildung 6.213: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **130**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[207, 208]*

δ = 10.51 (s, 1 H, H-7), 6.55 (s, 1 H, H-5), 3.86 (s, 3 H, H-10), 2.59 (s, 3 H, H-11), 2.52 (s, 3 H, H-8), 2.14 (s, 3 H, H-9) ppm.

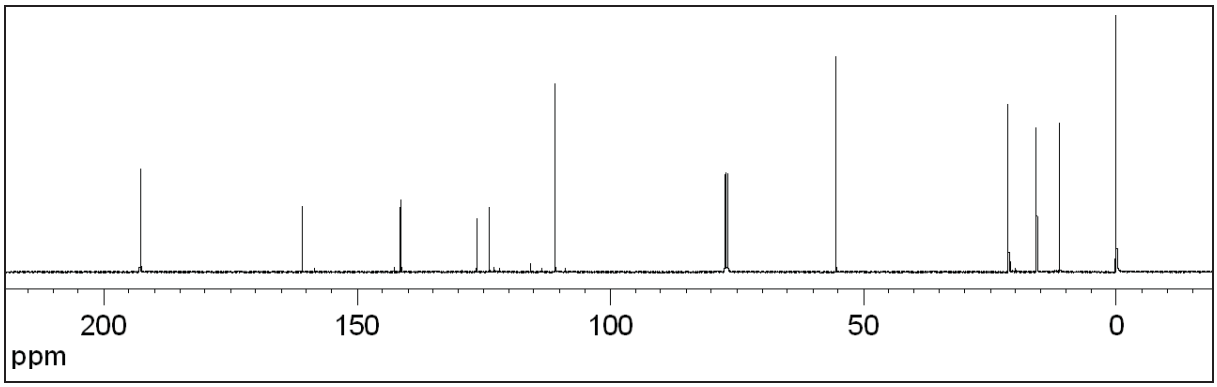


Abbildung 6.214: ^{13}**C-**{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **130**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 192.8 (s, C-7), 160.7 (s, C-4), 141.5/141.2 (s, C-2/6), 126.3 (s, C-1), 123.9 (s, C-3), 110.9 (s, C-5), 55.5 (s, C-10), 21.3 (s, C-11), 15.7 (s, C-8), 11.2 (s, C-9) ppm.

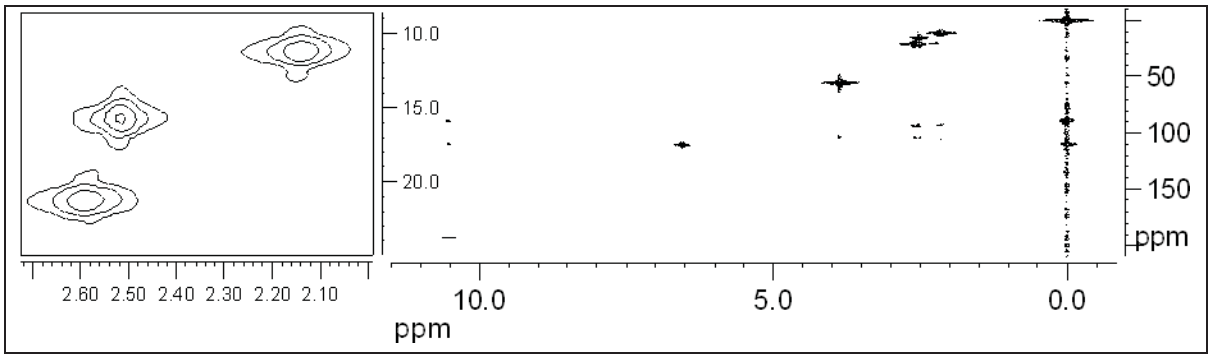
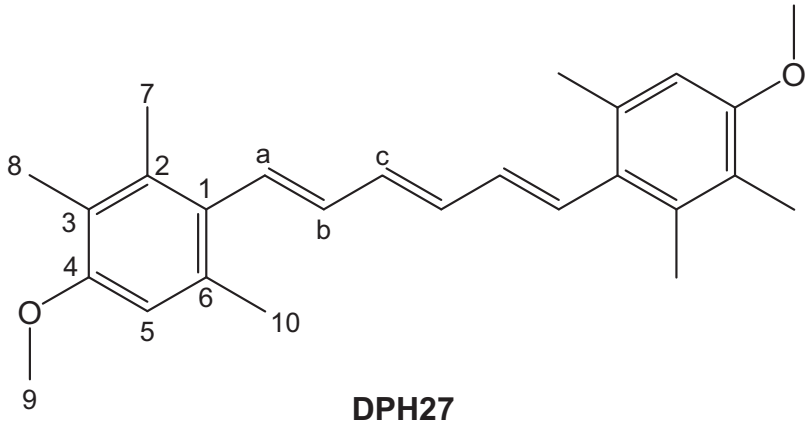


Abbildung 6.215: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **130**.

Versuch 65: 1,6-Bis (4-methoxy-2,3,6-trimethylphenyl)hexa-1,3,5-trien (DPH27)



DPH27

1.6 g (5.0 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diyldiphosphonat) (**105**) und 210 mg (5.3 mmol) 60%iges Natriumhydrid in 5 ml abs. Tetrahydrofuran werden 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 0.97 g (5.4 mmol) 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (**132**) in 25 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 10 min werden 210 mg (5.3 mmol) 60%igem Natriumhydrid in 10 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben. Nach 1 h werden weitere 0.98 g (5.5 mmol) des Aldehyds (**130**) in 5 ml abs. Tetrahydrofuran zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 14 d bei Raumtemperatur gerührt.
Die Reaktion wird mit 50 ml destilliertem Wasser hydrolysiert, mit 50 ml Diethylether versetzt und über Nacht gerührt. An der Phasengrenze fällt ein fluoreszierender Feststoff aus, welcher abfiltriert wird.

$C_{26}H_{32}O_2$ (M = 376.53 g/mol)

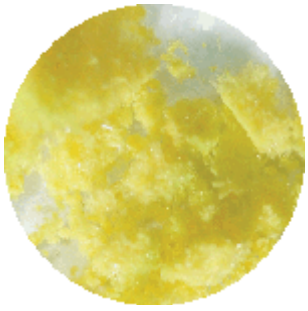


Abbildung 6.216: DPH27 als gelbe Kristalle.

Ausbeute: 105 mg (280 µmol, 6 %) **DPH27**

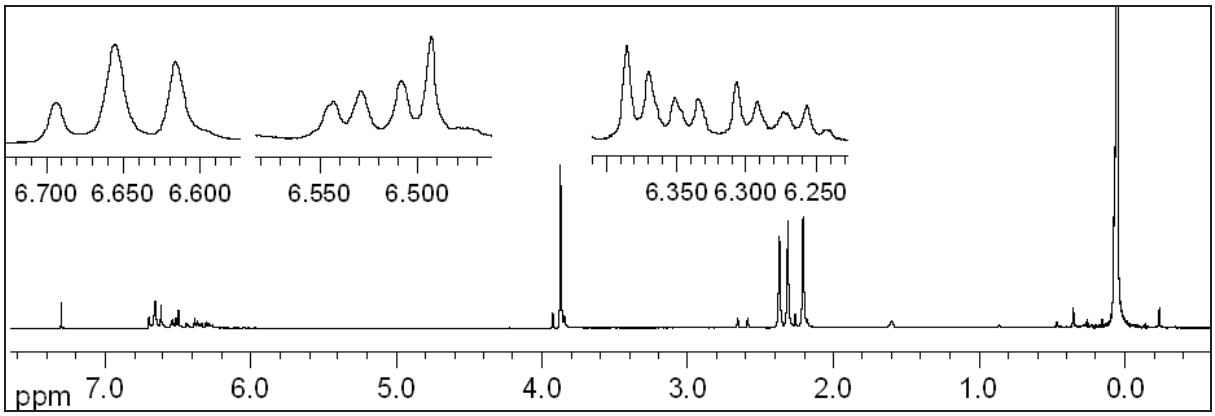


Abbildung 6.217: ^{1}H-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH27**.

^{1}H-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 6.66▲ (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.66 (s, 2 H, H-5), 6.52▲ (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c), 6.32▲ (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.0 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 3.87 (s, 6 H, H-9), 2.37 (s, 6 H, H-10), 2.31 (s, 6 H, H-7), 2.21 (s, 6 H, H-8) ppm.

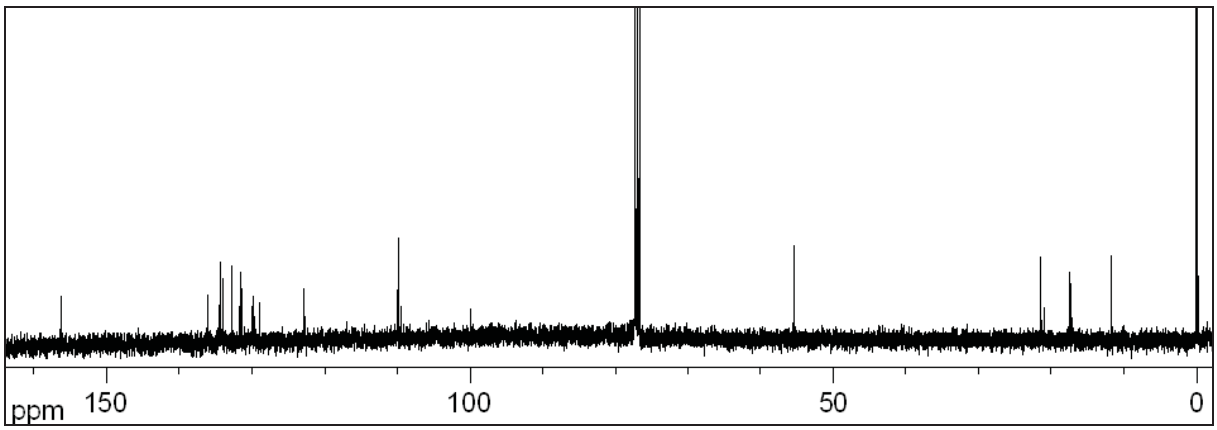
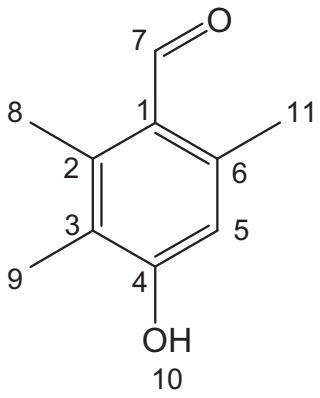


Abbildung 6.218: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **DPH27**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 156.1 (s, C-4), 136.0 (s, C-2), 134.3 (C-b), 134.0 (s, C-6), 132.6 (s, C-c), 131.3 (s, C-a), 129.8 (s, C-1), 122.7 (s, C-3), 109.9 (s, C-5), 55.5 (s, C-9), 21.5 (s, C-10), 17.5 (s, C-7), 11.9 (s, C-8) ppm.

Versuch 66: 4-Hydroxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (133)[96, 97]#



133

7.04 g (39.5 mmol) 4-Methoxy-2,3,5-trimethylbenzaldehyd (**132**) werden in 100 ml abs. Dichlormethan mit einem Eis/-Kochsalzbad gekühlt. Stark rauchende 25.0 g (100 mmol) Bortribromid (**114**) werden langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.

Das Reaktionsgemisch wird wieder mit einem Eis/Kochsalzbad gekühlt und mit 100 ml destilliertem Wasser hydrolisiert. Nach 15 min Rühren wird ausfallender Feststoff abfiltriert. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit 150 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt **133** wird in Dichlormethan aufgeschlämmt und über Kieselgel 60 filtriert. Das Kieselgel wird bis zur Farblosigkeit mit Dichlormethan gewaschen. Anschließend wird die gewünschte Fraktion mit Diethylether herunter gewaschen. Das Lösungsmittel wird wieder unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{10}H_{12}O_2$ (M = 164.20 g/mol)

Ausbeute: 2.08 g (12.7 mmol, 32 %) **133** **Lit**: 88 %[96, 97]

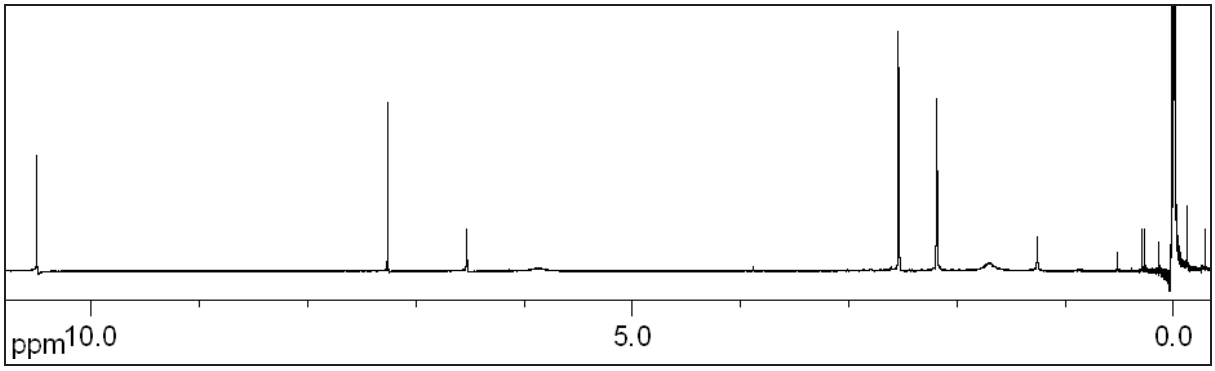
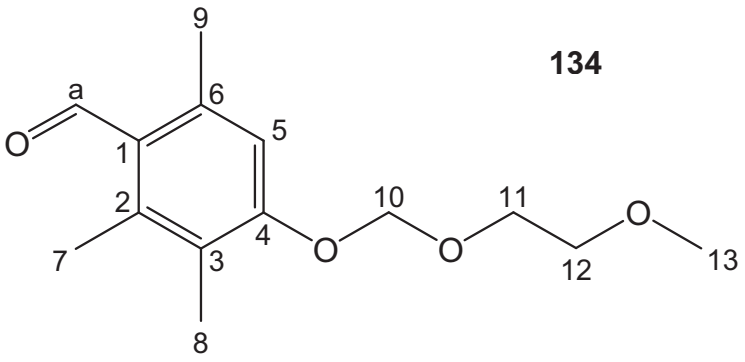


Abbildung 6.219: ^{1}H-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **133**.

^{1}H-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[96, 209]*

δ = 10.51 (s, 1 H, H-7), 6.53 (s, 1 H, H-5), 2.54 (s, 3 H, H-11), 2.53 (s, 3 H, H-8), 2.18 (s, 3 H, H-9) ppm.

Versuch 67: 4-[(2-Methoxyethoxy)methoxy]-2,3,6-trimethylbenzaldehyd (134)



134

Es werden 1.69 g (10.3 mmol) 4-Hdroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd (**133**) und 2.5 ml Diisopropylamin in 30 ml Methylenchlorid vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Eine Lösung aus 1.70 ml (1.85 g, 14.9 mmol) Methoxyethoxymethylchlorid (**119**) in 25 ml Methylenchlorid wird langsam zugetropft. Man lässt die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmen.
Nach 12 h wird die Reaktion durch die Zugabe von 80 ml 0.5 N Salzsäure gequencht. Die organische Phase wird abgetrennt, mit 1 N Natronlauge neutralisiert, zweimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.
Das erhaltene Rohprodukt **134** ist mit Nebenprodukten des Methoxyethoxymethylchlorids (**133**) verunreinigt. Auf weitere Reinigung wurde verzichtet.

$C_{14}H_{20}O_4$ (M = 252.31 g/mol)

Ausbeute: max. 1.88 g (7.45 mmol, 72 %) **134**

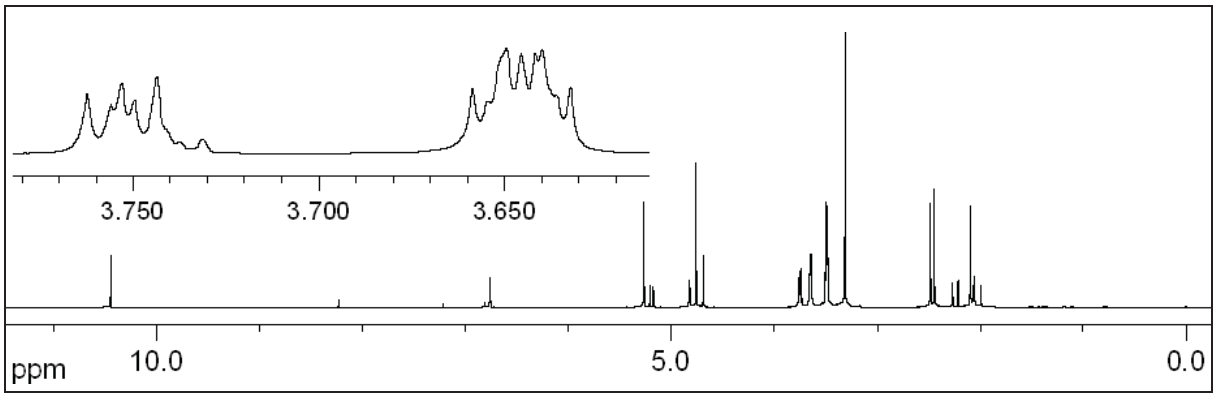


Abbildung 6.220: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **134**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 10.45 (s, 1 H, H-a), 6.75 (s, 1 H, H-5), 5.27 (s, 2 H, H-10), 3.66 (t, 2 H, $^{3}J_{11/12}$ = 4.7 Hz, H-11 oder H-12), 3.49 (t, 2 H, $^{3}J_{11/12}$ = 4.7 Hz, H-11 oder H-12), 3.32 (s, 3 H, H-13), 2.49 (s, 3 H, H-9), 2.44 (s, 3 H, H-7), 2.09 (s, 3 H, H-8) ppm.

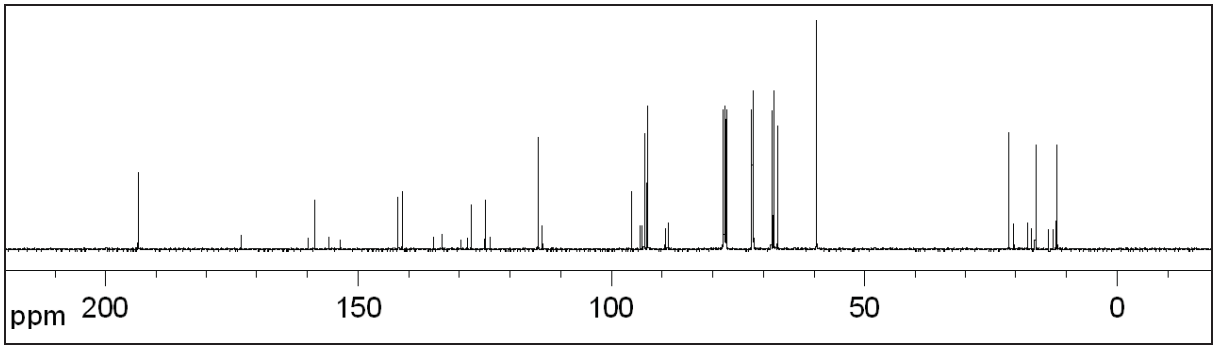
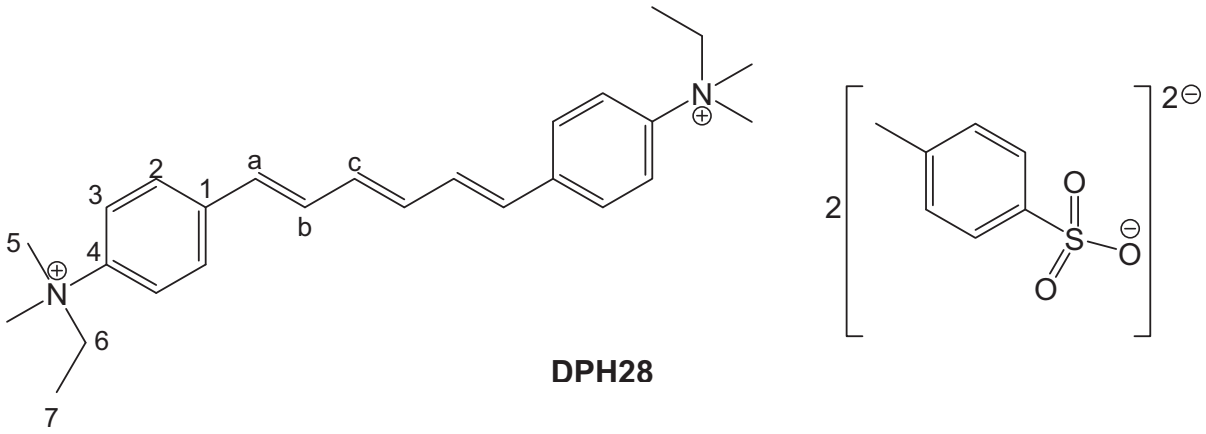


Abbildung 6.221: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **134**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz), CDCl3

δ = 193.4 (s, C-a), 158.7 (s, C-4), 142.0 und 141.3 (je s, C-2 und C-6), 127.7 (s, C-1), 124.9 (s, C-3), 114.5 (s, C-5), 93.5 (s, C-10), 72.1 (s, C-12), 67.8 (s, C-11), 59.4 (s, C-13), 21.4 (s, C-9), 16.2 (s, C-7), 11.8 (s, C-8) ppm.

Versuch 68: 4,4'-(Hexa-1,3,5-trien-1,6-diyl)bis[(*N*-ethyl-*N,N*-dimethylanilinium)-(4-methylbenzensulfonat)] (DPH28)



DPH28

200 mg (628 µmol) 1,6-Bis[4-(*N,N*-dimethylamino)-phenyl]hexa-1,3,5-trien (**DPH15**) und 418 mg (2.09 mmol) Ethyl-4-methylbenzolsulfonat (**136**) werden 2 h auf 90 °C erhitzt. Es werden je 30 ml Toluol und destilliertes Wasser zugegeben. Es wird 2 h zum heftigem Rückfluß erhitzt und anschließend weitere 8 h bei 115 °C. Die Reaktionsmischung wird heiß abfiltriert.

Die abgekühlten Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird über Kieselgel 60 filtriert und die gewünschte Fraktion wird mit Methanol herunter gewaschen. Das Methanol wird unter vermindertem Druck entfernt. Als Rohprodukt erhält man einen weißen Feststoff. Ein UV Spektrum zeigt die Feinstruktur eines Diphenylhexatriens, die sich stark von der des Edukts unterscheidet.

Weitere Reinigung des Rohprodukts **DPH28** führte zum Verlust der gesamten Substanz.

$C_{40}H_{50}N_2O_2S_2$ (M = 718.96 g/mol)

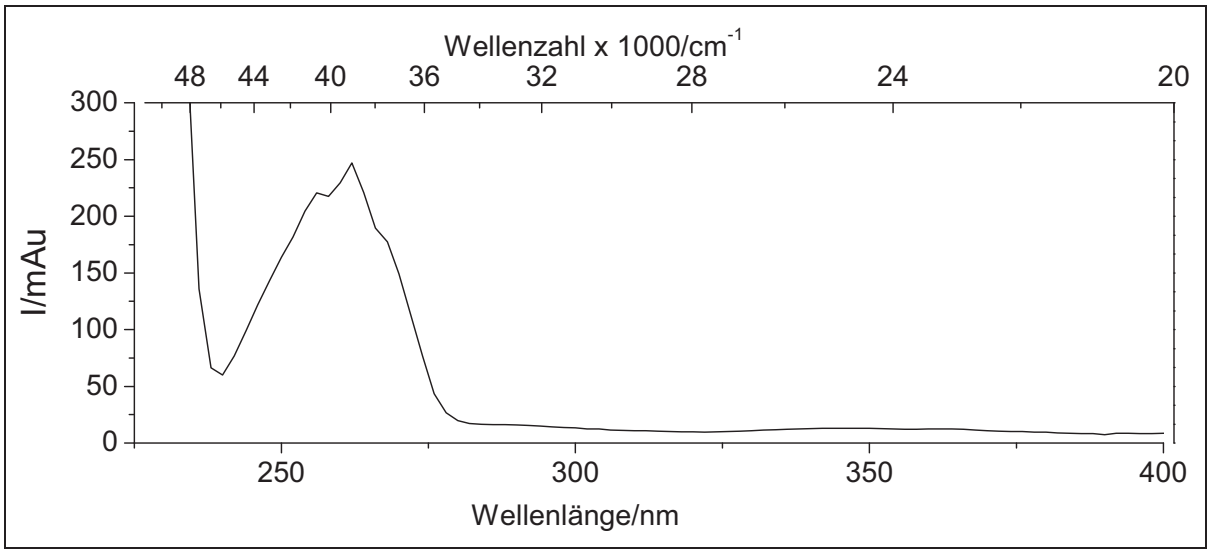


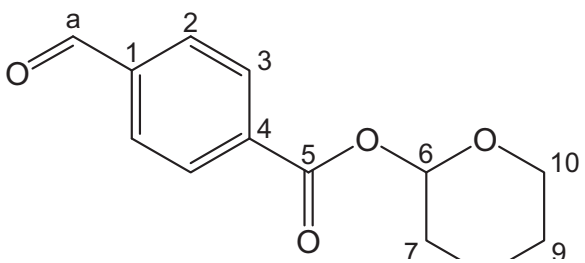
Abbildung 6.222: UV-Vis-Spektrum von **DPH28** in 50 % Methanol und 50 % Wasser mit TFA (pH ≈ 3,) 0.5 ml/min; tR = 1.5 min.

UV-Vis(50 % Methanol und 50 % Wasser mit TFA):

λ_{max} (ε_{max}) = 221, 262 nm.

Versuch 69: (Tetrahydropyran-2-yl)-4-formylbenzoat (138)[101]#

2.0 g (13 mmol) 4-Formylbenzoesäure (**137**), 5.6 g (67 mmol) 3,4-Dihydropyran (**117**) und 0.04 g (0.2 mmol) 4-Toluolsulfonsäure Monohydrat (**224**) werden in 60 ml abs. Ethylacetat 2 h bei Raumtemperatur gerührt.



138

Das Reaktionsgemisch wird mit 50 ml Diethylether versetzt. Die organische Phase wird je einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, gesättigter Natriumcarbonat und destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Als Rohprodukt erhält man eine Mischung aus nicht umgesetzter Säure **137**, Dihydropyran **117** und Produkt **138**. Säure **137** und Produkt **138** liegen in einem Verhältnis von 2:3 vor. Die relative Menge Dihydropyran **117** konnte nicht bestimmt werden.

Da weitere Reinigung zur Zersetzung des Produkts **138** wird darauf verzichtet. Es wurde keine Ausbeute bestimmt.

$C_{13}H_{14}O_4$ (M = 234.20 g/mol)

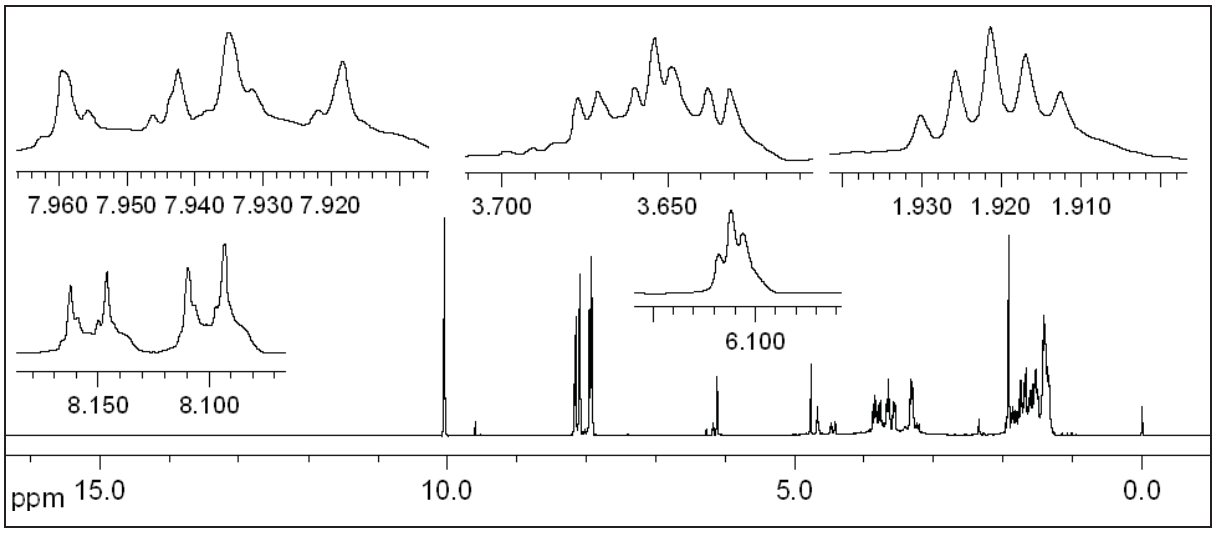


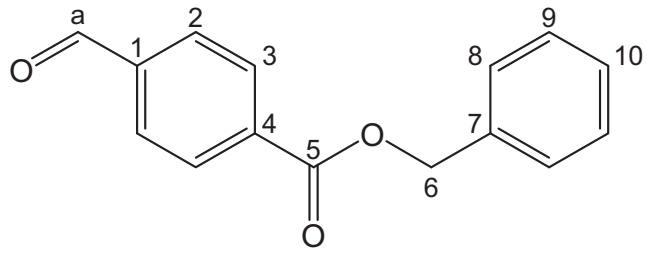
Abbildung 6.223: ^{1}H-NMR (500 MHz, Aceton-d6), **138**.

^{1}H-NMR (500 MHz, Aceton-d6):[101]*

δ = 10.04 (s, 1 H, H-a), 8.07 - 8.13 (m, 2 H, B-Teil von $[AB]_2$, H-2), 7.91 – 7.94 (m, 2 H, A-Teil von $[AB]_2$, H-3), 6.11 (t, 1 H, $^3J_{67}$ = 2.9 Hz, H-6), 3.61 – 3.69 (m, 2 H, H-10), 1.92 (td, 2 H, $^3J_{76}$ = 2.2 Hz, $^3J_{78}$ = 4.4 Hz, H-7), 1.0-2.0 (m, H-8 und H-9 überdeckt) ppm.

[4-Formylbenzoesäure: δ = 10.04 (s, 1 H), 8.11 - 8.17 (m, 2 H), 7.94 – 7.97 (m, 2 H) ppm.]

Versuch 70: Benzyl-4-formylbenzoat (139)[210]#



139

Zu 3.34 g (22.2 mmol) 4-Formylbenzoesäure (**137**) in 25 ml Dimethylformamid werden 3.37 g (24.4 mmol) Kaliumcarbonat und 5.12 g (29.9 mmol) Benzylbromid (**101**) gegeben und für 8 h auf 60 °C erhitzt. Zur Hydrolyse wird die Reaktionsmischung auf 250 ml destilliertes Wasser gegossen. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 100 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden je zweimal mit 150 ml 1 N Kaliumcarbonatlösung und 100 ml gesättigter

Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{15}H_{12}O_3$ (M = 240.25 g/mol)

Ausbeute: 4.95 g (20.6 mmol, 93 %) **139**

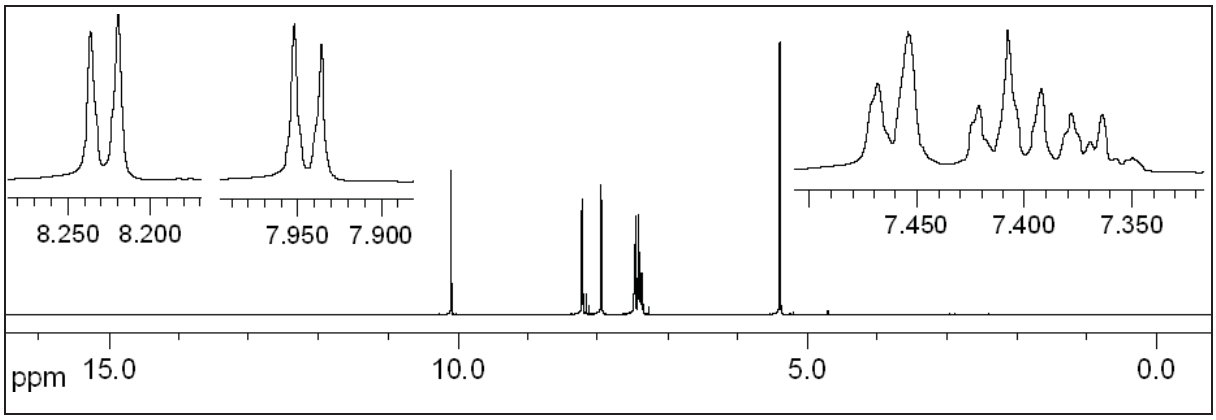


Abbildung 6.224: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **139**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[210]*

δ = 10.09 (s, 1 H, H-a), 8.20 – 8.25 (m, 2 H, E-Teil eines $[DE]_2$-Systems, H-3), 7.92 – 7.97 (m, 2 H, D-Teil eines $[DE]_2$-Systems, H-2), 7.44 – 7.48 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-8), 7.38 – 7.44 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-9), 7.34 – 7.38 (m, 1 H, A-Teil des $[BC]_2A$-Systems, H-10), 5.40 (s, 2 H, H-6) ppm.

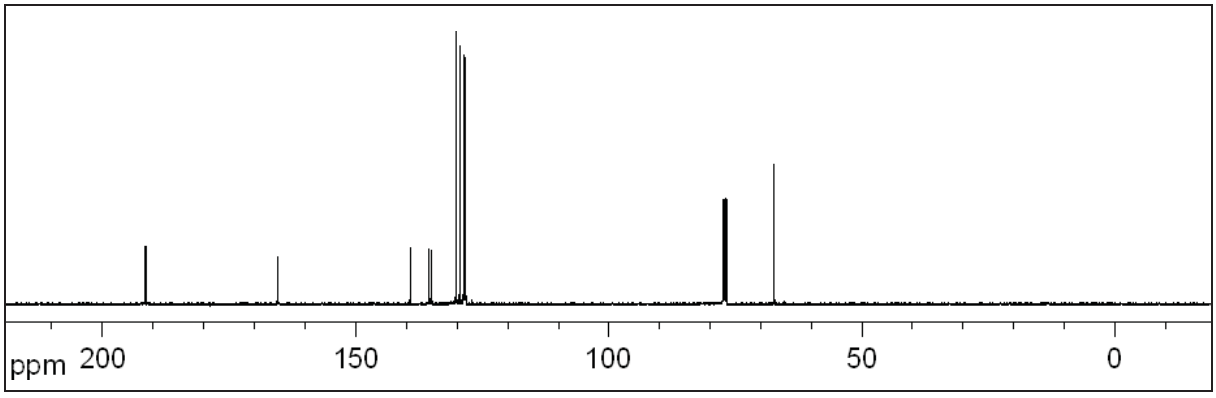
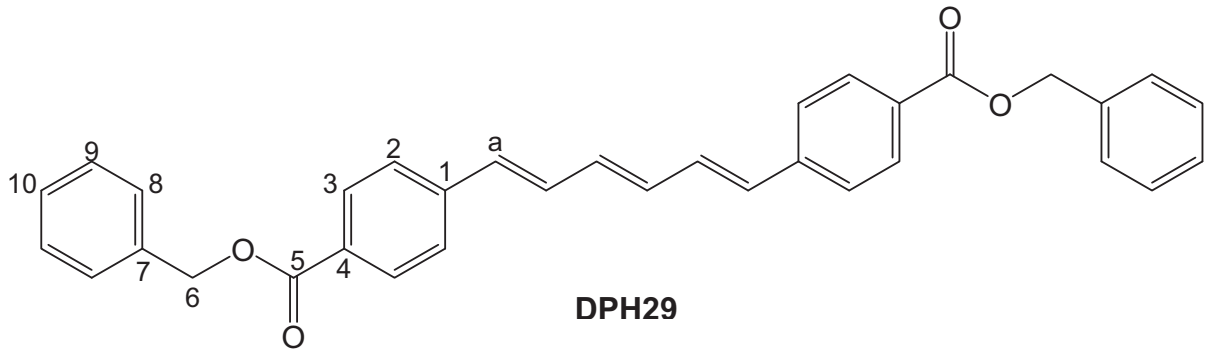


Abbildung 6.225: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **139**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[211]*

δ = 191.6 (s, C-a), 165.3 (s, C-5), 139.1, 135.5 und 135.0 (3 s, C-1, C-4 und C-7), 130.3 (s, C-3), 129.5 (s, C-2), 128.6 (s, C-9), 128.5 (s, C-10), 128.3 (s, C-8), 67.3 (s, C-6) ppm.

Versuch 71: Dibenzyl-4,4'-(hexa-1,3,5-triene-1,6-diyl)dibenzoat (DPH29)



DPH29

1.71 g (5.21 mmol) Tetraethyl-(but-2-en-1,4-diylbisphosphonat) (**105**) und 0.24 g (6.0 mmol) 60%iges Natriumhydrid in 50 ml abs. Tetrahydrofuran werden bei Raumtemperatur gerührt. Nach 0.5 h tropft man 3.32 g (13.8 mmol) Benyzl-4-formylbenzoat (**139**) in 10 ml abs. Tetrahydrofuran zu und rührt 1 h. Man gibt erneut 0.25 g (6.3 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zu und lässt das Reaktionsgemisch 70 d rühren.

Die Reaktionslösung wird mit 100 ml destilliertem Wasser hydrolysiert. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Der Rückstand wird mit Heptan versetzt. Der gelbe, ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Hexan/Ethylacetat in einem Verhältnis von 4/1 aufgereinigt.

$C_{34}H_{28}O_4$ (M = 500.58 g/mol)

Ausbeute: 0.738 g (1.47 mmol, 28 %) **DPH29**

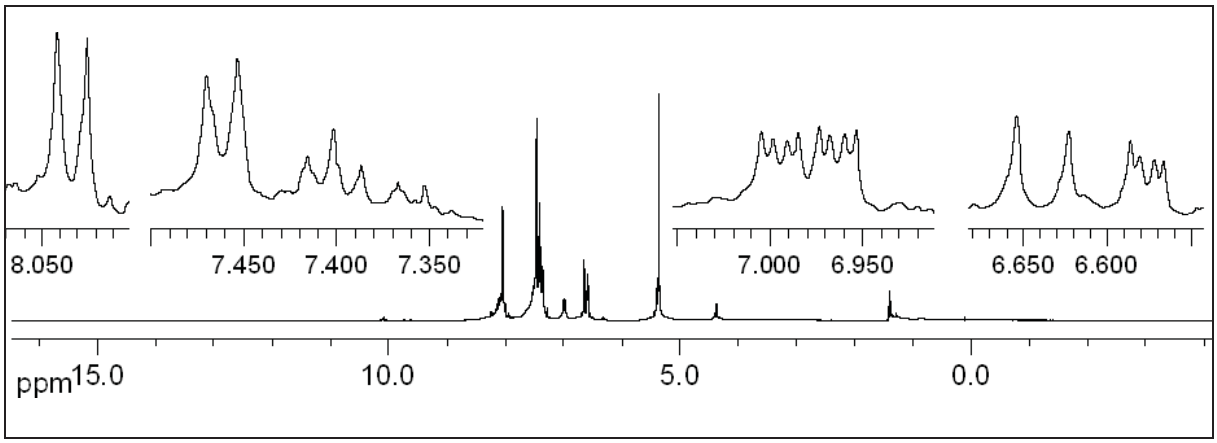


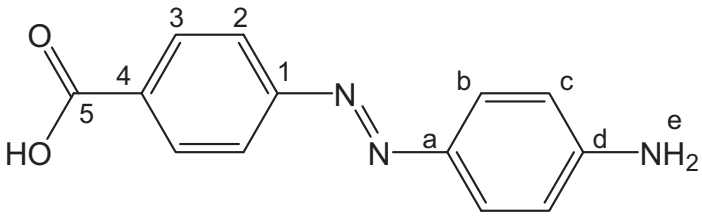
Abbildung 6.226: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **DPH**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

δ = 8.01 -8.06 (m, 4 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.4 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 7.34 – 7.48 (m, 8 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-8, H-9 und H-2), 7.32 – 7.38 (m, 2 H, H-10), 6.98* (ddd, 2 H, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^{3}J_{bc}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{bc}$ = 3.1 Hz, H-b), 6.64* (d, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 6.58* (dd, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 7.1 Hz, $^{4}J_{cb}$ = 2.9 Hz, H-c), 5.37 (s, 4 H, H-6) ppm.

6.3.2.5 Azobenzolsynthesen

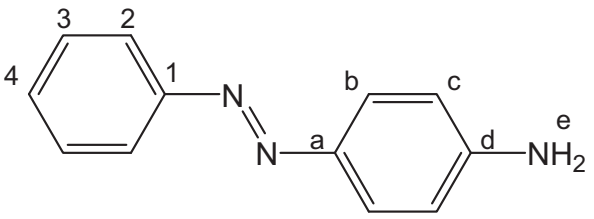
Versuch 72 und 73: 4-[(4-Aminophenyl)diazenyl]benzoesäure (AB03) und 4-Aminoazobenzol (AB02)[106]#



AB03

V72: Eine Lösung aus 6.88 g (50.2 mmol) p-Aminobenzoesäure (**225**) in verdünnter Salzsäure (14 ml konzentrierte Salzsäure und 60 ml Wasser) wird auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 2.09 g (30.2 mmol) Natriumnitrit (**140**) in 30 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 6 h gerührt.

In einem weiteren Kolben werden 4.20 g (105 mmol) Natriumhydroxid, 4.68 g (50.2 mmol) Anilin (**226**) in 500 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallendes Rohprodukt wird abgetrennt. Umkristallisation aus Wasser und Methanol führt teilweise zu einer Decarboxylierung. Zunächst fällt das Produkt **AB03** aus.



AB02

V73: Das Einengen der Lösung unter vermindertem Druck und die Zugabe von viel Wasser führt zum Ausfallen des Produkts **AB02** als dunkelroter Feststoff.



Abbildung 6.227: AB02 als roter Feststoff.

AB03: $C_{13}H_{11}N_3O_2$ (M = 241.25 g/mol)
AB02: $C_{12}H_{11}N_3$ (M = 197.24 g/mol)

Ausbeute: 124 mg (514 µmol, 2 %) **AB03**
1.36 g (6.90 mmol, 23 %) **AB02**

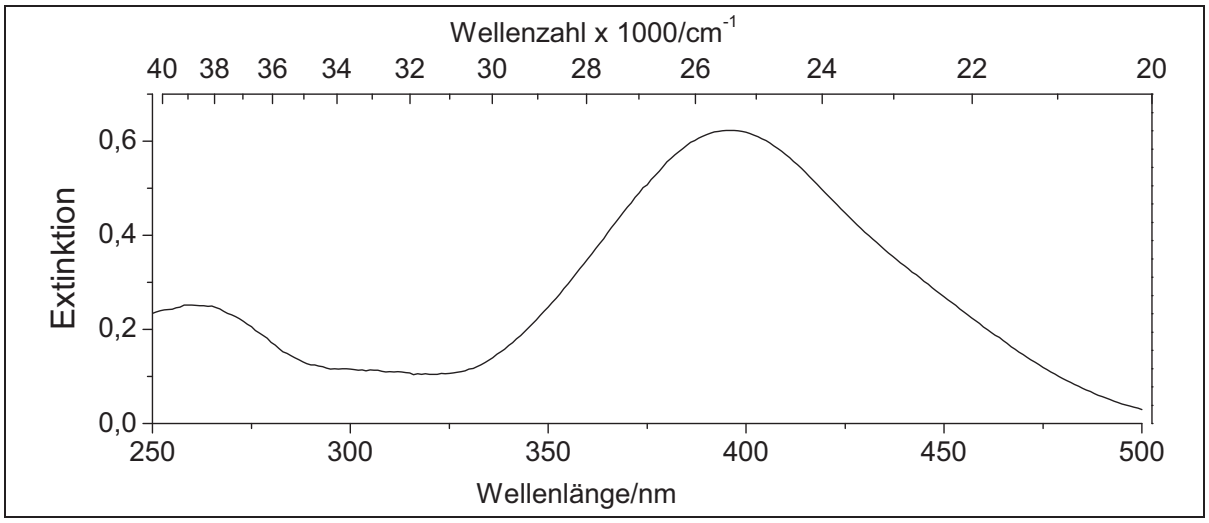


Abbildung 6.228: UV-Vis-Spektrum von **AB03** in Methanol (c = 66.3 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 397 (18800 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

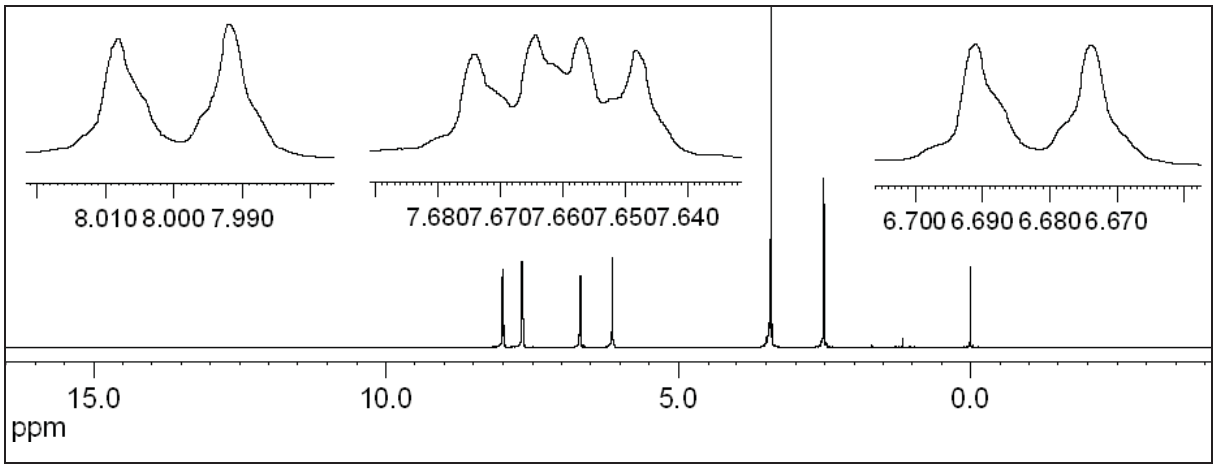


Abbildung 6.229: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB03**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[212, 213]*

δ = 7.98-8.02 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.1 Hz, H-3), 7.65-7.68 (m, 2 H, C-Teil des $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.5 Hz, H-b), 7.64-7.67 (m, 2 H, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.6 Hz, H-2), 6.66-6.70 (m, 2 H, D-Teil des $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.6 Hz, H-c), 6.12 (s, 2 H, H-e) ppm.

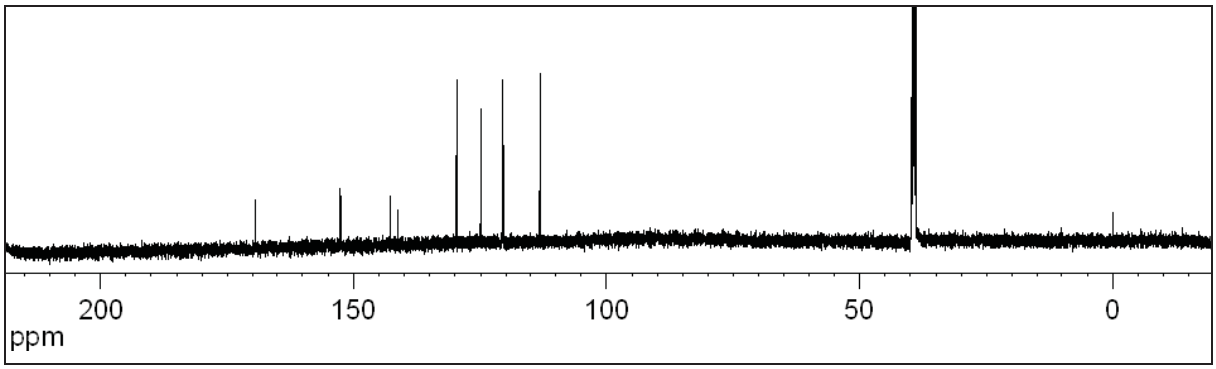


Abbildung 6.230: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB03**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 169.2 (s, C-5), 152.6 und 152.5 (je s, C-1 und C-d), 142.8 (s, C-a), 141.0 (s, C-4), 129.7 (s, C-3), 124.9 (s, C-b), 120.5 (s, C-2), 113.2 (s, C-c) ppm.

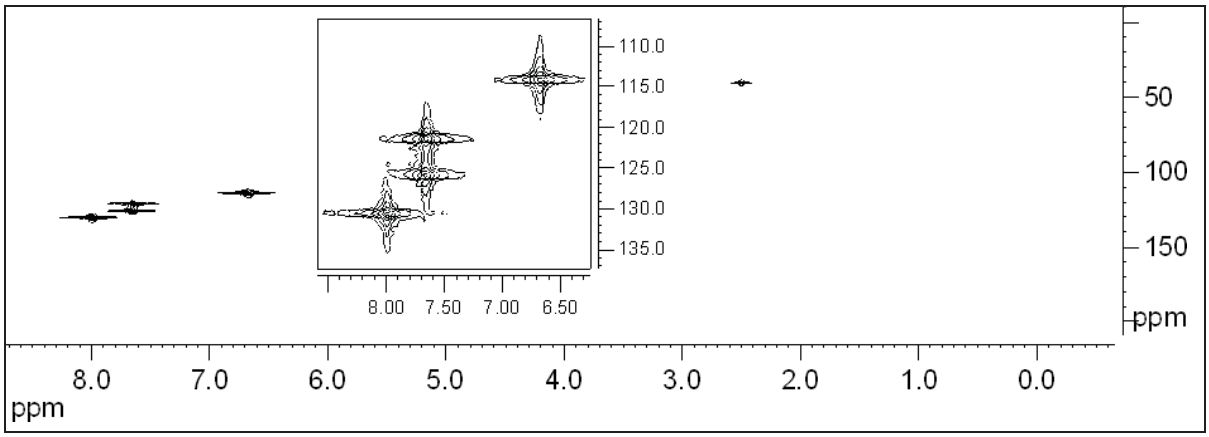


Abbildung 6.231: HMQC (500 MHz, DMSO-d_6), **AB03**.

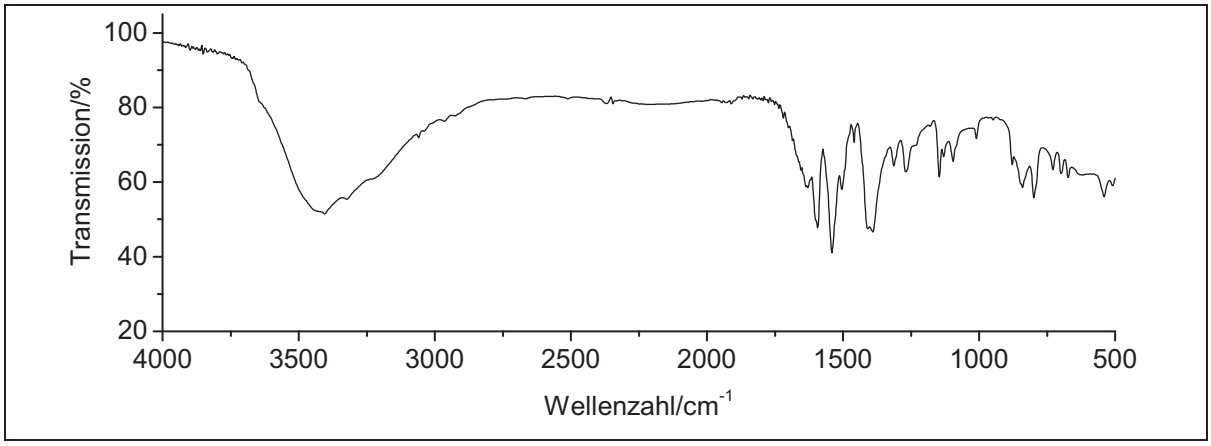


Abbildung 6.232: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB03**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3405 (-OH Valenzschwingung), 3323 (N-H Valenzschwingung), 3059 (Aryl-H Valenzschwingung), 1630 (C=O Valenzschwingung), 1593, 1541 und 1504 (C=C Valenzschwingung), 1270 (-OH Deformationsschwingung), 840 und 799 (2 H eines 1,4-substituierten Aromats) cm^{-1}.

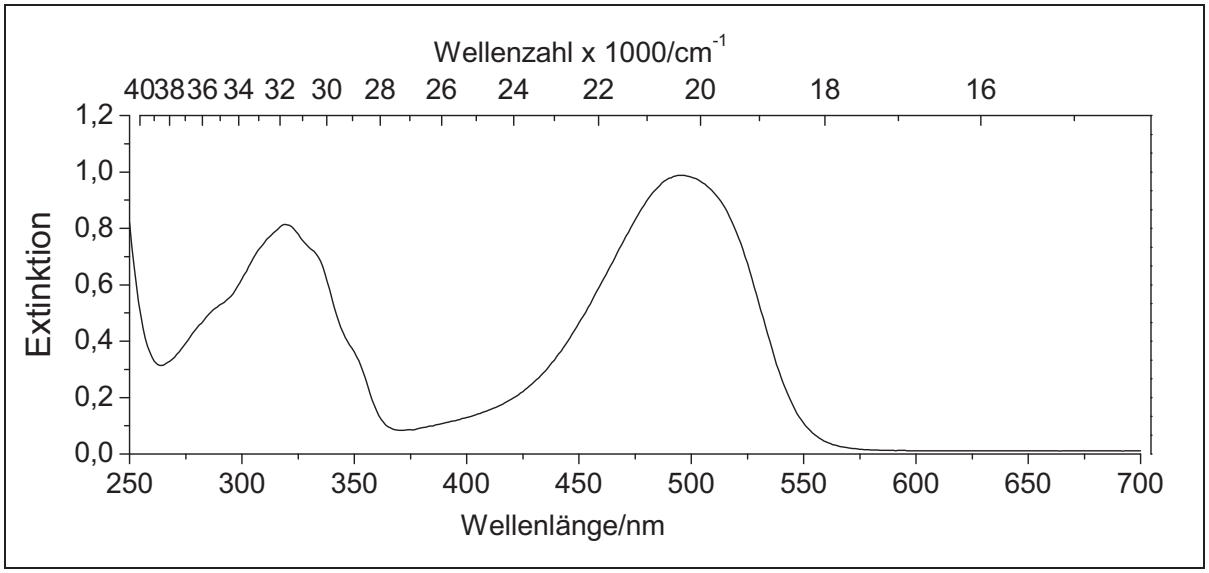


Abbildung 6.233: UV-Vis-Spektrum von **AB02** in Methanol (c ≈ 66.3 µmol/l, d = 1 cm) mit Trifluoressigsäure.

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 319 (24600 (l/mol)*cm^{-1}), 496 (29800 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

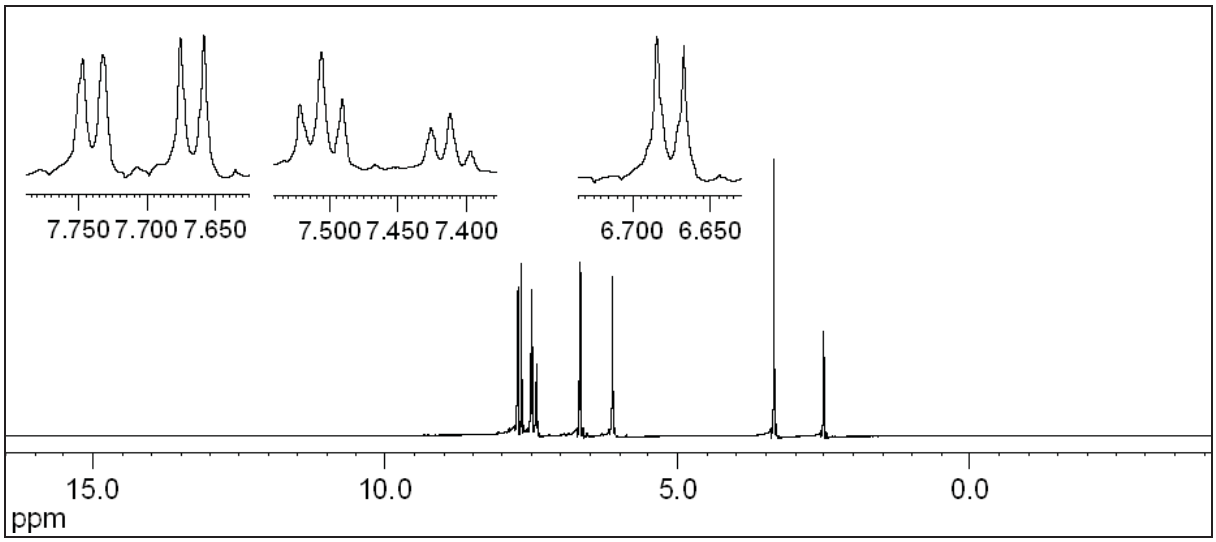


Abbildung 6.234: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB02**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): [214]*

δ = 7.72-7.76 (m, 2 H, E-Teil eines $[DE]_2C$-Systems, H-2), 7.65-7.69 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.7 Hz, H-b), 7.48-7.53 (m, 2 H, D-Teil eines $[DE]_2C$-Systems, H-3), 7.39-7.44 (m, 1 H, C-Teil eines $[DE]_2C$-Systems, H-4), 6.65-6.70 (m, 2 H, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.7 Hz, H-c), 6.11 (s, 2 H, H-e) ppm.

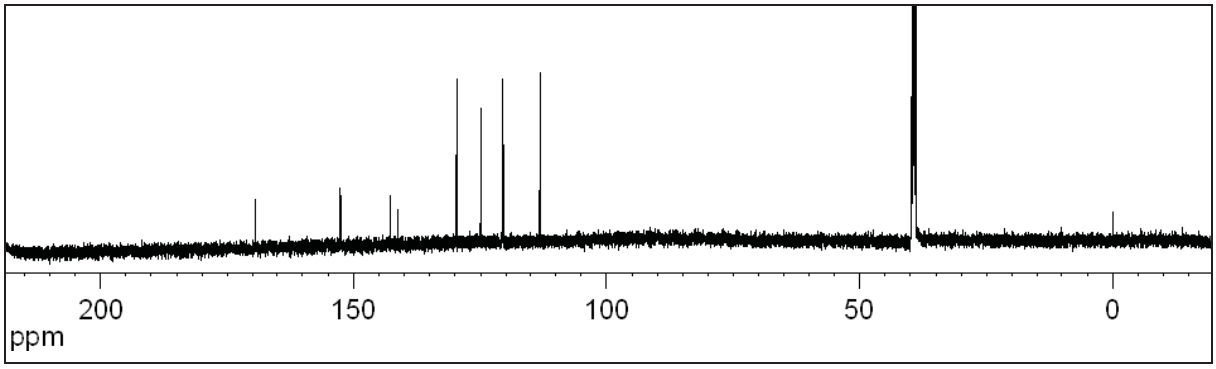


Abbildung 6.235: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB02**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): [214]*

δ = 152.8 und 152.4 (je s, C-1 und C-d), 142.7 (s, C-a), 129.3 (s, C-4), 129.1 (s, C-3), 125.1 (s, C-b), 121.6 (s, C-2), 113.3 (s, C-c) ppm.

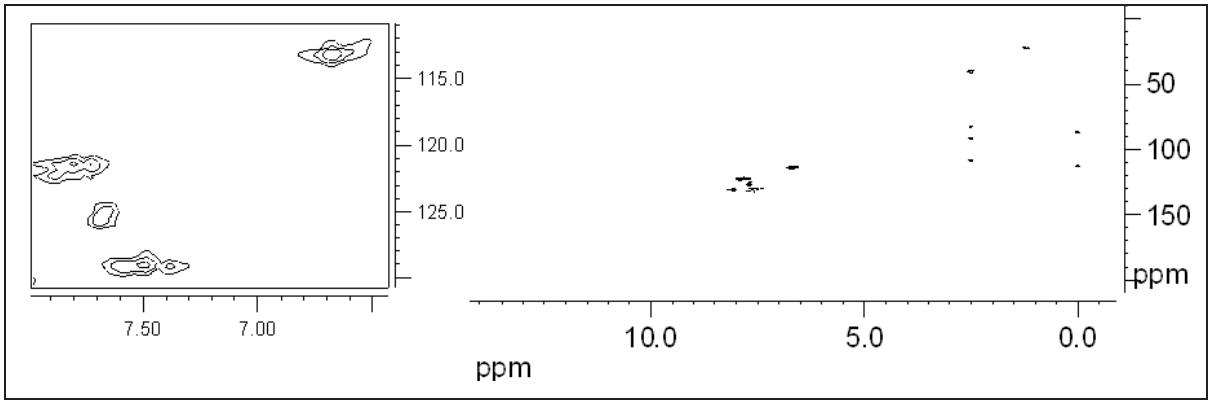


Abbildung 6.236: HMQC (500 MHz, DMSO-d_6), **AB02**.

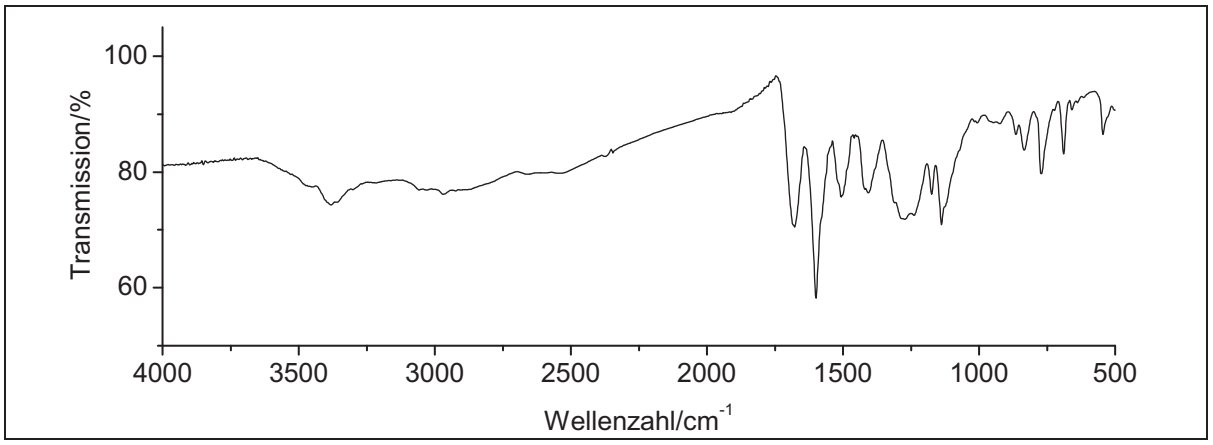
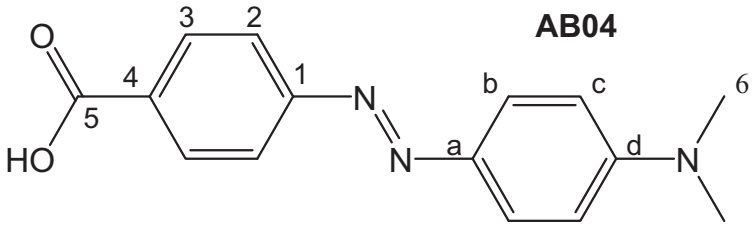


Abbildung 6.237: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB02**.

IR (KBr):[215, 216]*

$\tilde{\nu}$ = 3381 (N-H Valenzschwingung), 3057 und 3030 (Aryl-H Valenzschwingung), 1678 (N-H Deformationsschwingung), 1599 und 1506 (C=C Valenzschwingung), 835 (2 H eines 1,4-substituierten Aromaten), 772 und 689 (5 H eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 74: 4-[(4-Dimethylamino)phenyldiazenyl]benzoesäure (AB04)[213]#



AB04

Eine Lösung aus 6.90 g (50.3 mmol) p-Aminobenzoesäure (**225**) in verdünnter Salzsäure (14 ml konzentrierte Salzsäure und 60 ml Wasser) wird auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 4.31 g (62.5 mmol) Natriumnitrit (**140**) in 30 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 6 h gerührt.

In einem weiteren Kolben werden 4.20 g (105 mmol) Natriumhydroxid, 6.13 g (50.6 mmol) *N,N*-Dimethylanilin (**228**) in 50 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallendes Rohprodukt wird abgetrennt und mit Heptan/Hexan 1:3 ausgekocht. Das

Lösungsmittel wird abdekantiert. Der zurückbleibende Feststoff wird mit Methanol aufgenommen und das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt. Man erhält das Produkt **AB04** als roten Feststoff.

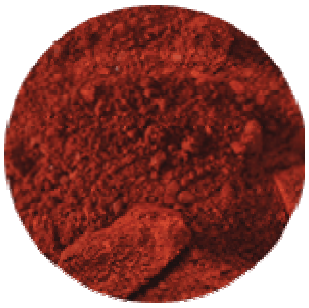


Abbildung 6.238: AB04 als roter Feststoff.

$C_{15}H_{15}N_3O_2$ (M = 269.30 g/mol)

Ausbeute: 12.86 g (47.8 mmol, 95 %) **AB04**

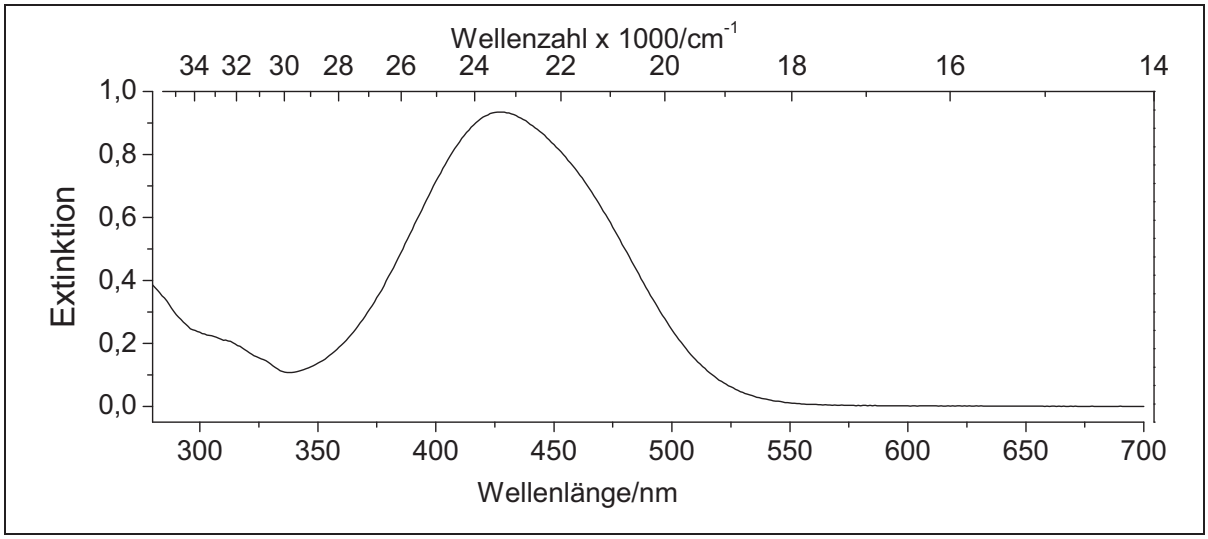


Abbildung 6.239: UV-Vis-Spektrum von **AB04** in Methanol (c = 62.4 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 428 (15000 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

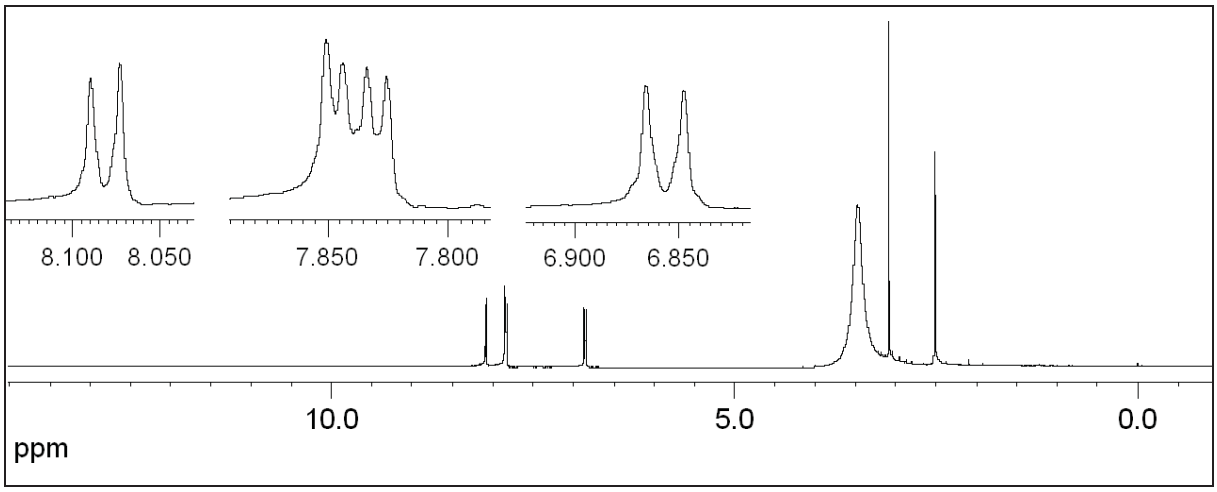


Abbildung 6.240: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB04**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[217]*

δ = 8.06-8.10 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.3 Hz, H-3), 7.82-7.86 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.3 Hz, H-2), 7.81-7.85 (m, 2 H, C-Teil eines $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 9.1 Hz, H-b), 6.84-6.88 (m, 2 H, D-Teil eines $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 9.1 Hz, H-c), 3.09 (s, 6 H, H-e) ppm.

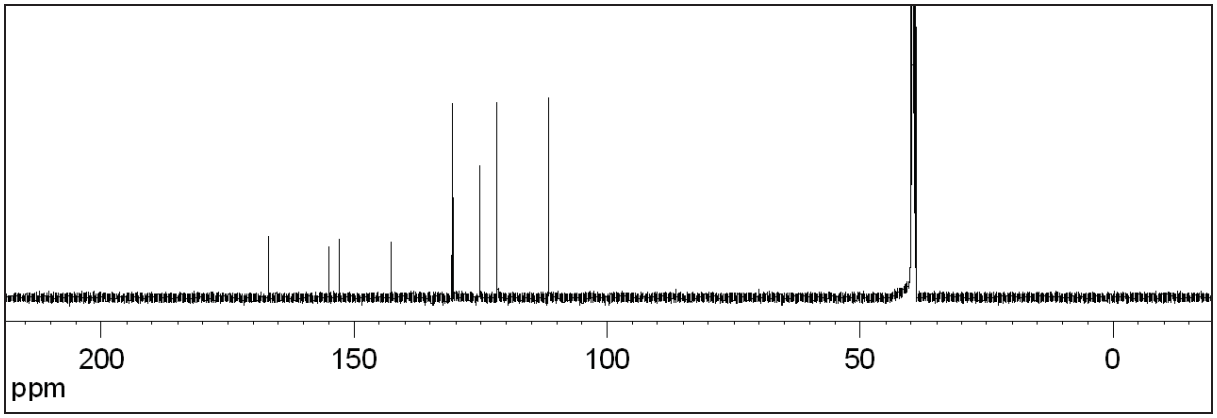


Abbildung 6.241: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB04**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 166.9 (s, C-5), 155.0 (s, C-1), 153.0 (s, C-d), 142.6 (s, C-a), 103.9 (s, C-4), 130.5 (s, C-3), 125.3 (s, C-b), 121.7 (s, C-2), 111.6 (s, C-c), 39.8 (s, C-e) ppm.

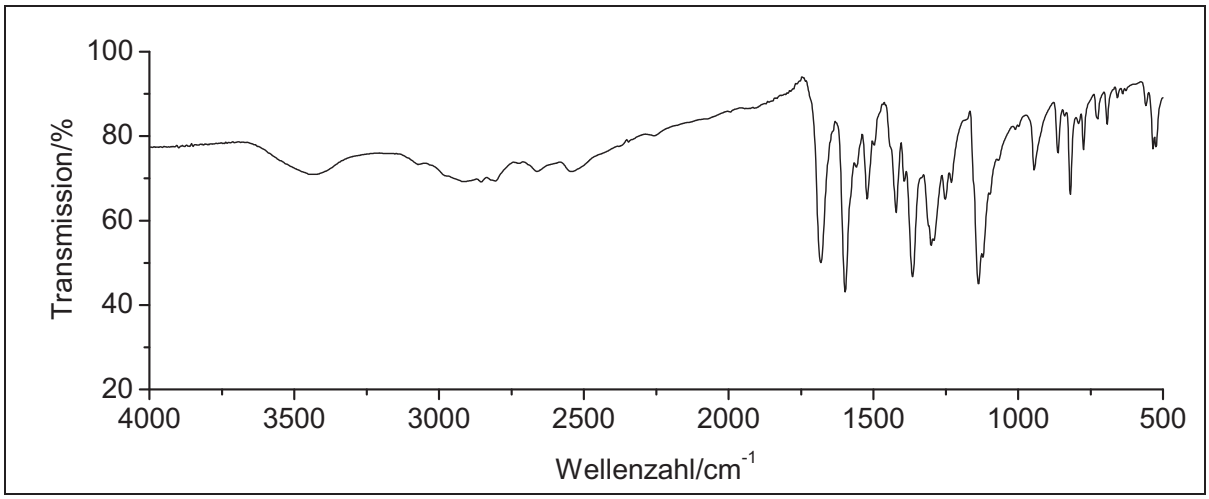


Abbildung 6.242: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB04**.

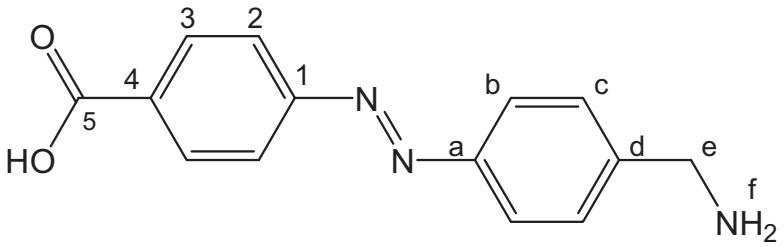
IR (KBr):[217]*

$\tilde{\nu}$ = 3073 (Aryl-H Valenzschwingung), 2908 (-CH_3 Valenzschwingung), 2661 (-COOH Valenzschwingung), 1682 (C=O Valenzschwingung), 1597 und 1521 (Aryl-H Valenzschwingung), 1422 (-CH Deformationsschwingung), 1365 (-CH_3 symmetrische Deformationsschwingung), 1301 (-OH Deformation), 1137 (-CO Valenz), 863 und 820 (p-substituierter Aromat) cm^{-1}.

MS (70 eV):

m/z = 269 (M+, 80 %), 148 (29 %), 77 (11 %), 65 (7 %).

Versuch 75: 4-[4-(Aminomethyl)phenyldiazenyl]benzoesäure (AB05)[213]#



AB05

Eine Lösung aus 2.17 g (14.4 mmol) Methyl-4-aminobenzoat (**227**) in verdünnter Salzsäure (4 ml konzentrierte Salzsäure und 20 ml Wasser) wird auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 1.40 g (20.3 mmol) Natriumnitrit (**140**)

in 8 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 1.5 h gerührt.
In einem weiteren Kolben werden 1.23 g (30.8 mmol) Natriumhydroxid und 3.21 g (15.5 mmol) *tert*-Butyl-*N*-benzylcarbamat (**229**) in 100 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallendes Rohprodukt wird abgetrennt und aus Wasser und Methanol umkristallisiert. Man erhält das Produkt **AB05** als roten Feststoff.

$C_{14}H_{13}N_3O_2$ (M = 255.27 g/mol)

Ausbeute: 2.08 g (8.15 mmol, 57 %) **AB05**

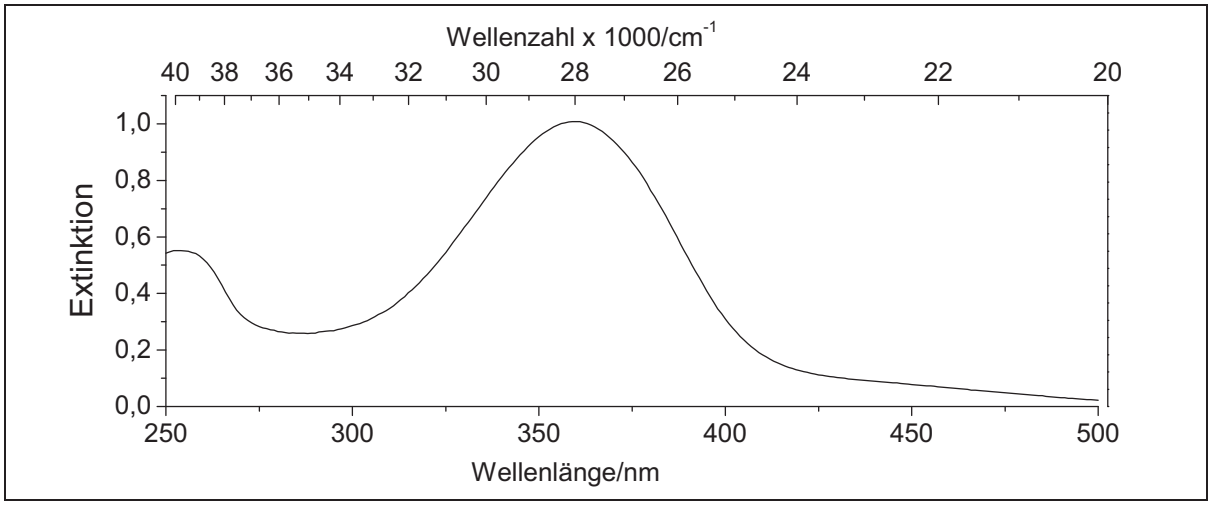


Abbildung 6.243: UV-Vis-Spektrum von **AB05** in Methanol (c = 9.71 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):
λ_{max} (ε_{max}) = 359 (20800 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

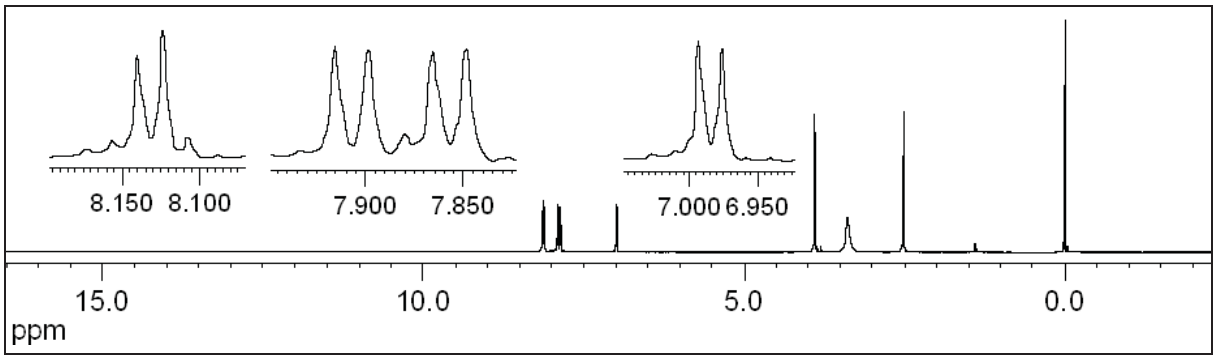


Abbildung 6.244: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO), **AB05**.

^{1}H-NMR* (500 MHz, DMSO):

δ = 10.57 (bs, 1 H, H-5), 8.11-8.15 (m, 2 H, D-Teil des $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.2 Hz, H-3), 7.88-7.93 (m, 2 H, C-Teil des $[CD]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.4 Hz, H-2), 7.83-7.87 (m, 2 H, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.7 Hz, B-Teil des $[AB]_2$-Systems H-b), 6.96-7.00 (m, 2 H, ATeil des $[AB]_2$-Systems, H-c), 3.90 (s, 2 H, H-e), 3.38 (bs, 3 H, H-f) ppm.

Diese NMR-Spektren stimmen mit NMR-Spektren einer Probe von **AB05**, der Trifluoressigsäure zugesetzt wurde, überein. Es handelt sich hier also um die protonierte Form von **AB05**.

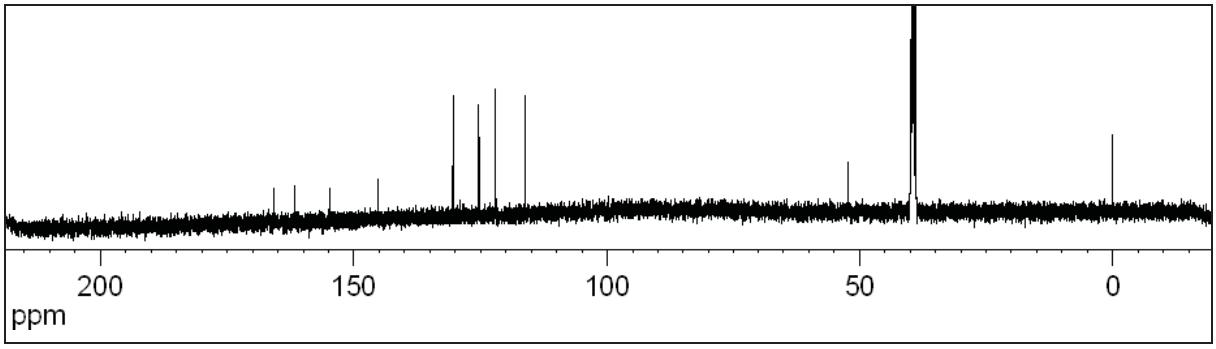


Abbildung 6.245: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO), **AB05**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR* (125 MHz, DMSO):

δ = 165.6 (s, C-5), 161.7 (s, C-1), 154.7 (s, C-a), 145.2 (s, C-d), 130.5 (s, C-4), 130.4 (s, C-3), 125.3 (s, C-b), 122.1 (s, C-2), 116.0 (s, C-c), 52.2 (s, C-e) ppm.

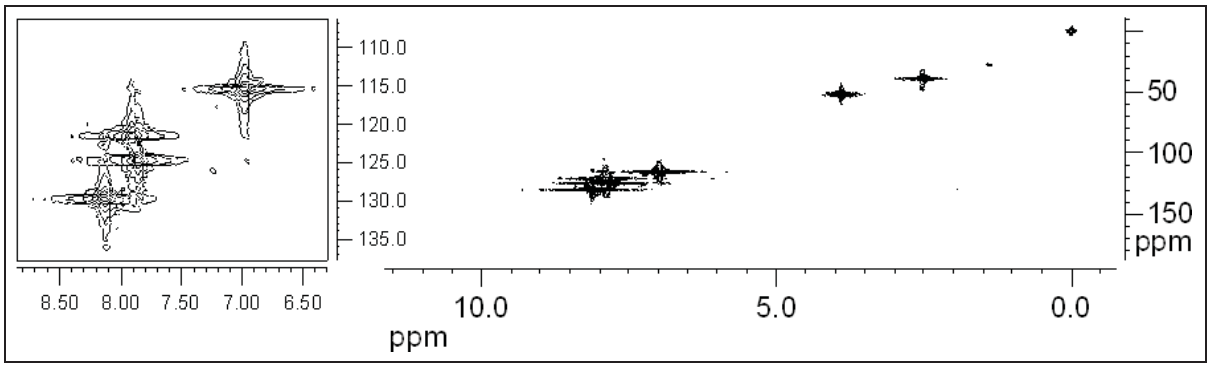


Abbildung 6.246: HMQC* (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO), **AB05**.

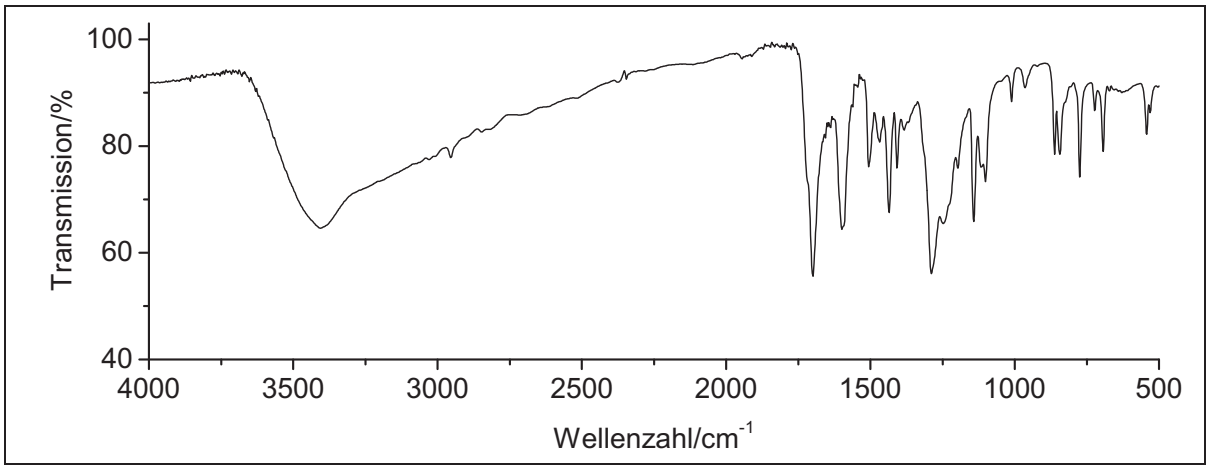


Abbildung 6.247: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB05**.

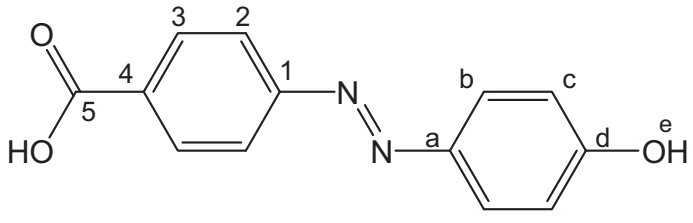
IR (KBr):

ṽ = 3405 (N-H Valenzschwingung), 2955 (O-H Valenzschwingung), 1699 (C=O Valenzschwingung), 1599 und 1506 (C=C Valenzschwingung), 1435 (C-H Deformationsschwingung), 1288 (O-H Deformationsschwingung), 862 und 844 (zwei H eines 1,4-substitutierten Aromaten), 720 (CH_2 rocking Schwingung) cm^{-1}.

MS (70 eV):

m/z =258 (M^++2, 3 %), 257 (M^++1, 19 %), 256 (M+, 100 %), 225 (11 %), 181 (3 %), 135 (27 %), 121 (83 %), 93 (96 %), 65 (22 %).

Versuch 76: 4-[(4-Hydroxyphenyl)diazenyl]benzoesäure (AB06)[213, 218]#



AB06

Eine Lösung aus 6.90 g (50.3 mmol) p-Aminobenzoesäure (**225**) in verdünnter Salzsäure (14 ml konzentrierte Salzsäure und 60 ml Wasser) wird auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 4.20 g (6.09 mmol) Natriumnitrit (**140**) in 30 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 1.5 h gerührt.

In einem Kolben werden 4.12 g (103 mmol) Natriumhydroxid und 4.84 g (51.4 mmol) Phenol (**230**) in 500 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 2 h unter Kühlung gerührt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Man erhält **AB06** in Form des Natriumsalzes **AB06-Na**.

Das Filtrat wird mit konzentrierter Salzsäure auf pH = 1 gebracht. Ausfallender Feststoff wird mit 50 ml Diethylether gewaschen. Das Rohprodukt wird aus Methanol und Wasser umkristallisiert.

$C_{13}H_9N_2NaO_3$ (M = 264.21 g/mol)
$C_{13}H_{10}N_2O_3$ (M = 242.23 g/mol)

Ausbeute: 326 mg (1.23 mmol, 2 %) **AB06-Na**
9.27 g (38.3 mmol, 76 %) **AB06**



Abbildung 6.248: AB06 als orangefarbener Feststoff.

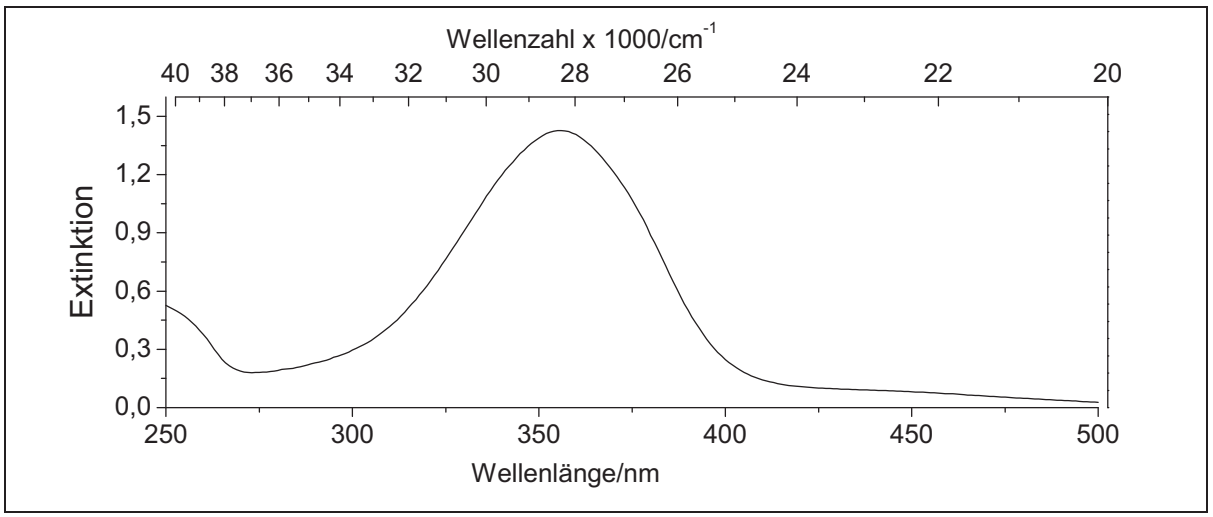


Abbildung 6.249: UV-Vis-Spektrum von **AB06-Na** in Methanol (c = 96.9 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 355 (29500 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

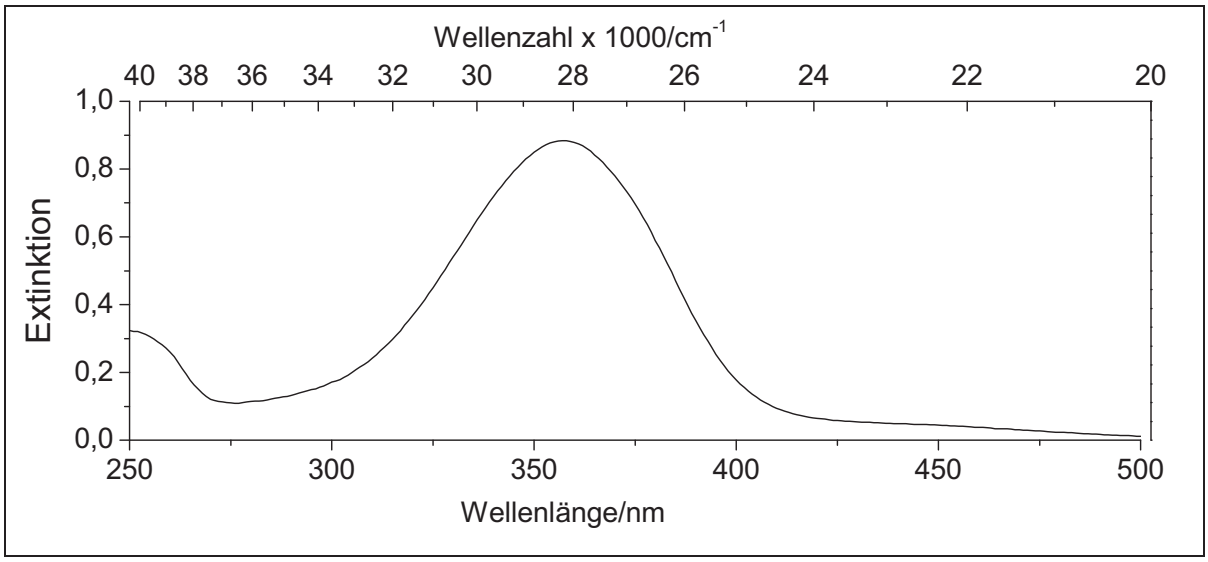


Abbildung 6.250: UV-Vis-Spektrum von **AB06** in Methanol (c = 61.1 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 357 (28900 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

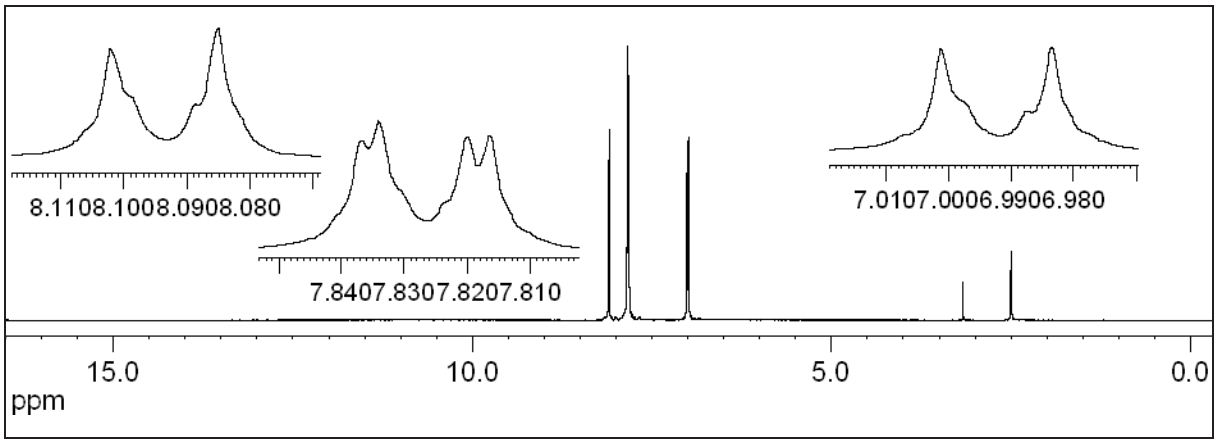


Abbildung 6.251: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB06-Na**.

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

δ = 8.07-8.12 (m, 2 H, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3), 7.86-7.89 (m, 2 H, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 8.5 Hz, H-2), 7.82-7.86 (m, 2 H, $^{3}J_{bc}$+$^{5}J_{bc}$ = 8.8 Hz, H-b), 6.94-7.01 (m, 2 H, $^{3}J_{cb}$+$^{5}J_{cb}$ = 8.8 Hz, H-c) ppm.

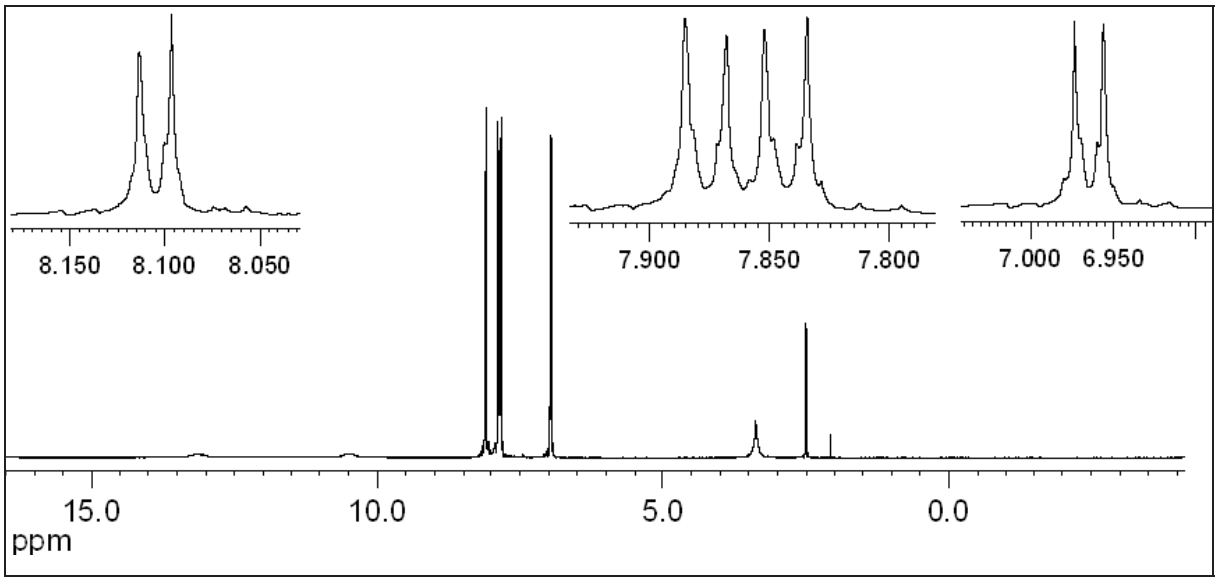


Abbildung 6.252: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6),**AB06**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[107, 218]*

δ = 13.13 (s, 1 H, H-6), 10.47 (s, 1 H, H-ε), 8.09-8.12 (m, 2 H, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3), 7.86-7.89 (m, 2 H, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 8.6 Hz, H-2), 7.82-7.86 (m, 2 H, $^{3}J_{bc}$+$^{5}J_{bc}$ = 8.9 Hz, H-b), 6.94-6.99 (m, 2 H, $^{3}J_{cb}$+$^{5}J_{cb}$ = 8.9 Hz, H-c) ppm.

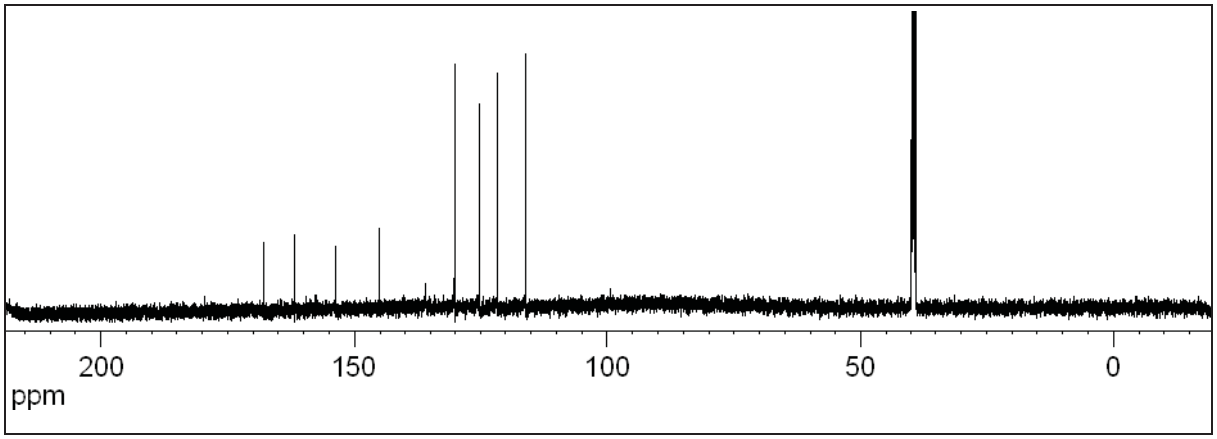


Abbildung 6.253: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB06-Na**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 166.7 (s, C-5), 161.6 (s, C-d), 154.5 (s, C-1), 145.2 (s, C-a), 131.8 (s, C-4), 130.5 (s, C-3), 125.3 (s, C-b) 122.0 (s, C-2), 116.0 (s, C-c) ppm.

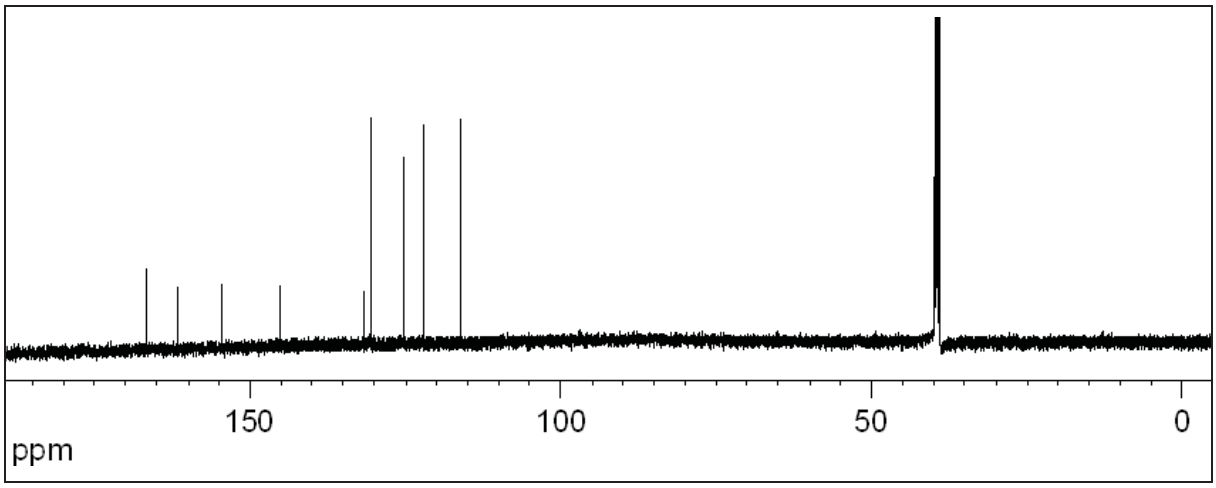


Abbildung 6.254: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB06**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): [218]*

δ = 167.8 (s, C-5), 161.9 (s, C-d), 153.7 (s, C-1), 145.2 (s, C-a), 135.9 (s, C-4), 130.2 (s, C-3), 125.0 (s, C-b) 121.6 (s, C-2), 116.1 (s, C-c) ppm.

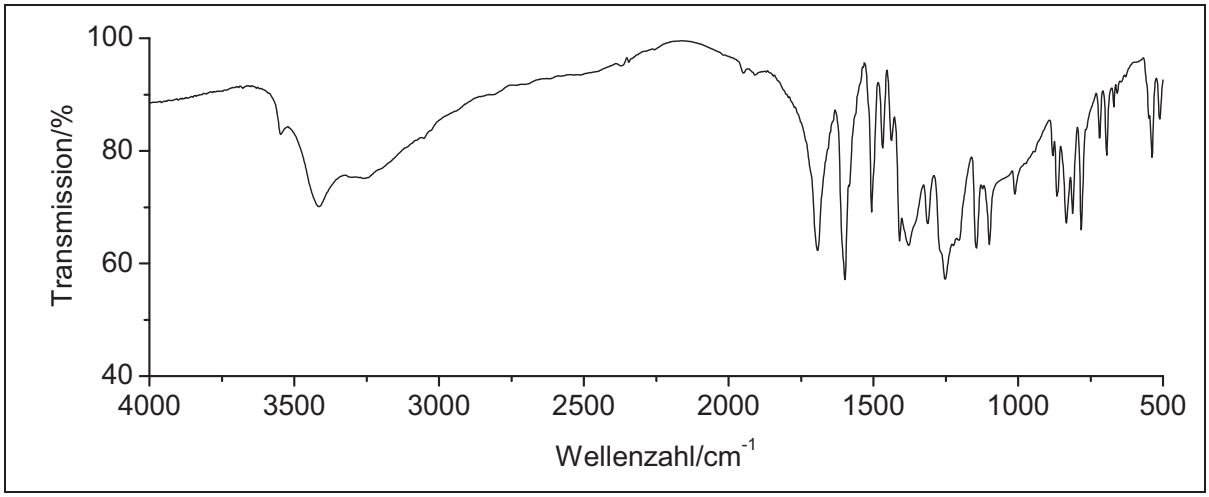


Abbildung 6.255: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB06-Na**.

IR (KBr):

ṽ = 3250 (-OH Valenzschwingung), 1693 (C=O Valenzschwingung), 1598, 1506 und 1468 (C=C Valenzschwingung im Aromat), 1252 (-OH Deformationsschwingung), 1145 (C-O Valenzschwingung), 830 und 866 (p-substituierter Aromat) cm^{-1}.

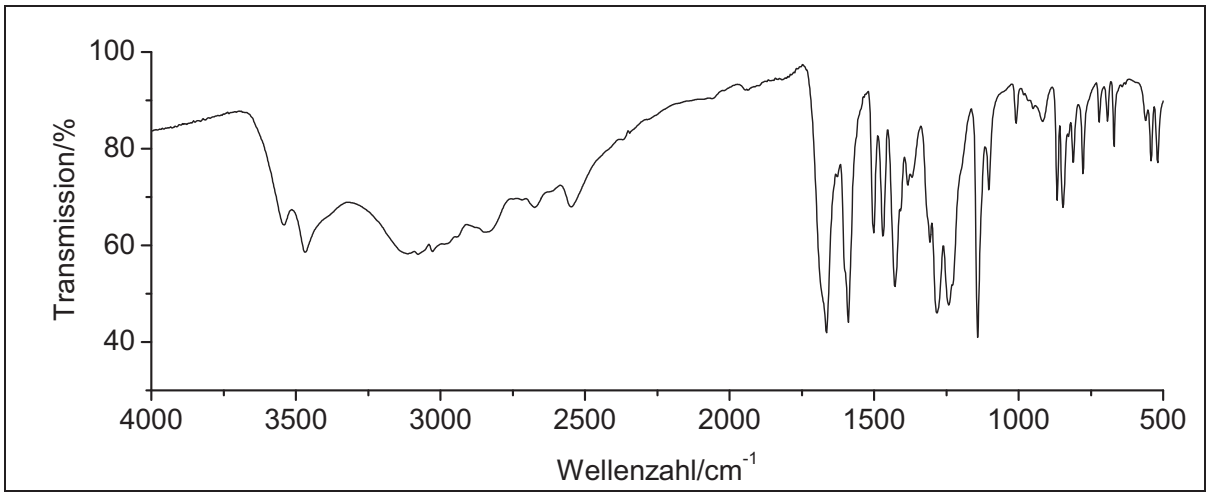
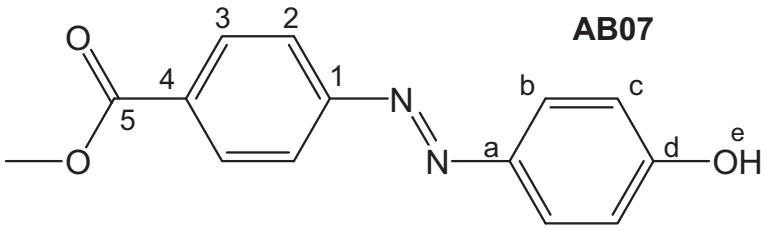


Abbildung 6.256: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB06**.

IR (KBr):

ṽ = 3113 (-OH Valenzschwingung), 2548 (-CO-**OH** Valenzschwingung) 1665 (C=O Valenzschwingung), 1589, 1501 und 1469 (C=C Valenzschwingung im Aromat), 1283 (-CO-**OH** Deformationsschwingung), 1241 (-OH Deformationsschwingung), 1142 (C-O Valenzschwingung), 847 und 866 (p-substituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 77: Methyl-4-[(4-hydroxyphenyl)diazenyl]benzoat (AB07)[213]#



Eine Lösung aus 7.00 g (50.3 mmol) Methyl-*p*-aminobenzoat (**227**) in verdünnter Salzsäure (14 ml konzentrierte Salzsäure und 60 ml Wasser) wird auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 4.22 g (6.12 mmol) Natriumnitrit (**140**) in 30 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 1.5 h gerührt.

In einem weiteren Kolben werden 4.00 g (100 mmol) Natriumhydroxid, 5.02 g (5.33 mmol) Phenol (**230**) in 500 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallendes

Rohprodukt wird abgetrennt und aus Wasser und Ethanol umkristallisiert. Man erhält das Produkt **AB07** als orangefarbenen Feststoff.

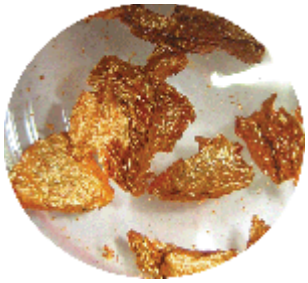


Abbildung 6.257: AB07 als metallischglänzender Feststoff.

$C_{14}H_{12}N_2O_3$ (M = 256.26 g/mol)

Ausbeute: 9.62 g (37.5 mmol, 75 %) **AB07**

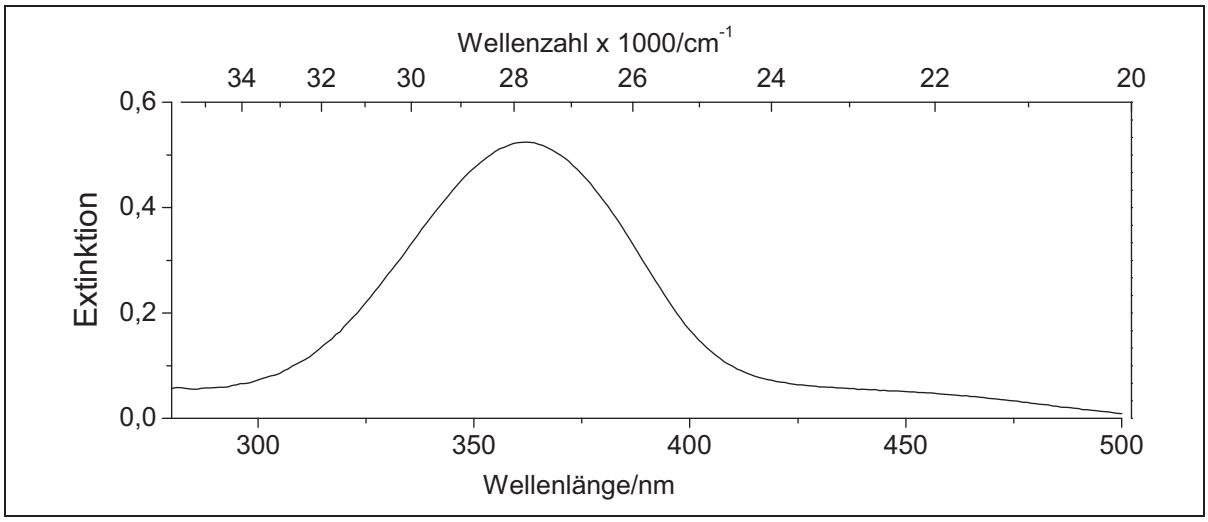


Abbildung 6.258: UV-Vis-Spektrum von **AB07** in Methanol (c = 10.3 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 362 (25400 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

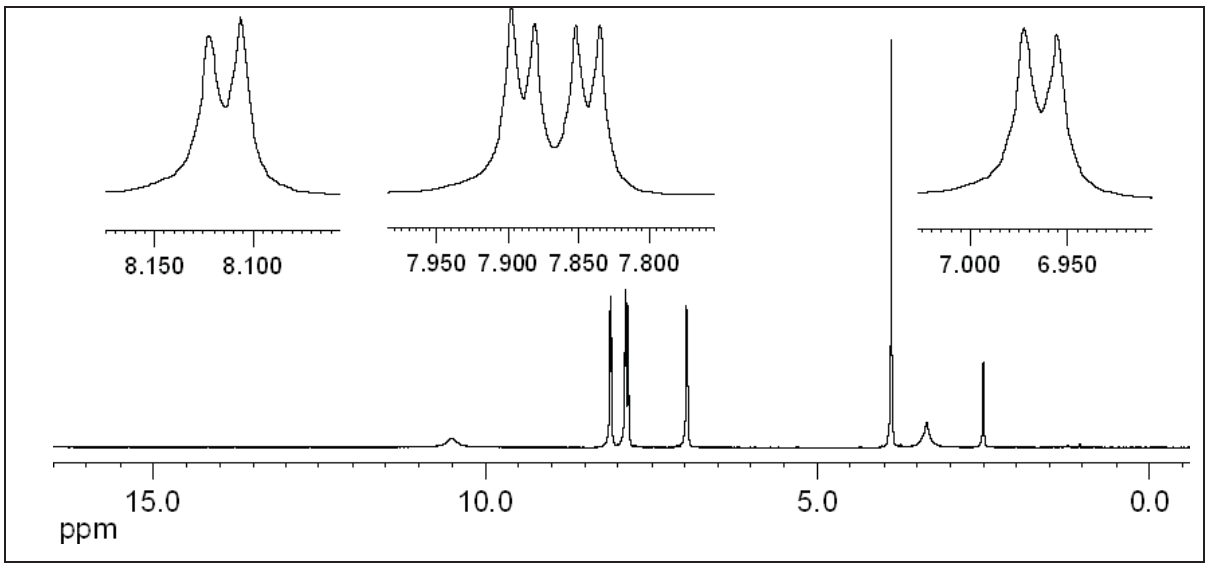


Abbildung 6.259: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB07**.

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

δ = 10.50 (s, 1 H, H-e), 8.09-8.15 (m, 2 H, $^{3}J_{32}+^{5}J_{32}$ = 8.2 Hz, H-3), 7.87-7.91 (m, 2 H, $^{3}J_{23}+^{5}J_{23}$ = 8.2 Hz, H-2), 7.82-7.87 (m, 2 H, $^{3}J_{bc}+^{5}J_{bc}$ = 8.5 Hz, H-b), 6.94-4.99 (m, 2 H, $^{3}J_{cb}+^{5}J_{cb}$ = 8.5 Hz, H-c), 3.88 (s, 3 H, H-6) ppm.

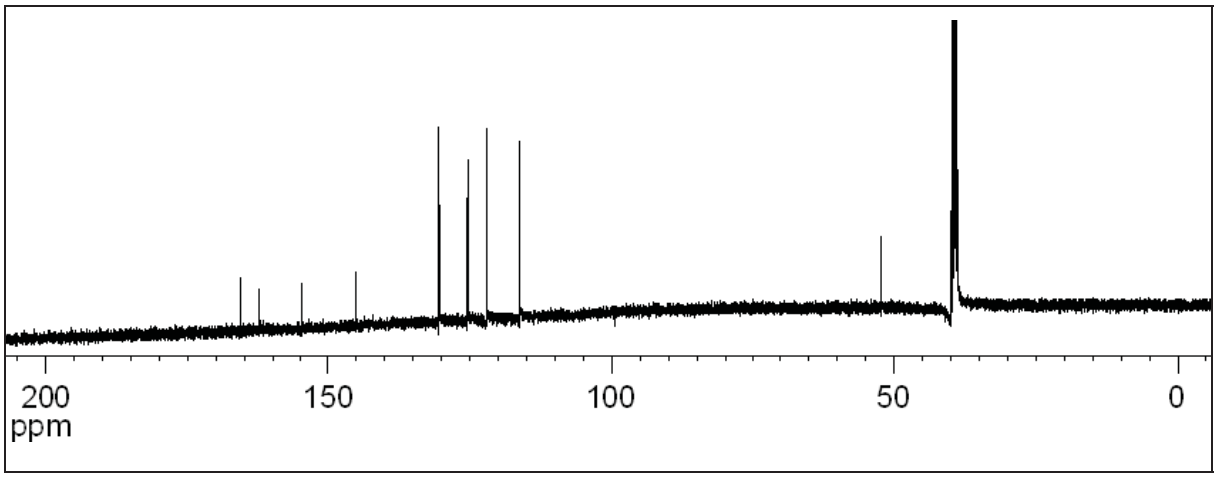


Abbildung 6.260: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB07**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 165.6 (s, C-5), 162.1 (s, C-d), 154.7 (s, C-1), 145.1 (s, C-a), 130.4 (s, C-4), 130.4 (s, C-3), 125.4 (s, C-b) 122.1 (s, C-2), 116.1 (s, C-c), 52.3 (s, C-6) ppm.

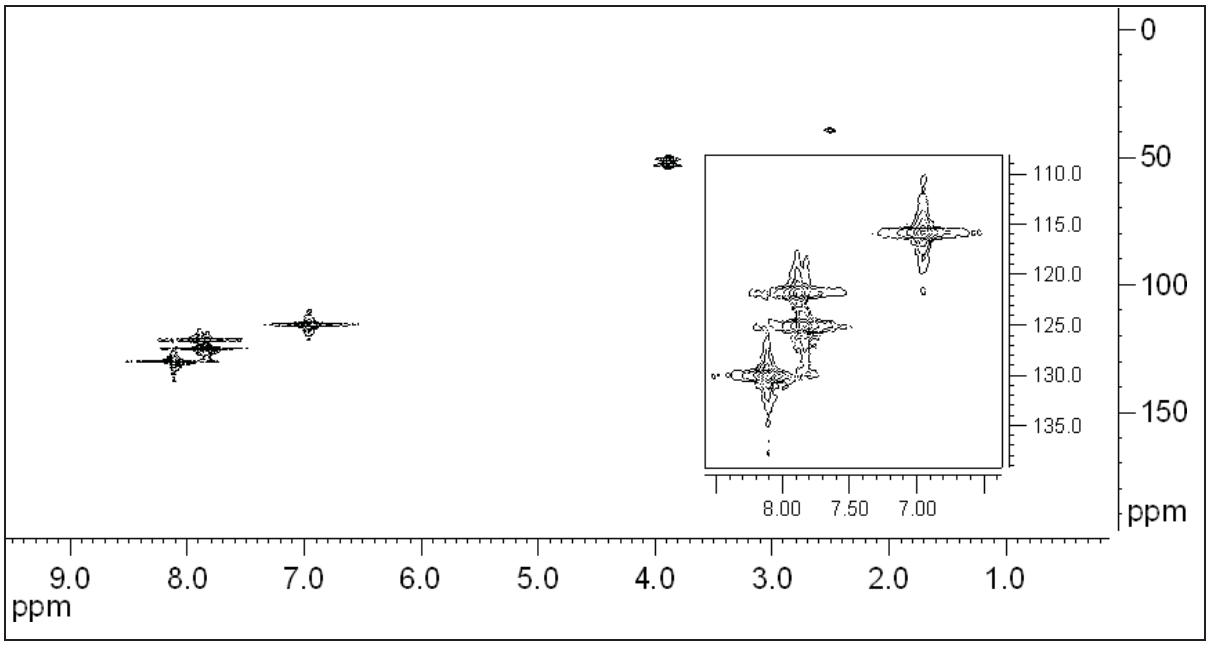


Abbildung 6.261: HMQC (500 MHz, DMSO-d_6), **AB07**.

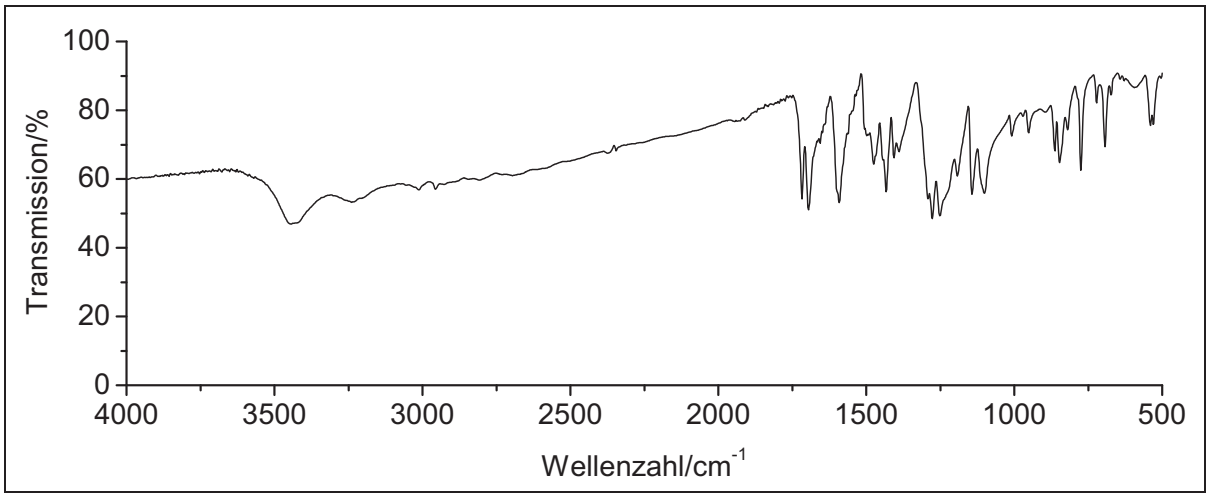
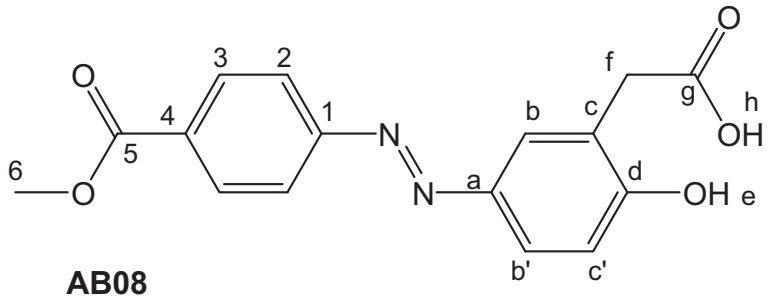


Abbildung 6.262: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB07**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3250 (-OH Valenzschwingung), 3013 (Aryl-H Valenzschwingung), 2955 (-CH_3 Valenzschwingung), 2806 (-O-CH_3 Valenzschwingung), 1717 (C=O Valenzschwingung), 1591, 1499 und 1475 (C=C Valenzschwingung), 1433 (-OH Deformationsschwingung), 1391 (-CH_3 symmetrische Deformationsschwingung), 1277 und 1099 (Ester δ_{asym}), 1252 (-OH Deformationsschwingung), 847 und 862 (p-substituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 78: 2-(2-Hydroxy-5-{[4-(methoxycarbonyl)phenyl]diazenyl}-phenyl)essigsäure (AB08)[106]#



AB08

Eine Lösung aus 3.53 g (23.3 mmol) Methyl-4-aminobenzoat (**227**) in verdünnter Salzsäure (7 ml konzentrierte Salzsäure und 30 ml Wasser) auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 2.13 g (30.9 mmol) Natriumnitrit (**140**) in 15 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die gekühlte Reaktionslösung wird 1 h gerührt.

In einem weiteren Kolben werden 2.05 g (50.0 mmol) Natriumhydroxid und 4.08 g (26.8 mmol) 2-Hydroxyphenylessigsäure (**231**) in 50 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 5 h unter Kühlung gerührt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Rohprodukt **AB08** wird aus Methanol und Wasser umkristallisiert.



Abbildung 6.263: AB08 als metallisch glänzender Feststoff.

$C_{16}H_{14}N_2O_5$ (M = 314.29 g/mol)

Ausbeute: 5.35 g (17.0 mmol, 73 %) **AB08**

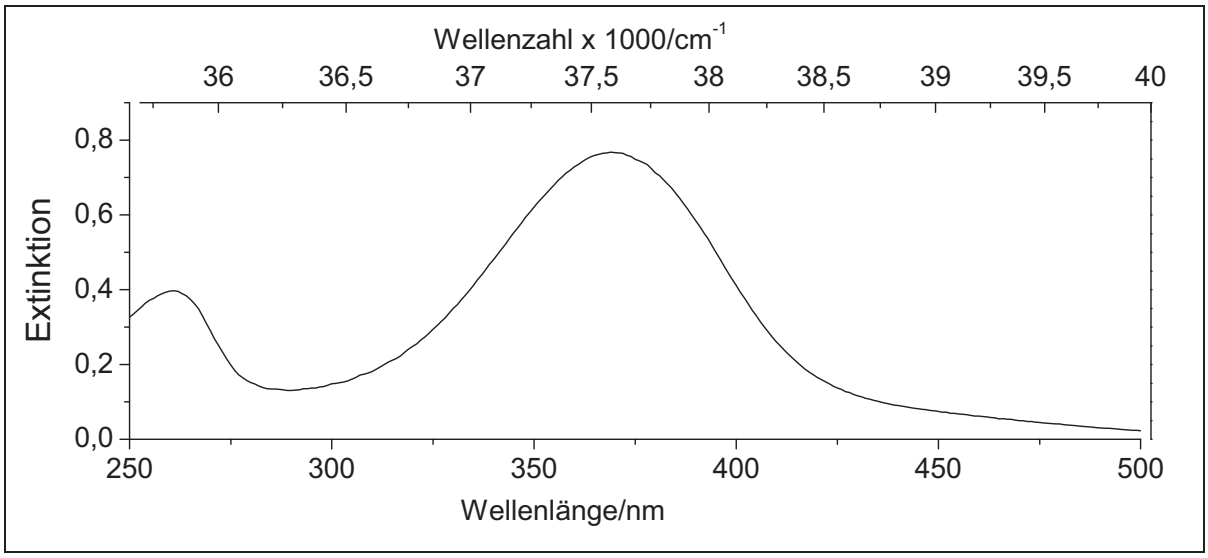


Abbildung 6.264: UV-Vis-Spektrum von **AB08** in Methanol(c = 58.5 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 369 (13100 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

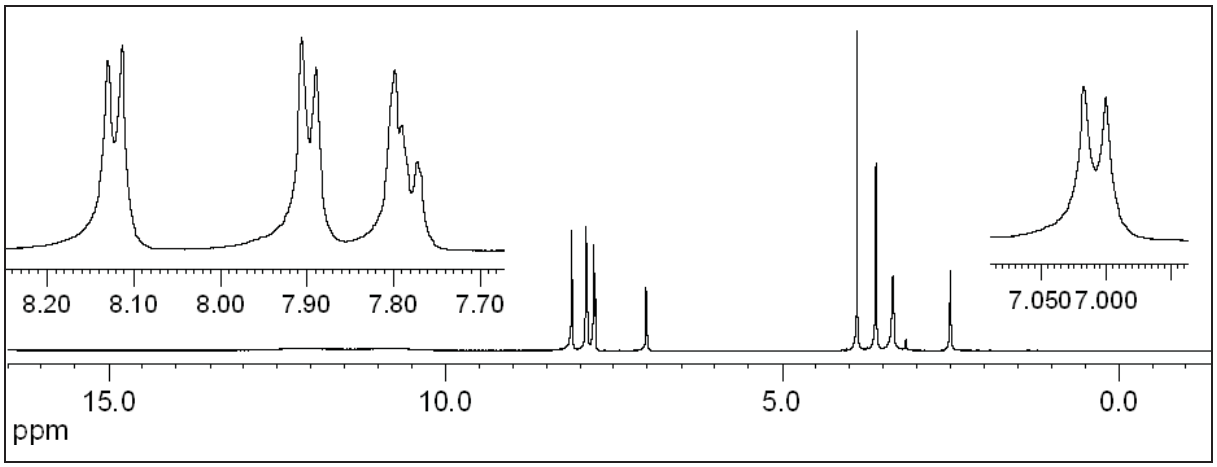


Abbildung 6.265: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB08**.

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

δ = 12.15 (bs, 1 H, H-h), 10.78 (bs, 1 H, H-e), 8.09-8.15 (m, 2 H, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 8.2 Hz, H-3), 7.87-7.93 (m, 2 H, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 8.2 Hz, H-2), 7.80 (s, 1 H, H-b), 7.78 (d, 1 H, $^{3}J_{b'c}$ = 8.8 Hz, H-b'), 7.01 (d, 1 H, $^{3}J_{c'b}$ = 8.4 Hz, H-c'), 3.88 (s, 3 H, H-6), 3.61 (s, 2 H, H-f) ppm.

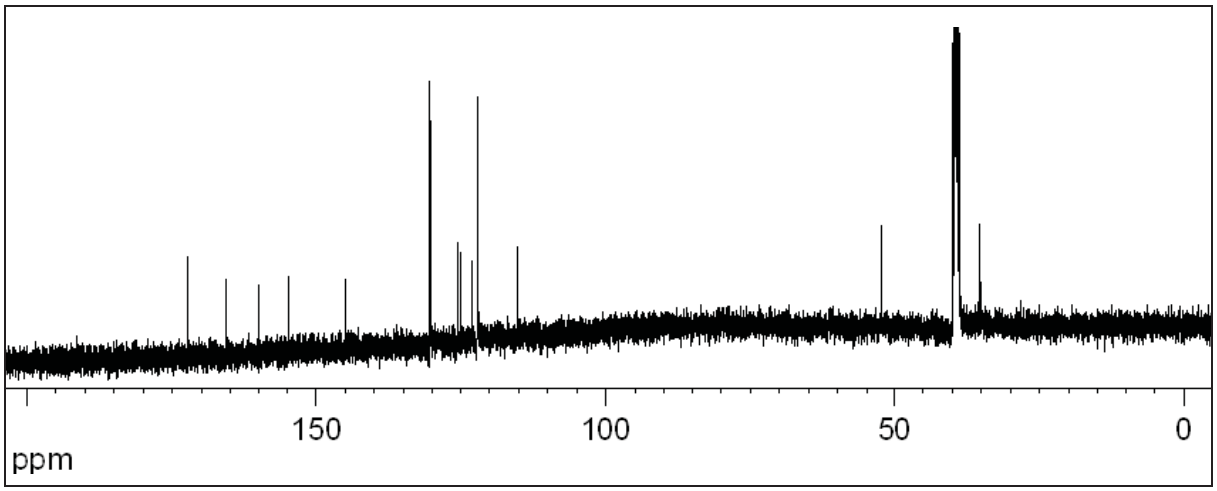


Abbildung 6.266: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB08**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 172.3 (s, C-g), 165.6 (s, C-5), 159.9 (s, C-d), 154.7 (s, C-1), 145.0 (s, C-a), 130.5 (s, C-4), 130.4 (s, C-3), 125.6 (s, C-b, C-b' oder C-c) 124.9 (s, C-b, C-b' oder C-c), 123.2 (s, C-b, C-b' oder C-c), 122.1 (s, C-2), 115.2 (s, C-c), 52.3 (s, C-6), 35.2 (s, C-f) ppm.

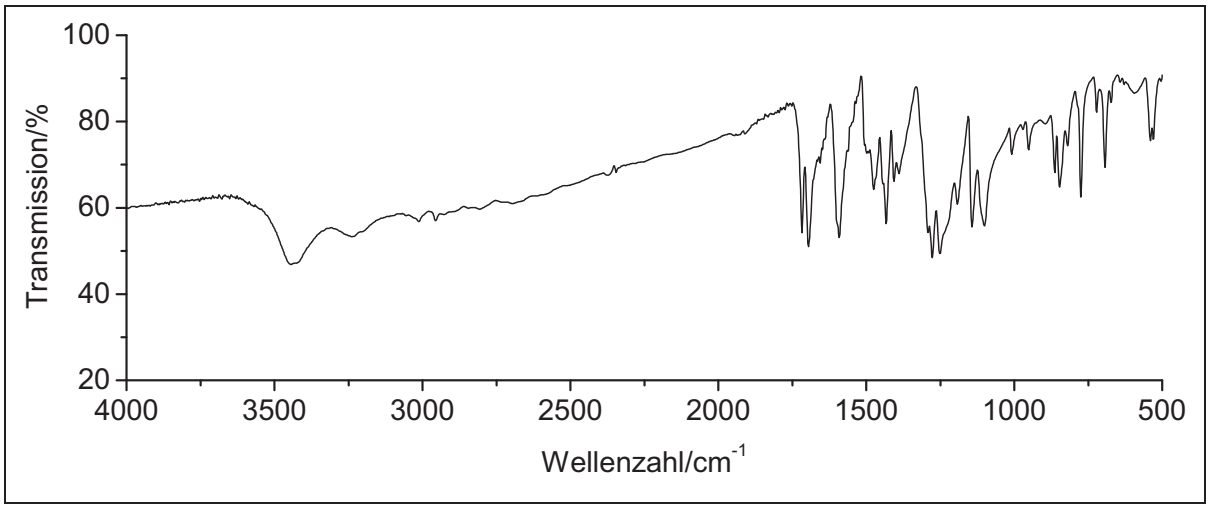
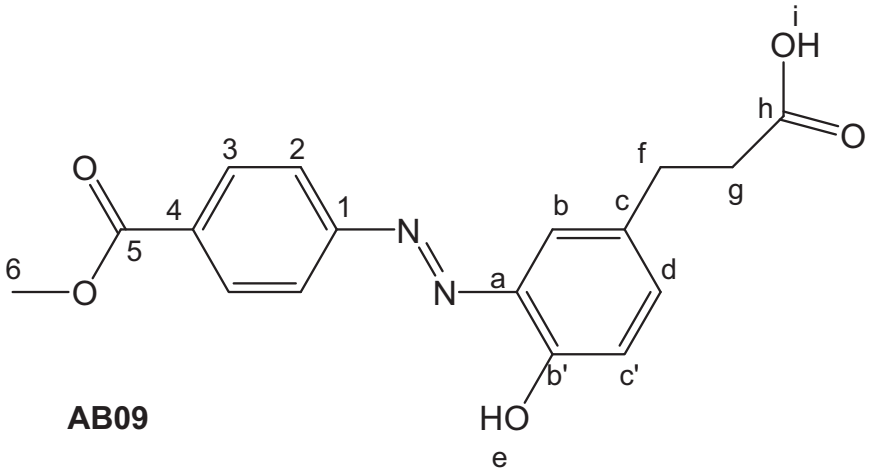


Abbildung 6.267: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB08**.

IR (KBr):

ṽ = 3372 (-OH Valenzschwingung), 3250 (-OH Valenzschwingung), 2961 (C-H Valenzschwingung), 1722 (C=O Valenzschwingung), 1599 und 1505 (C=C Valenzschwingung im Aromat), 1465 (CH_2 Deformationsschwingung), 1433 (CH_3 Deformationsschwingung), 1282 (-CO-**OH** Deformationsschwingung), 1247 (-OH Deformationsschwingung), 1143 (C-O Valenzschwingung), 830 und 864 (1,4- bzw. 1,3,4-substituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 79: 3-(4-Hydroxy-3-{ [4-(methoxycarbonyl)phenyl]diazenyl}phenyl)propionsäure (AB09) [106]#



AB09

Eine Lösung aus 2.17 g (14.3 mmol) Methyl-4-aminobenzoat (**227**) in verdünnter Salzsäure (4 ml konzentrierte Salzsäure und 17 ml Wasser) auf unter 5 °C abgekühlt. Eine ebenfalls gekühlte Lösung aus 1.26 g (18.3 mmol) Natriumnitrit (**140**) in

8 ml Wasser wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Die weiterhin gekühlte Reaktionslösung wird 45 min gerührt.

In einem weiteren Kolben werden 1.21 g (30.3 mmol) Natriumhydroxid und 2.58 g (15.5 mmol) 3-(4-Hydroxyphenyl)propionsäure (**232**) in 25 ml Wasser auf unter 5 °C abgekühlt. Die Diazoniumreaktionslösung wird so langsam zugetropft, dass die Temperatur nicht über 5 °C steigt. Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und das Rohprodukt **AB09** wird aus Methanol und Wasser umkristallisiert.



Abbildung 6.268: AB09 als orangefarbener Feststoff.

$C_{17}H_{16}N_2O_5$ (M = 328.32 g/mol)

Ausbeute: 2.88 g (8.78 mmol, 61 %) **AB09**

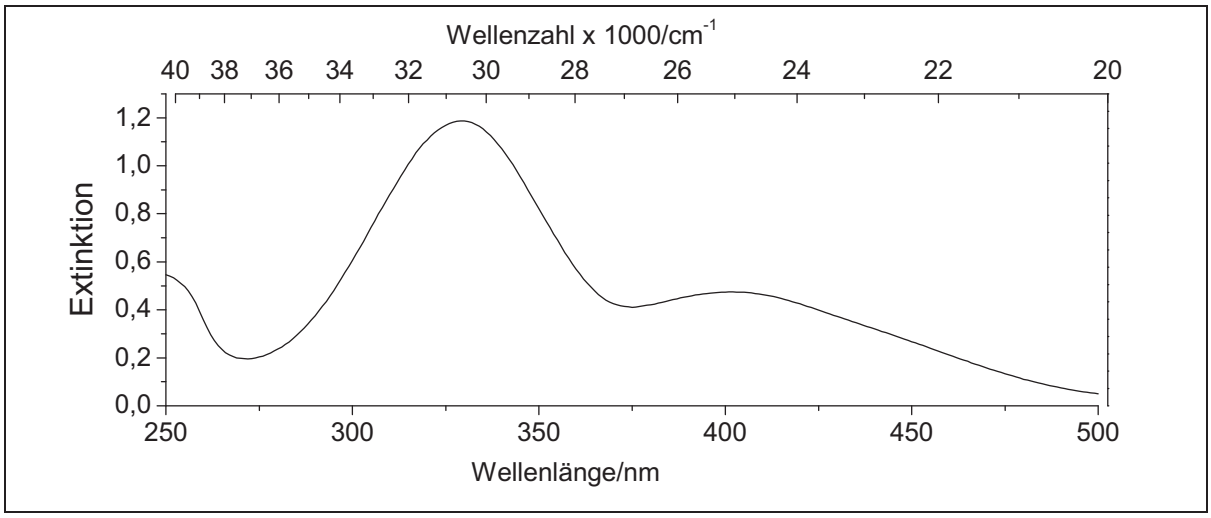


Abbildung 6.269: UV-Vis-Spektrum von **AB09** in (c = 39.0 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 329 (30500 (l/mol)*cm^{-1}), 402 (12200 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

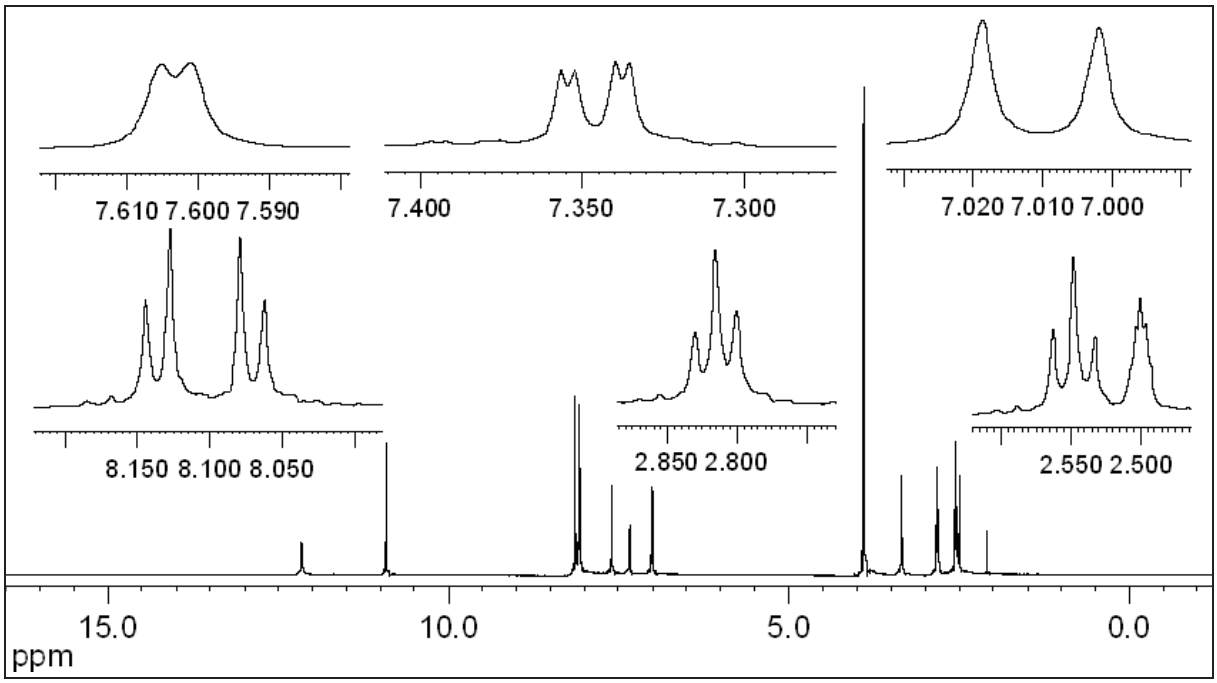


Abbildung 6.270: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB09**.

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

δ = 12.15 (bs, 1 H, H-i), 10.78 (bs, 1 H, H-e), 8.12-8.15 (m, 2 H, $^{3}J_{32}$+$^{5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3), 8.05-8.09 (m, 2 H, $^{3}J_{23}$+$^{5}J_{23}$ = 8.6 Hz, H-2), 7.60 (d, 1 H, $^{4}J_{b'd}$ = 2.1 Hz, H-b'), 7.35 (dd, 1 H, $^{4}J_{db'}$ = 2.1 Hz, $^{3}J_{dc}$ = 8.4 Hz, H-d), 7.01 (d, 1 H, $^{3}J_{c'd}$ = 8.4 Hz, H-c'), 3.89 (s, 3 H, H-6), 2.82 (t, 2 H, $^{3}J_{fg}$ = 7.5 Hz, H-f), 2.55 ((t, 2 H, $^{3}J_{gf}$ = 7.5 Hz, H-g) ppm.

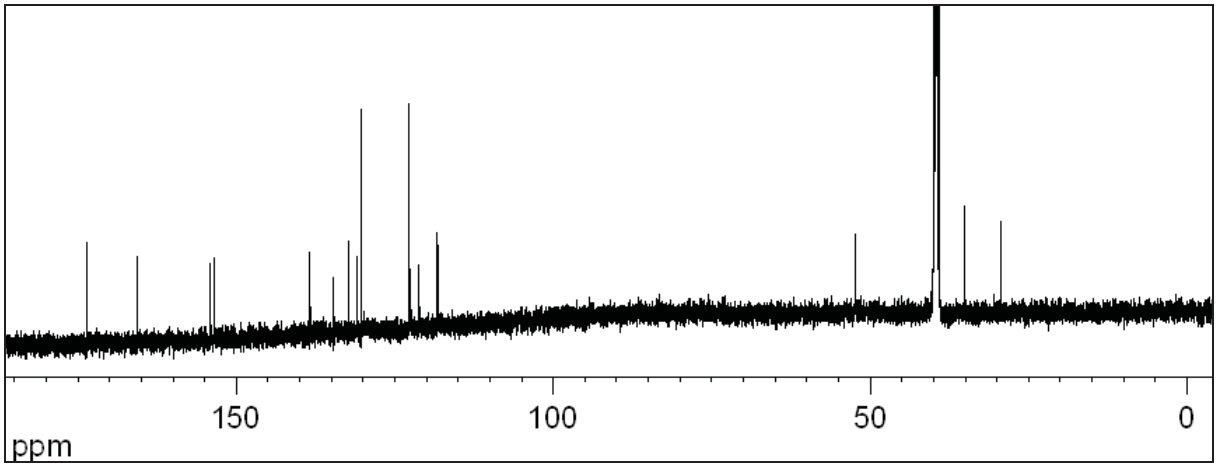


Abbildung 6.271: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB09**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 173.6 (s, C-h), 165.6 (s, C-5), 154.1 (s, C-b' oder C-1), 153.6 (s, C-b' oder C-1), 138.3 (s, C-4, C-a oder C-c), 134.7 (s, C-d), 132.3 (s, C-4, C-a oder C-c), 131.0 (s, C-4, C-a oder C-c), 130.3 (s, C-3), 122.7 (s, C-2), 121.1 (s, C-b), 118.2 (s, C-c'), 52.3 (s, C-6), 35.2 (s, C-g), 29.3 (s, C-f) ppm.

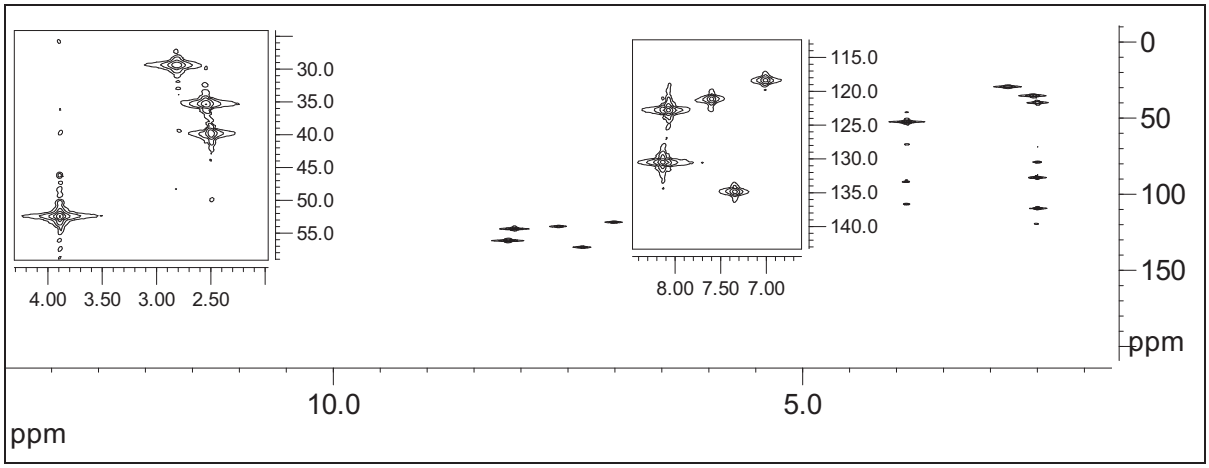


Abbildung 6.272: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB08**.

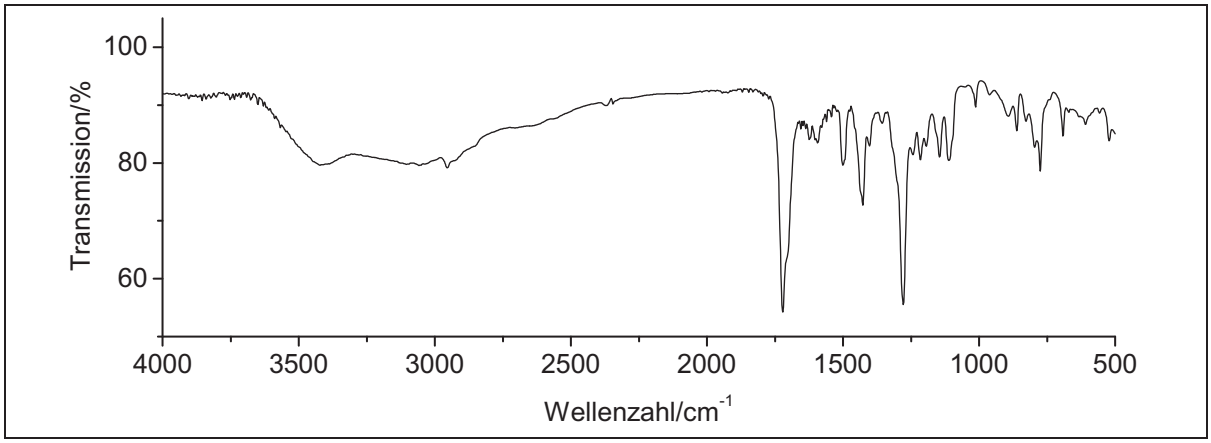
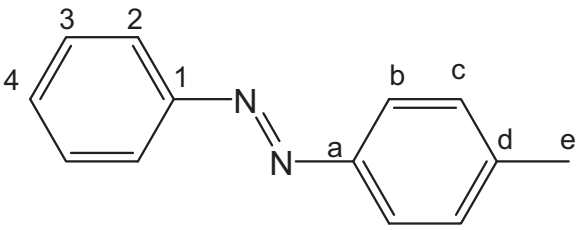


Abbildung 6.273: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB08**.

IR (KBr):

ṽ = 3412 (-OH Valenzschwingung), 3104 und 3057 (Aryl-H Valenzschwingung), 2954 (C-H Valenzschwingung), 1721 (C=O Valenzschwingung), 1624, 1593 und 1500 (C=C aromatische Valenzschwingung), 1427 (-OH Deformationsschwingung), 861 (einzelnes H eines 1,3,4-substituierten Aromaten), 827 (zwei H eines 1,3,4-substituierten Aromaten), 797 (zwei H eines 1,4-substituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 80: 4-Methylazobenzol (AB10)[219, 220]#



AB10

1.50 g (14.0 mmol) Nitrosobenzol (**141**) und 1.50 g (14.0 mmol) *p*-Touluidin (**233**) werden bei Raumtemperatur in 75 ml Eisessig für 24 h gerührt. Die Reaktionslösung wird unter starkem Rühren auf 1 l Wasser gegeben. Es fällt ein feiner Feststoff aus, der dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert wird. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.
Das Rohprodukt wird aus Wasser und Ethanol umkristallisiert. Nichtlösliche Verunreinigungen werden durch Filtrieren der heißen Lösung entfernt. Man erhält das Produkt **AB10** als dunkelroten Feststoff.

$C_{13}H_{12}N_2$ (M = 196.25 g/mol)

Ausbeute: 1.68 g (8.56 mmol, 61 %) **AB10** **Lit**: 90 % [219]

Das Produkt **AB10** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen bestimmt. Es setzt sich aus 87 % *trans*-4-Methylazobenzol und 13 % *cis*-4-Methylazobenzol zusammen.

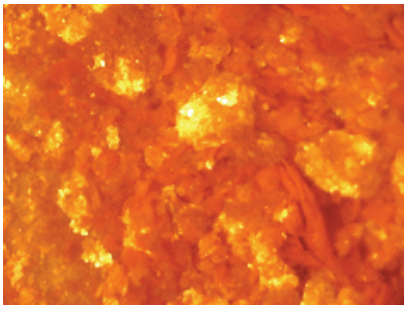


Abbildung 6.274: AB10 als goldglänzender Feststoff.

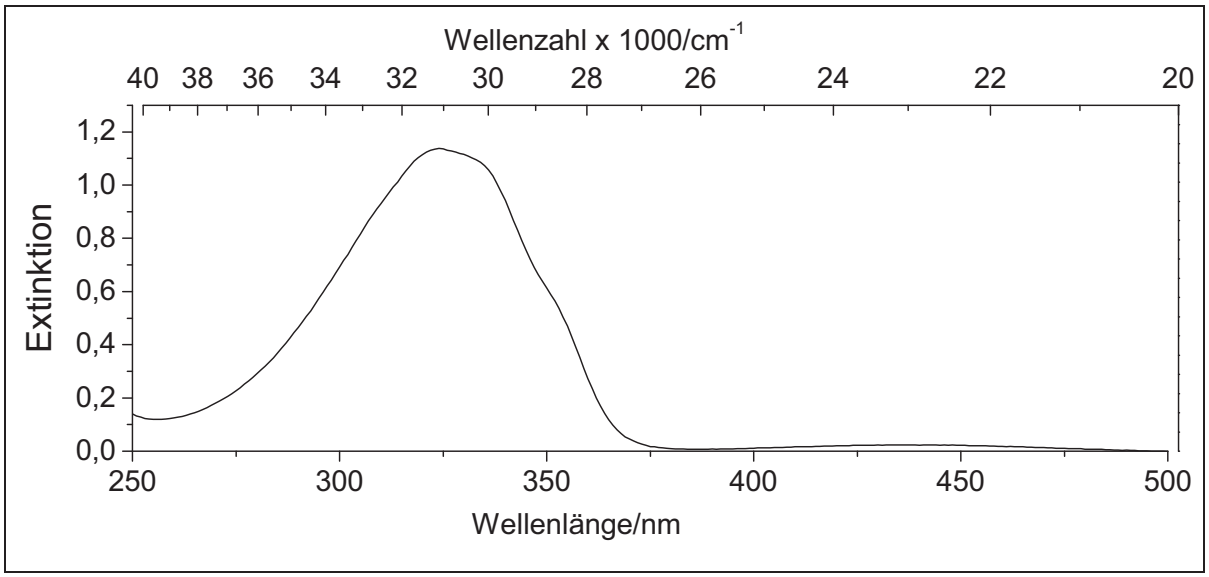


Abbildung 6.275: UV-Vis-Spektrum von **AB10** in Methanol (c = 89.7 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Chloroform):[221]*

λ_{max} (ε_{max}) = 324 (25400 (l/mol)*cm^{-1}), 437 (530 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

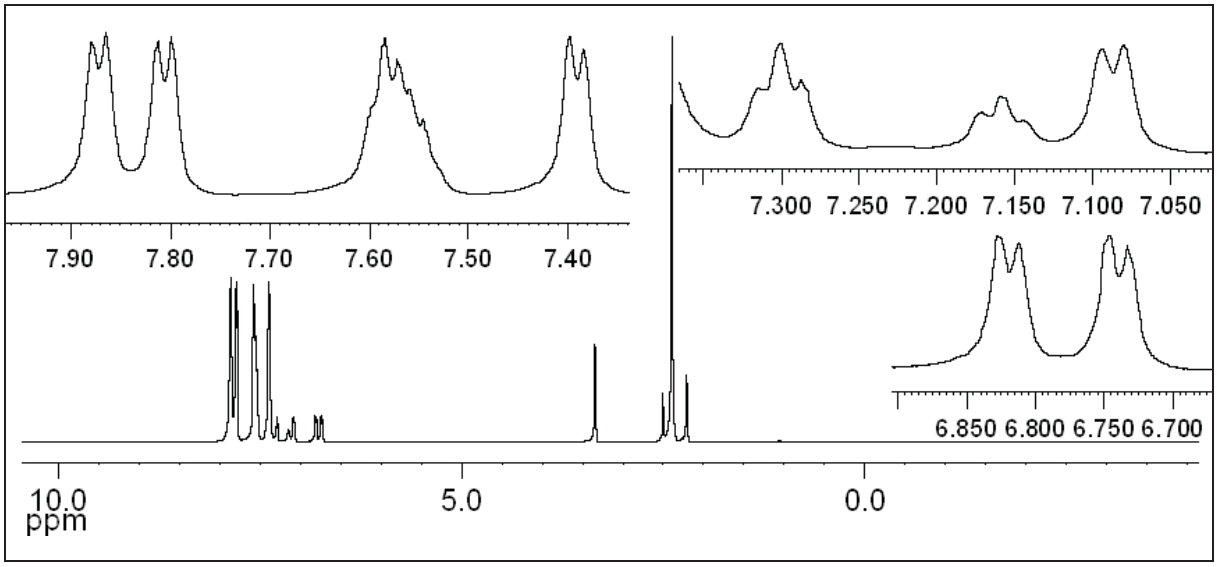


Abbildung 6.276: ^{1}H-NMR (5000 MHz, DMSO-d_6), **AB10** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6): [222]*

trans-4-Methylazobenzol (**AB10**):

δ = 7.85-7.90 (m, 2 H, C-Teil eines [AC]$_2$B-Systems, H-2), 7.77-7.83 (m, 2 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems, H-b), 7.50-7.63(m, 3 H, A- und B-Teil eines [AC]$_2$B-Systems, H-3 und H-4), 7.36-7.44 (m, 2 H, A-Teil eines [AB]$_2$-Systems, H-c), 2.40 (s, 3 H, H-e) ppm.

cis-4-Methylazobenzol (**AB10**):

δ = 7.26-7.33 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2 oder H-3), 7.12-7.19 (m, 1 H, B-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-4), 7.05-7.12 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-b oder H-c), 6.79-6.85 (m, 2 H, A-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2 oder H-3), 6.71-6.77 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-b oder H-c), 2.22 (s, 3 H, H-e) ppm.

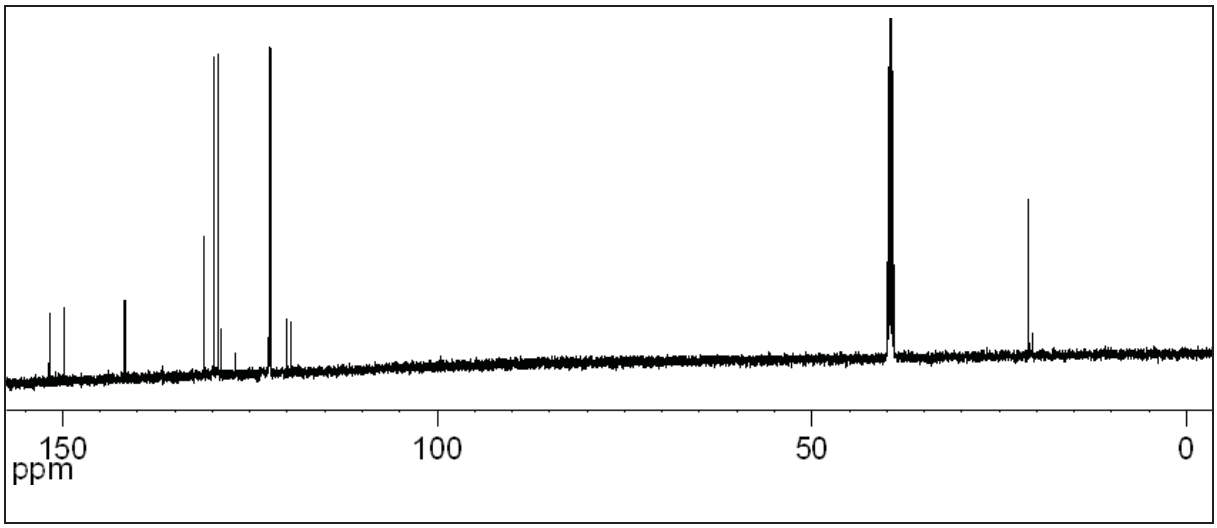


Abbildung 6.277: ^{13}C-{^1H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB10** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^1H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[223]*

trans-4-Methylazobenzol (**AB10**):

δ = 151.2 (s, C-1 oder C-a), 149.9 (s, C-1 oder C-a), 141.7 (s, C-d), 131.1 (s, C-4), 129.9 (s, C-c), 129.3 (s, C-3), 122.5 (s, C-b), 122.3 (s, C-2), 20.9 (s, C-e) ppm.

cis-4-Methylazobenzol (**AB10**):

δ = 151.2 (s, C-1 oder C-a), 149.9 (s, C-1 oder C-a), 141.7 (s, C-d), 129.1 (s, C-c), 128.8 (s, C-3), 126.9 (s, C-4), 120.2 (s, C-b), 119.5 (s, C-2), 20.5 (s, C-e) ppm.

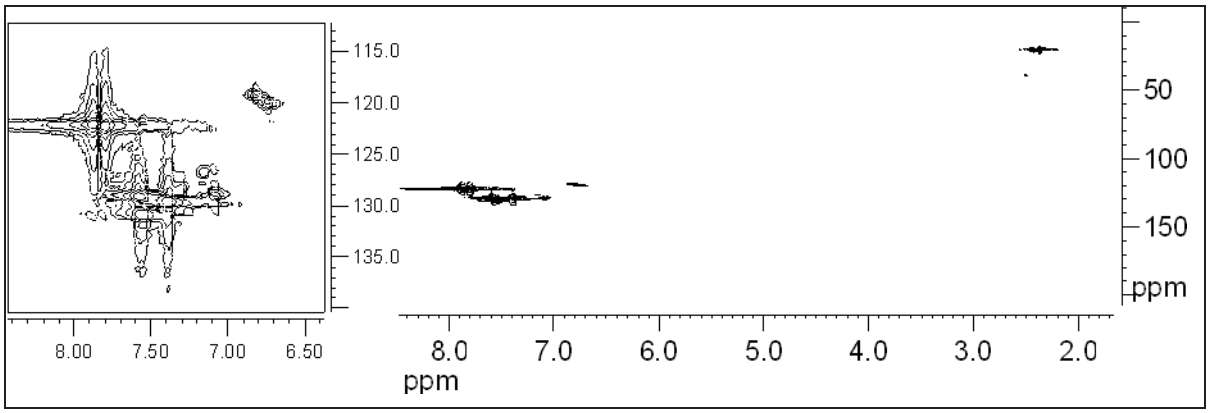


Abbildung 6.278: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB10**.

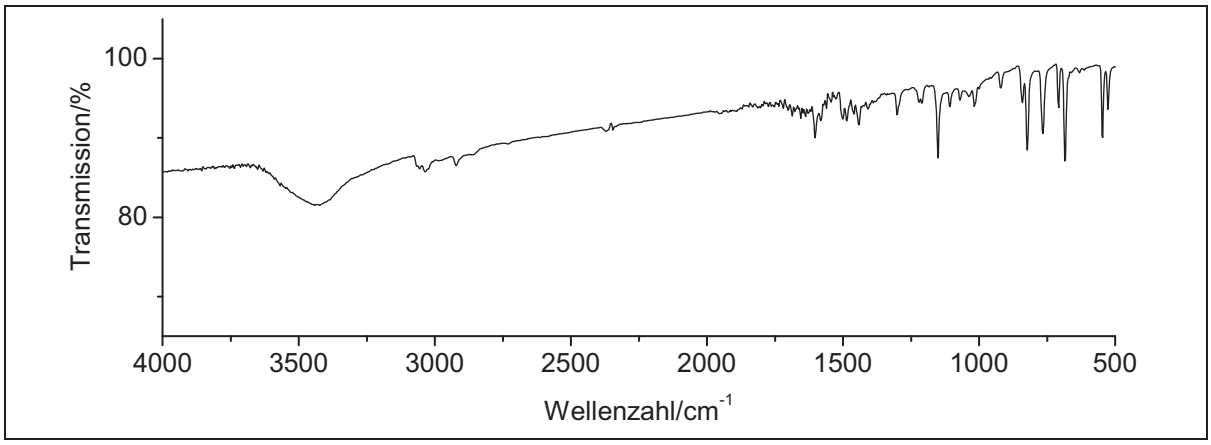
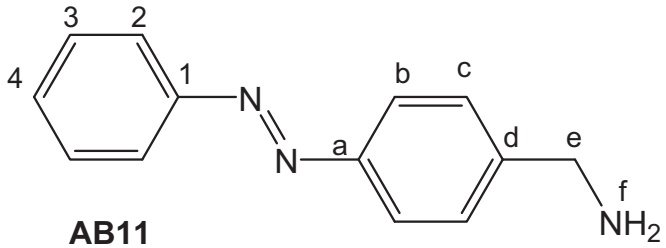


Abbildung 6.279: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB10**.

IR (KBr):[224]*

$\tilde{\nu}$ = 3035 (C-H Valenzschwingung im Aromaten), 2922 (C-H Valenzschwingung), 1603, 1582 und 1486 (C=C Valenzschwingung), 1442 (C-H Deformationsschwingung), 841 und 823 (zwei H eines 1,4-substituierten Aromaten), 766 und 708 (fünf H eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 81: 4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (AB11)[220]#



AB11

1.78 g (14.6 mmol) 4-Aminomethyl)-anilin (**234**) und 1.60 g (14.9 mmol) Nitrosobenzol (**141**) in 100 ml Eisessig werden 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird unter starkem Rühren auf 1.5 l Wasser gegossen und mit Natriumhydroxid auf pH 10 gebracht. Ausfallender Feststoff wird

mit dreimal 200 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

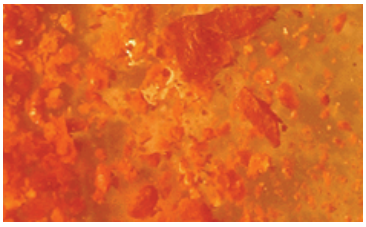


Abbildung 6.280: AB11 als orangefarbene Kristalle.

$C_{13}H_{13}N_3$ (M = 211.26 g/mol)

Ausbeute: 1.64 g (7.76 mmol, 53 %) **AB11**

Das Produkt **AB11** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen bestimmt. Es setzt sich aus 91 % *trans*- und 9 % *cis*-4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (**AB11**) zusammen.

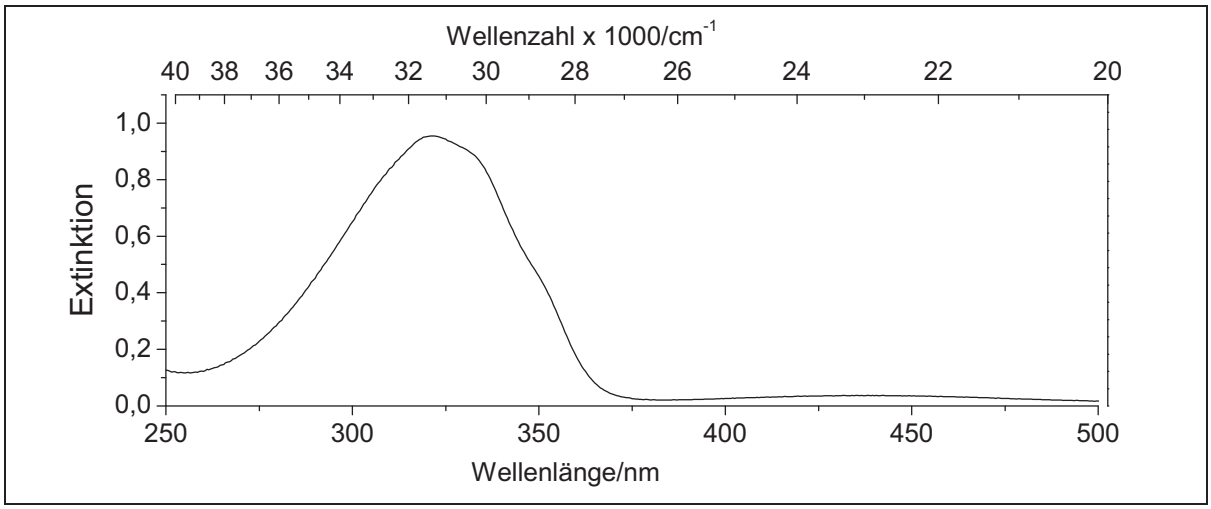


Abbildung 6.281: UV-Vis-Spektrum von **AB11** in Methanol (c = 79.5 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):[225]*

λ_{max} (ε_{max}) = 321 (24000 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

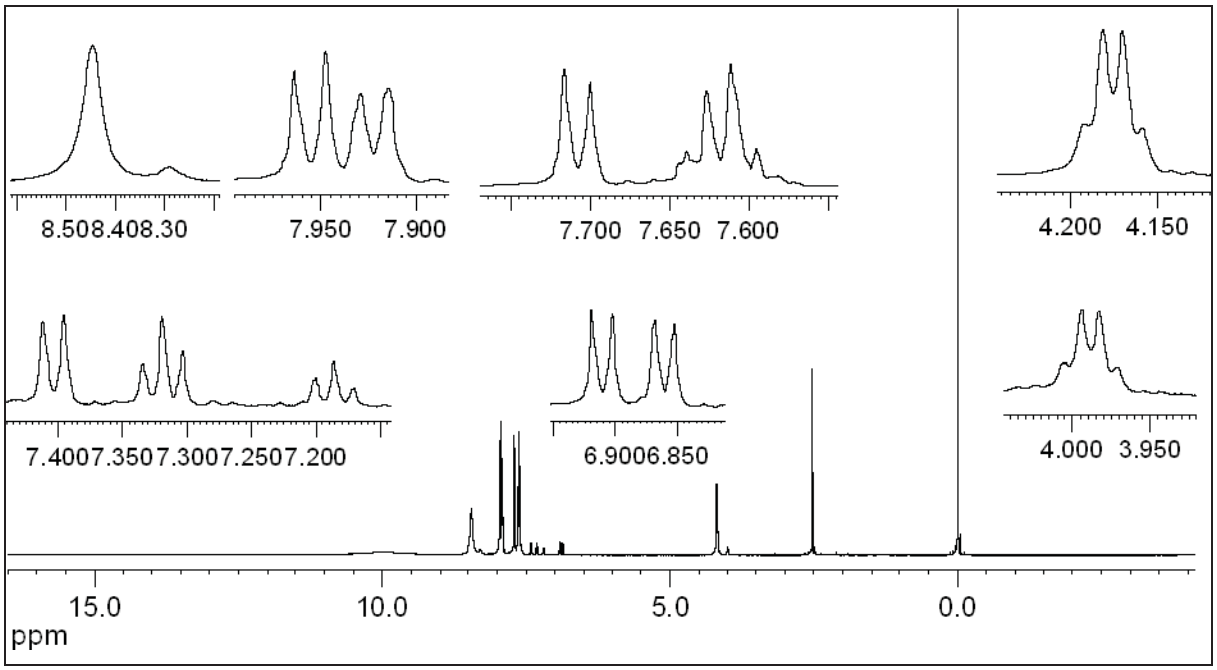


Abbildung 6.282: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB11** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers mit Trifluoressigsäure.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6 mit Trifluoressigsäure):[225]*

trans-4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (**AB11**):

δ = 8.45 (bs, 3 H, H-f), 7.93-7.98 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.2 Hz, H-b), 7.90-7.94 (m, 2 H, C-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.69-7.73 (m, 2 H, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.3 Hz, A-Teil des $[AB]_2$-Systems H-c), 7.59-7.65 (m, 3 H, A- und B-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-3 und H-4), 4.18 (q, 2 H, $^{3}J_{ef}$ = 5.5 Hz, H-e) ppm.

cis-4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (**AB11**):

δ = 8.29 (bs, 3 H, H-f), 7.38-7.42 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.2 Hz, H-b), 7.29-7.35 (m, 2 H, C-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-3), 7.16-7.21 (m, 1 H, B-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-4), 6.89-6.93 (m, 2 H, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.2 Hz, H-c), 6.84-6.88 (m, 2 H, A-Teil des $[AC]_2B$-Systems, H-2), 3.99 (q, 2 H, $^{3}J_{ef}$ = 5.6 Hz, H-e) ppm.

Triflouressigsäure:

δ = 9.97 (bs, -COO**H**) ppm.

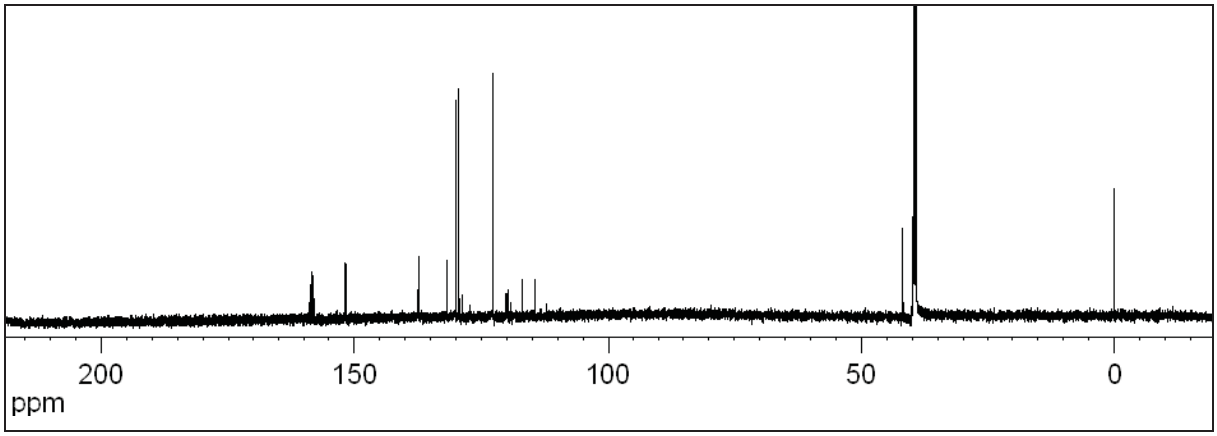


Abbildung 6.283: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO), **AB11** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers mit Triflouressigsäure.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6 mit Trifluoressigsäure):[225]*

trans-4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (**AB11**):

δ =151.8 und 151.7 (je s, C-1 und C-a), 137.4 (s, C-d), 131.4 (s, C-4), 130.0 (s, C-3), 129.5 (s, C-c), 122.6 (2 s, C-2 und C-b), 41.9 (s, C-e) ppm.

cis-4-(Phenyldiazenyl)benzylamin (**AB11**):

δ = 129.4 (s, C-b), 128.9 (s, C-3), 127.2 (s, C-4), 120.0 (s, C-c), 119.7 (s, C-2), 41.6 (s, C-e) ppm. (Intensität der übrigen Signale ist zu schwach, um im Spektrum erkannt zu werden.)

Trifluoressigsäure:

δ = 158.4 (q, $^{2}J_{CF}$ = 36.2 Hz, -**C**OOH), 115.7 (q, $^{1}J_{CF}$ = 291.8 Hz, -**C**F_3) ppm.

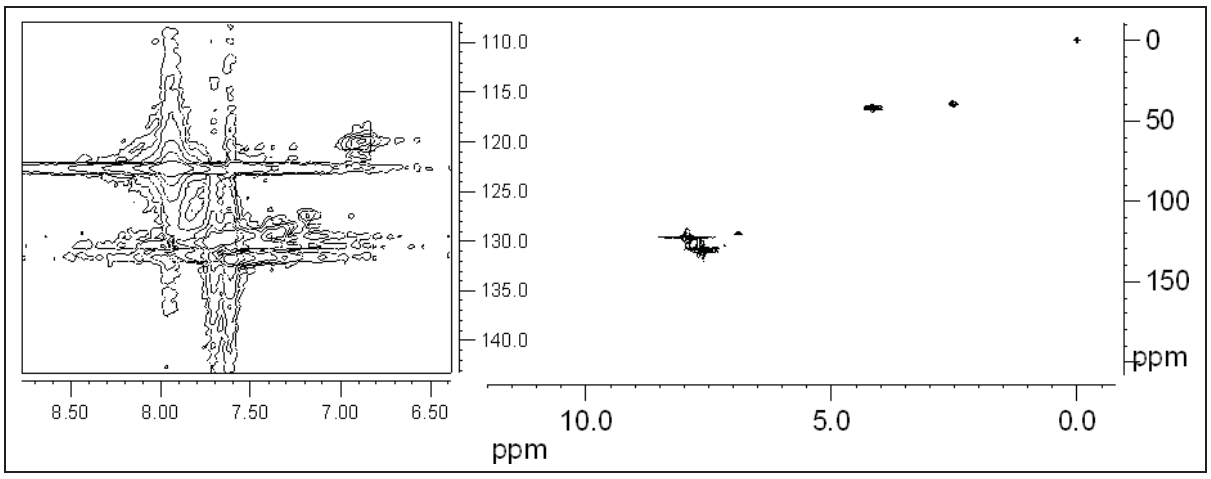


Abbildung 6.284: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO), **AB11** mit Trifluoressigsäure.

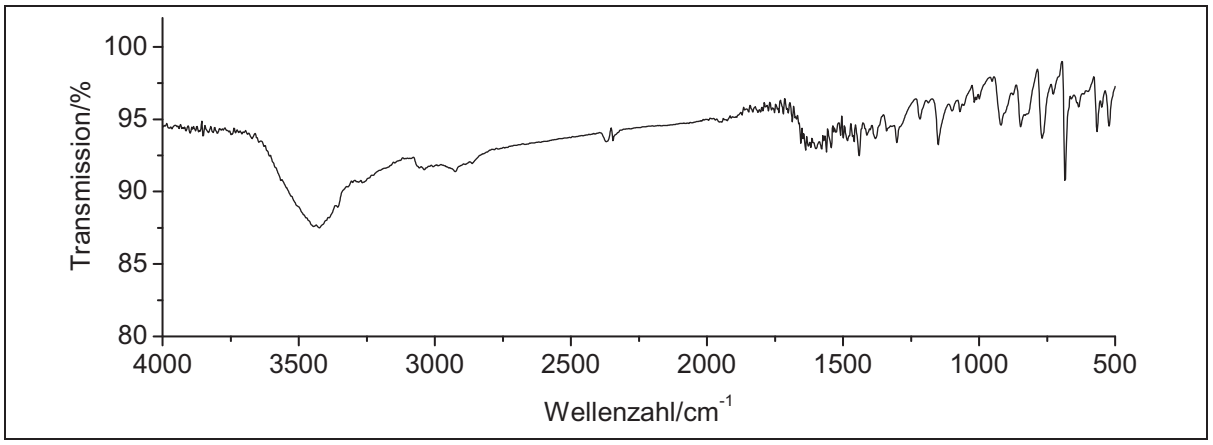


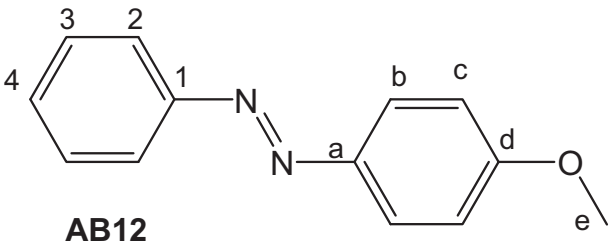
Abbildung 6.285: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB11**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3356 (N-H Valenzschwingung), 3037 (Aryl-H Valenzschwingung), 2925 (C-H Valenzschwingung), 1440 (C-H Deformationsschwingung), 848 (zwei H eines 1,4-substitutierten Aromaten), 769 und 684 (fünf H eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 82: 4-Methoxyazobenzol (AB12)[226]#

1.89 g (15.3 mmol) *p*-Anisidin (**235**) und 1.60 g (14.9 mmol) Nitrosobenzol (**140**) werden bei Raumtemperatur in 80 ml Eisessig für 5 d gerührt. Die Reaktionslösung wird auf 750 ml Wasser gegossen und der pH-Wert mit Natronlauge auf pH 5-6 eingestellt. Die Lösung wird dreimal mit 350 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der zurückbleibende Feststoff wird aus Wasser/Ethanol umkristallisiert. Der Feststoff wird in Ethylacetat/Hexan 2:1 aufgenommen und säulenchromatographisch über Kieselgel 60 aufgereinigt.



AB12

$C_{13}H_{12}N_2O$ (M = 212.25 g/mol)

Ausbeute: 1.19 g (5.61 mmol, 38 %) **AB12** **Lit**: 14 % [226]

Das Produkt **AB12** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus dem Verhältnis der ^{1}H-NMR Signalen von H-3 bestimmt. Es setzt sich aus 95 % *trans*- und 5 % *cis*-4-Methoxyazobenzol (**AB12**) zusammen.



Abbildung 6.286: AB12 als orangefarbener Feststoff.

Schmelzpunkt: 56 °C **Lit**: 54-56 °C[226]

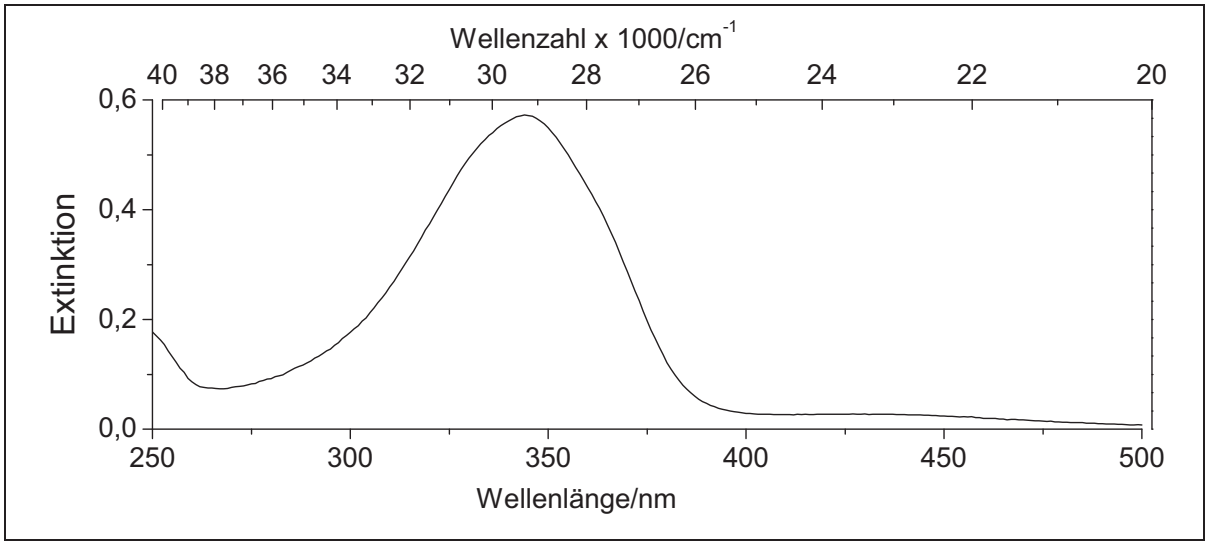


Abbildung 6.287: UV-Vis-Spektrum von **AB12** in Methanol (c = 109 µmol/l, d = 0.2 cm).

UV-Vis (Methanol):[227]*

λ_{max} (ε_{max}) = 344 (26200 (l/mol)*cm^{-1}), 427 (1270 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

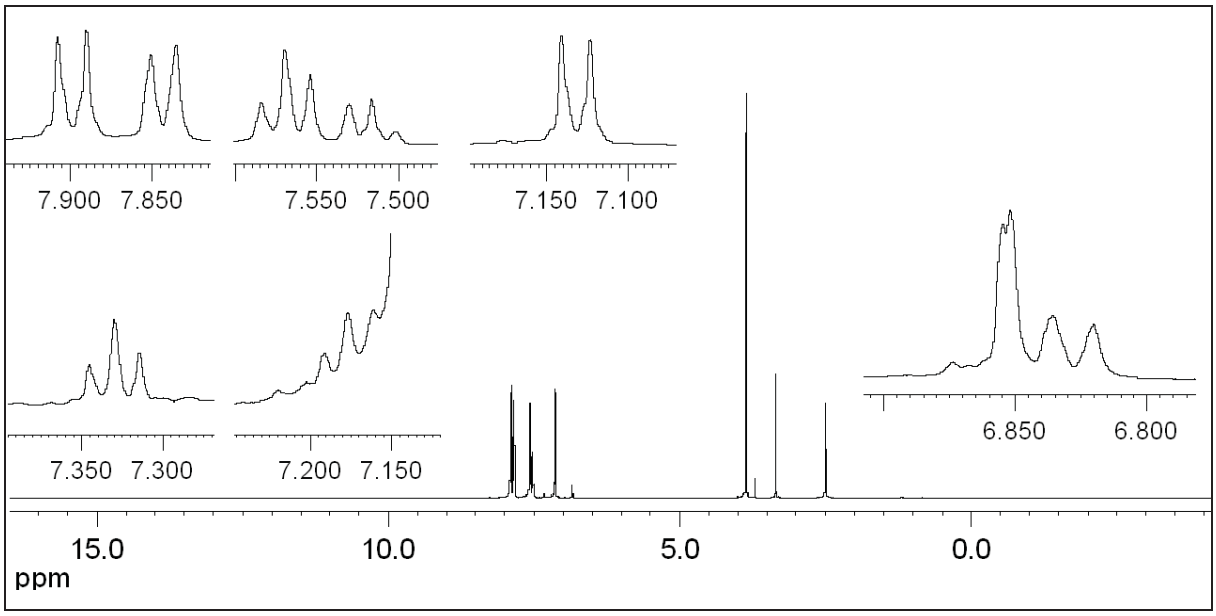


Abbildung 6.288: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB12** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[228]*

trans-4-Methoxyazobenzol (**AB12**):

δ = 7.88-7.92 (m, 2 H, $^{3}J_{bc}$ = 8.7 Hz, H-b), 7.82-7.86 (m, 2 H, C-Teil von $[AB]_2C$-System, H-2), 7.54-7.66 (m, 2 H, B-Teil von $[AB]_2C$-System, H-3), 7.49-7.54 (m, 1 H, A-Teil von $[AB]_2C$-System, H-4), 7.10-7.16 (m, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 8.8 Hz, H-c), 3.86 (s, 3 H, H-e) ppm.

cis-4-Methoxyazobenzol (**AB12**):

δ = 7.31-7.35 (m, 2 H, C-Teil von $[AC]_2B$-System, H-3), 7.15-7.20 (m, 1 H, B-Teil von von $[AC]_2B$-System, H-4), 6.80-6.89 (m, 6 H, enthält A-Teil von $[AC]_2B$-System, H-2, H-b und H-c), 3.71 (s, 3 H, H-e) ppm.

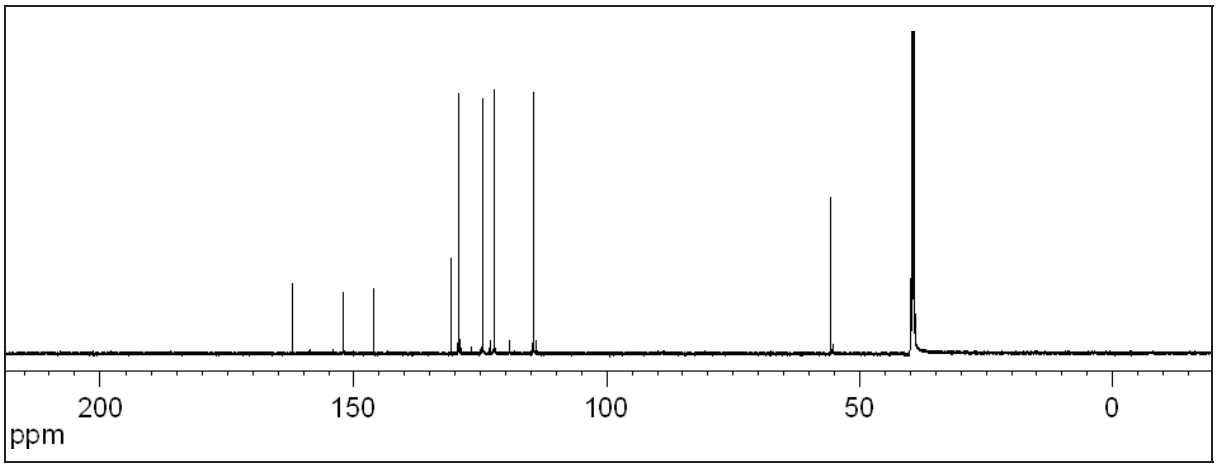


Abbildung 6.289: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB12** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[223]*

trans-4-Methoxyazobenzol (**AB12**):

δ = 161.9 (s, C-d), 151.9 (s, C-1), 146.1 (s, C-a), 130.7 (s, C-4), 129.3 (s, C-3), 124.5 (s, C-b), 122.1 (s, C-2), 114.5 (s, C-c), 55.6 (s, C-e) ppm.

cis-4-Methoxyazobenzol (**AB12**):

δ = 158.4 (s, C-d), 154.6 (s, C-1/C-a), 129.0 (s, C-3), 128.9 (s, C-1/C-a), 126.7 (s, C-4), 123.0 (s, C-2/C-b), 119.2 (s, C-2/C-b), 113.7 (s, C-c), 55.2 (s, C-e) ppm.

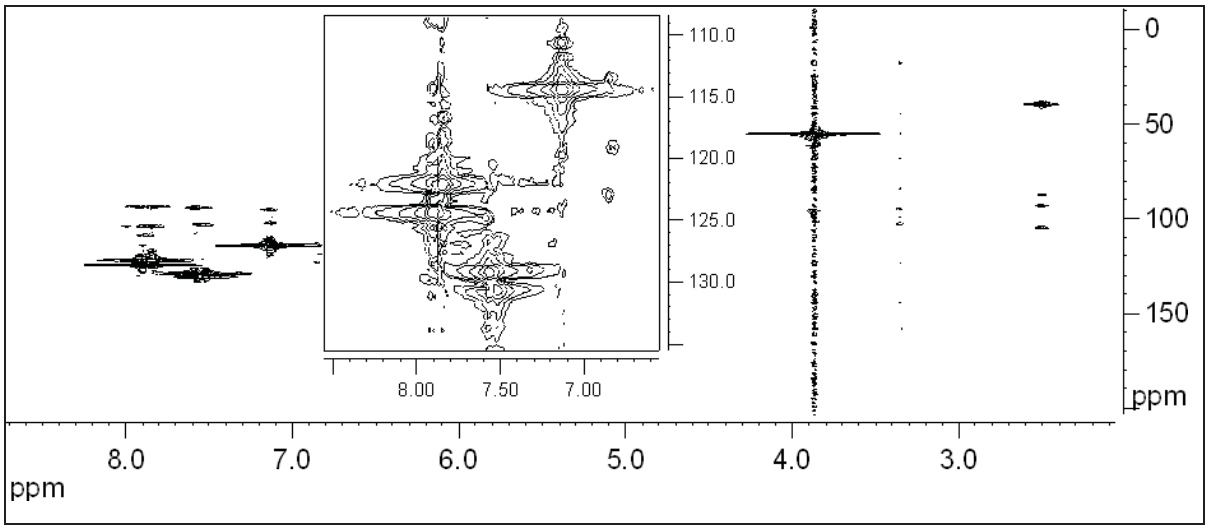


Abbildung 6.290: HMQC (500 MHz, DMSO-d_6), **AB12**.

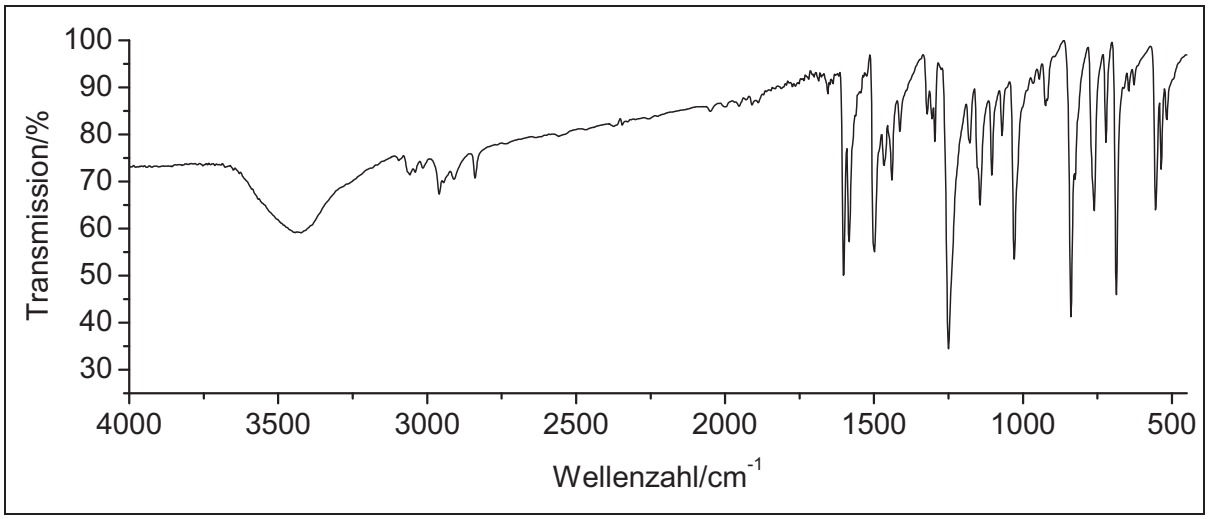
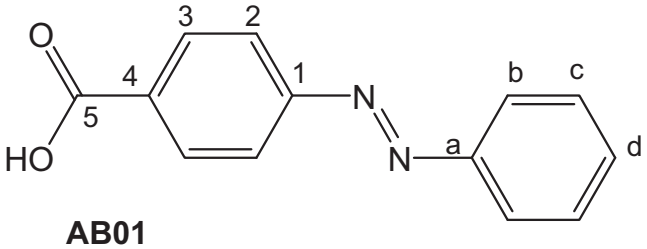


Abbildung 6.291: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB12**.

IR (KBr):[227]*

$\tilde{\nu}$ = 3058 (Aryl-H Valenzschwingung), 2959 (Aryl-H Valenzschwingung), 2839 (-OCH_3 Valenzschwingung), 1602, 1584 und 1499 (C=C Valenzschwingung), 1250 (-COC Valenzschwingung), 839 (p-substituierter Aromat), 760 und 688 (monosubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 83: 4-[(Phenyl)diazenyl]benzoesäure (AB01)[229-231]#



AB01

3.67 g (26.8 mmol) *p*-Aminobenzoesäure (**225**) und 2.80 g (26.1 mmol) Nitrosobenzol (**141**) werden bei Raumtemperatur in 200 ml Eisessig für 2 h zum Rückfluss erhitzt. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen. Der zurückbleibende Feststoff wird abfiltriert, mit 100 ml Eisessig und mit 200 ml Wasser gewaschen und im Exsikkator über Natriumhydroxid getrocknet.

$C_{13}H_{10}N_2O_2$ (M = 226.23 g/mol)

Ausbeute: 2.67 g (11.8 mmol, 45 %) **AB01** **Lit**: 50-70 %[229-231]

Das Produkt **AB01** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen bestimmt. Es setzt sich aus 96 % *trans*- und 4 % *cis*-4-[(Phenyl)diazenyl]benzoesäure (**AB01**) zusammen.

Schmelzpunkt: 247-249 °C **Lit**: 248.5-249.5 °C [229]

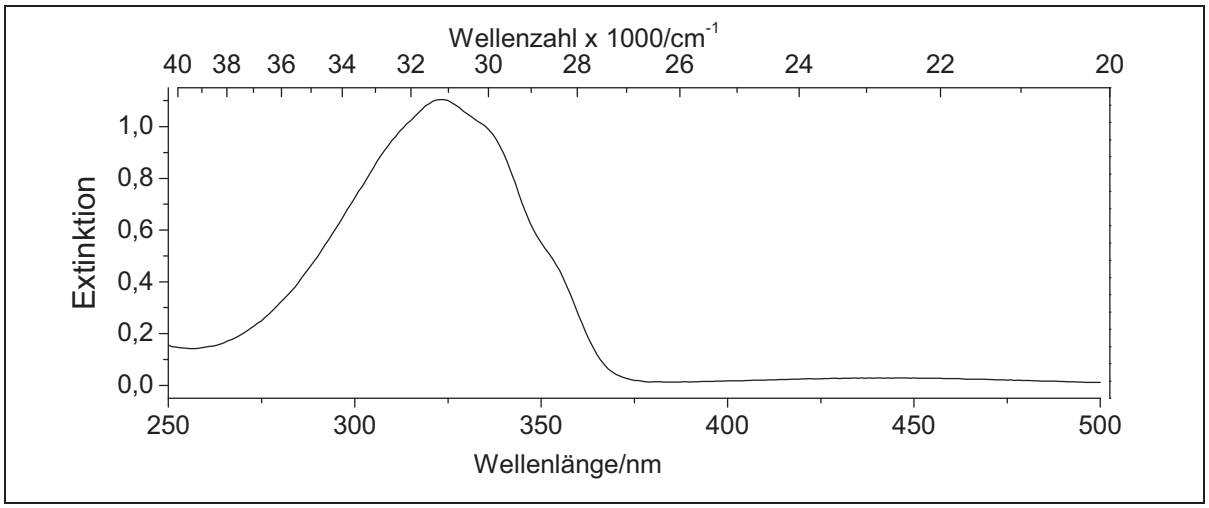


Abbildung 6.292: UV-Vis-Spektrum von **AB01** in Methanol (c = 77.8 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):[232]*

λ_{max} (ε_{max}) = 324 (28400 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

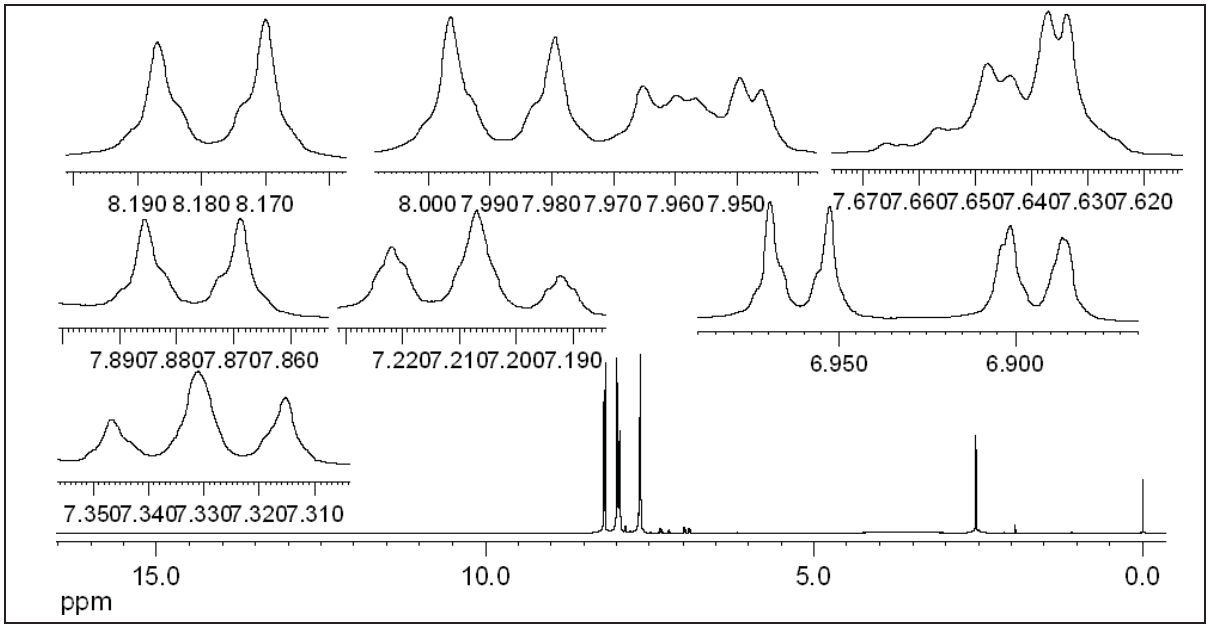


Abbildung 6.293: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB01** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

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

(*E*)-4-(Penyl)diazenyl-benzoesäure (**AB01**):

δ = 13.00 (s, 1 H, H-5), 8.16-8.20 (m, 2 H, $^{3}J_{32}+^{5}J_{32}$ = 8.4 Hz, H-3), 7.97-8.01 (m, 2 H, $^{3}J_{23}+^{5}J_{23}$ = 8.3 Hz, H-2), 7.93-7.98 (m, 2 H, C-Teil von $[CB]_2$A-System, H-b), 7.62-7.67 (m, 3 H, B- und A-Teil von $[CB]_2$A-System, H-c und H-d) ppm.

(*Z*)-4-(Penyl)diazenyl-benzoesäure (**AB01**):

δ = 13.00 (s, 1 H, H-5), 7.86-7.89 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3}J_{32}+^{5}J_{32}$ = 8.4 Hz, H-3), 7.31-7.36 (m, 2 H, C-Teil eines $[CB]_2$A-Systems, H-b), 7.18-7.23 (m, 1 H, B-Teil eines $[CB]_2$A-Systems, H-d), 6.94-6.98 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3}J_{23}+^{5}J_{23}$ = 8.4 Hz, H-2), 6.88-6.91 (m, 2 H, A-Teil eines $[CB]_2$A-Systems, H-c) ppm.

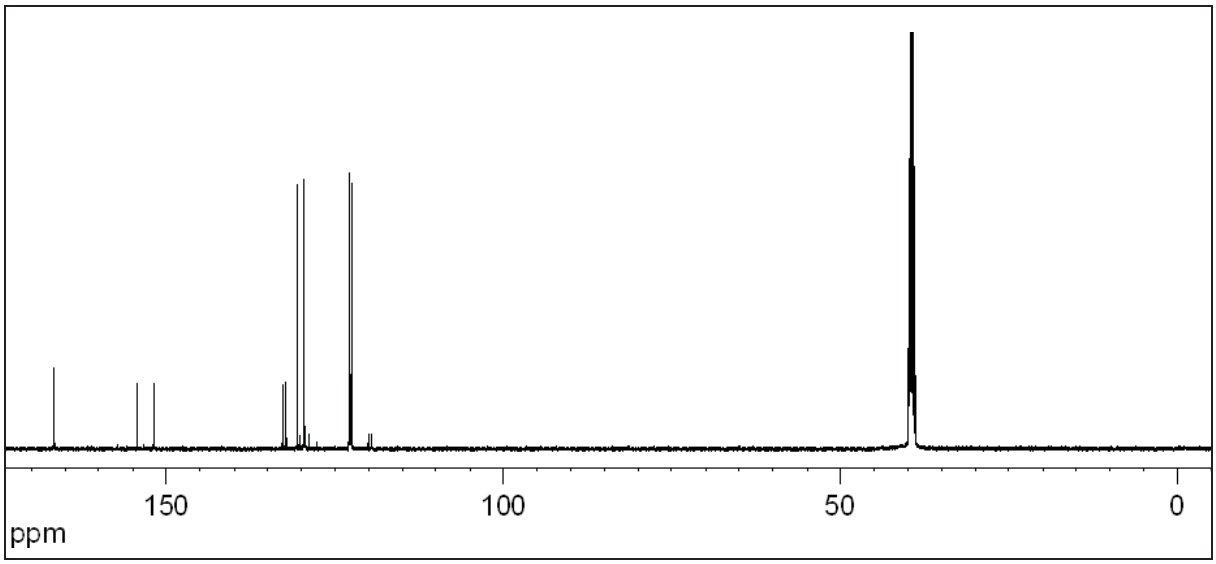


Abbildung 6.294: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB01** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

(*E*)-4-(Penyl)diazenyl-benzoesäure (**AB01**):

δ = 166.6 (s, C-5), 154.2 (s, C-1), 151.8 (s, C-a), 132.8 (s, C-4), 132.1 (s, C-d), 130.6 (s, C-3), 129.5 (s, C-c), 122.8 (s, C-2/C-b), 122.5 (s, C-2/C-b) ppm.

(*Z*)-4-(Penyl)diazenyl-benzoesäure (**AB01**):

δ = 166.5 (s, C-5), 157.2 (s, C-1), 153.3 (s, C-a), 130.1 (s, C-3), 128.9 (s, C-4), 128.8 (s, C-c), 127.6 (s, C-d), 120.1 (s, C-2/C-b), 119.6 (s, C-2/C-b) ppm.

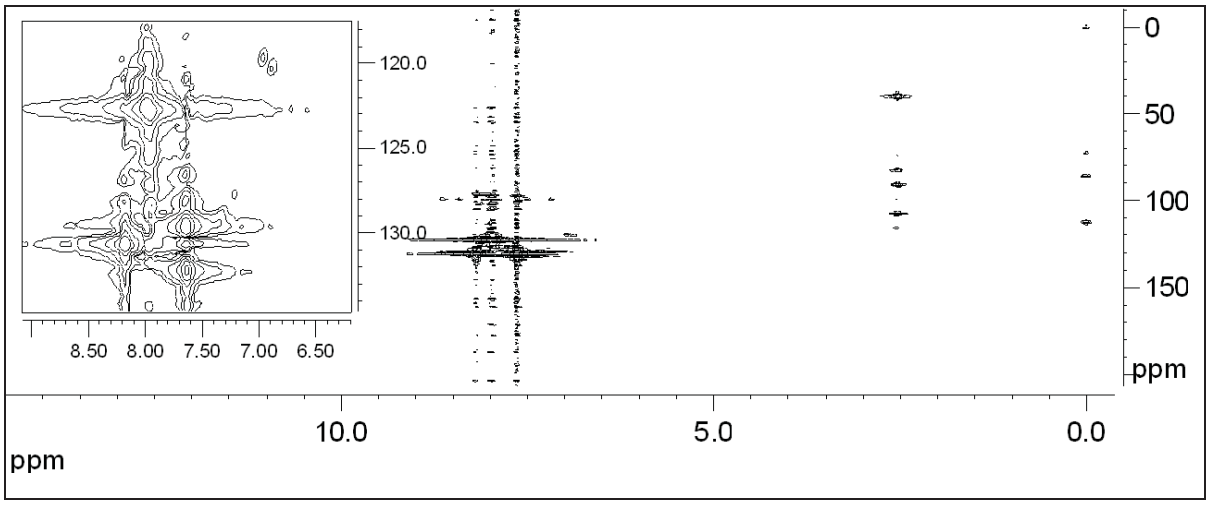


Abbildung 6.295: HMQC (500 MHz, DMSO-d_6), **AB01**.

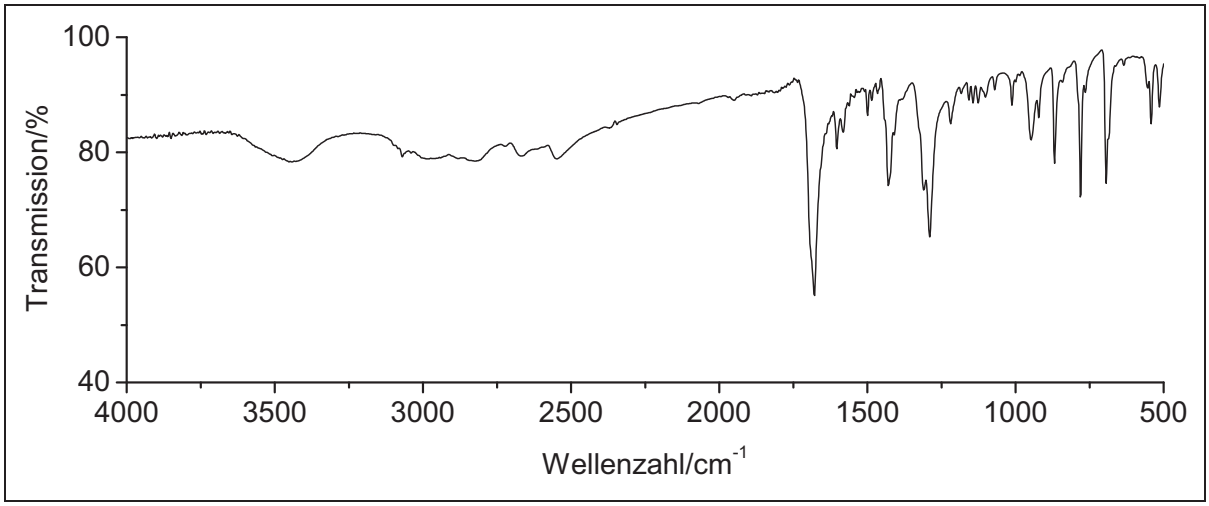


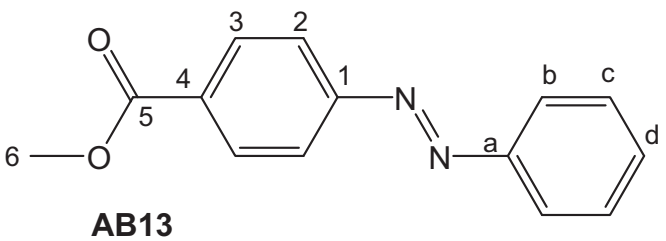
Abbildung 6.296: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB01**.

IR (KBr):[233]*

$\tilde{\nu}$ = 3069 (Aryl-H Valenzschwingung), 2548 (-COOH Valenzschwingung), 1679 (C=O Valenzschwingung), 1603, 1581 und 1499 (C=C Valenzschwingung), 1290 (-OH Deformationsschwingung), 868 (p-substituierter Aromat), 780 und 694 (monosubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 84: Methyl-4-(phenylazenyl)benzoat (AB13)[234, 235]#

2.26 g (15.0 mmol) Methyl-4-aminobenzoat (**227**) und 1.56 g (14.6 mmol) Nitrosobenzol (**141**) werden bei Raumtemperatur in 75 ml Eisessig für 24 h gerührt. Die Reaktionslösung wird unter starkem Rühren auf 500 ml Wasser gegeben. Es fällt ein feiner Feststoff aus, der abfiltriert wird.



AB13

Das Rohprodukt **AB13** wird aus Wasser und Ethanol umkristallisiert.

$C_{14}H_{12}N_2O_2$ (M = 240.26 g/mol)

Ausbeute: 2.51 g (10.5 mmol, 72 %) **AB13**

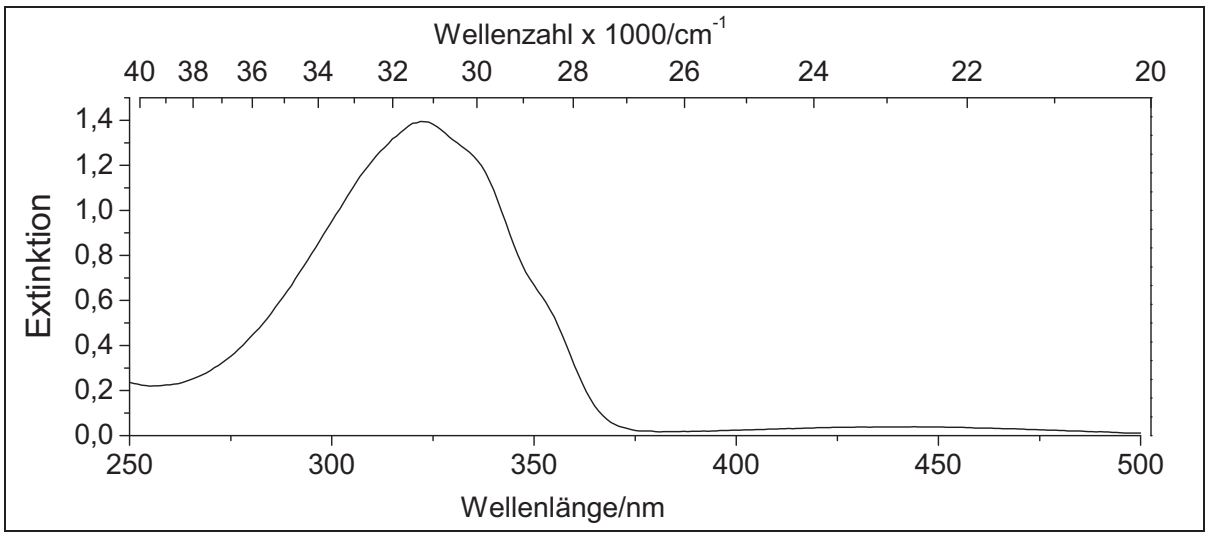


Abbildung 6.297: UV-Vis-Spektrum von **AB13** in Methanol (c = 68.3 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Chloroform):

λ_{max} (ε_{max}) = 322 (40900 (l/mol)*cm^{-1}), 439 (1140 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

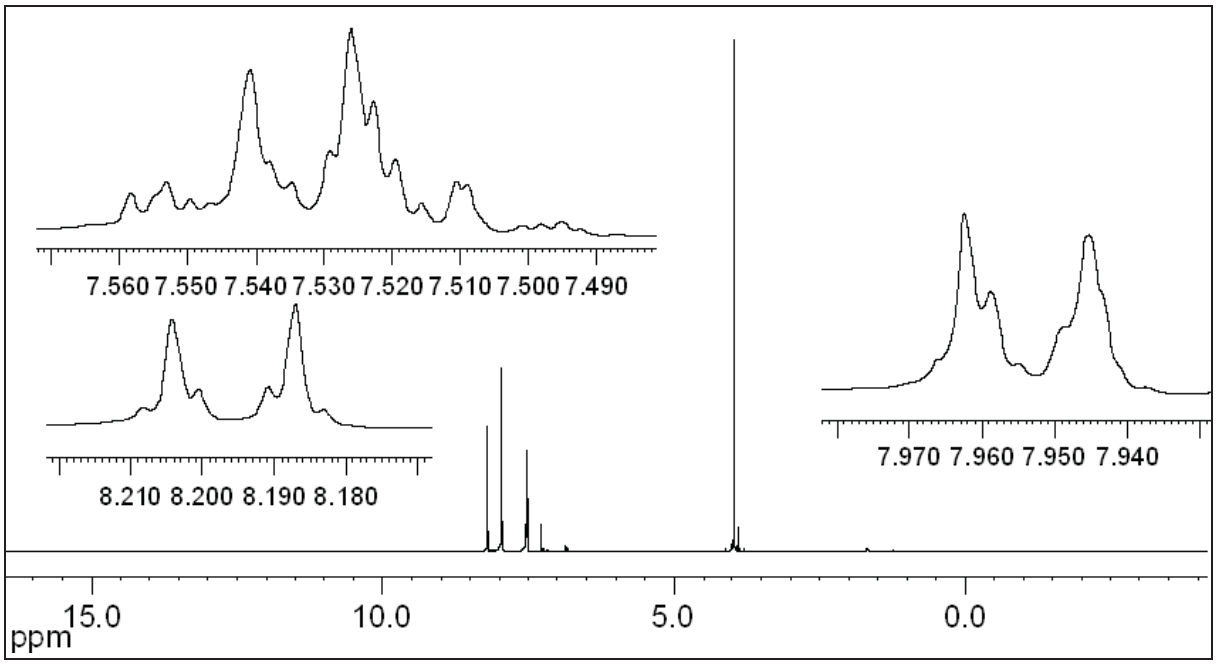


Abbildung 6.298: ^{1}H-NMR (5000 MHz, $CDCl_3$), **AB13**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[236]*

δ = 8.18-8.21 (m, 2 H, C-Teil von $[AC]_2B$-System H-b oder H-c), 7.95-7.97 (m, 2 H, B-Teil von $[AB]_2$-System H-2 oder H-3), 7.94-7.95 (m, 2 H, A-Teil von $[AB]_2$-System, H-2 oder H-3), 7.49-7.56 (m, 3 H, A- und B-Teil von $[AC]_2B$-System, H-d und H-b oder H-c), 3.96 (s, 3 H, H-6) ppm.

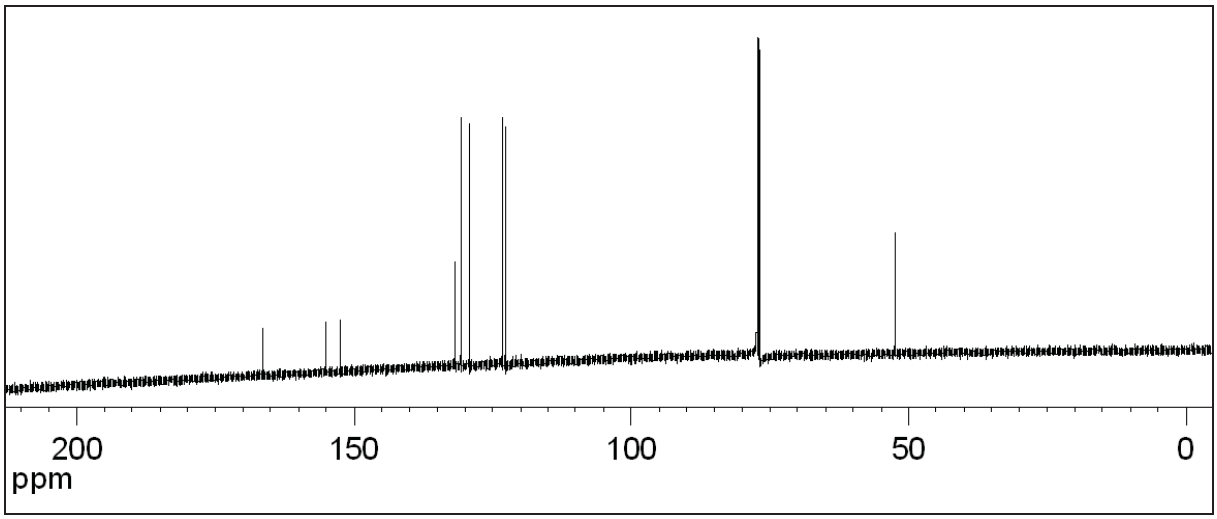


Abbildung 6.299: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **AB13**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[237]*

δ =166.5 (s, C-5), 155.1 (s, C-1), 152.5 (s, C-a), 131.8 (s, C-4), 131.7 (s, C-d), 130.6 (s, C-3), 129.2 (s, C-c), 123.1 (s, C-b), 122.6 (s, C-2), 52.3 (s, C-6) ppm.

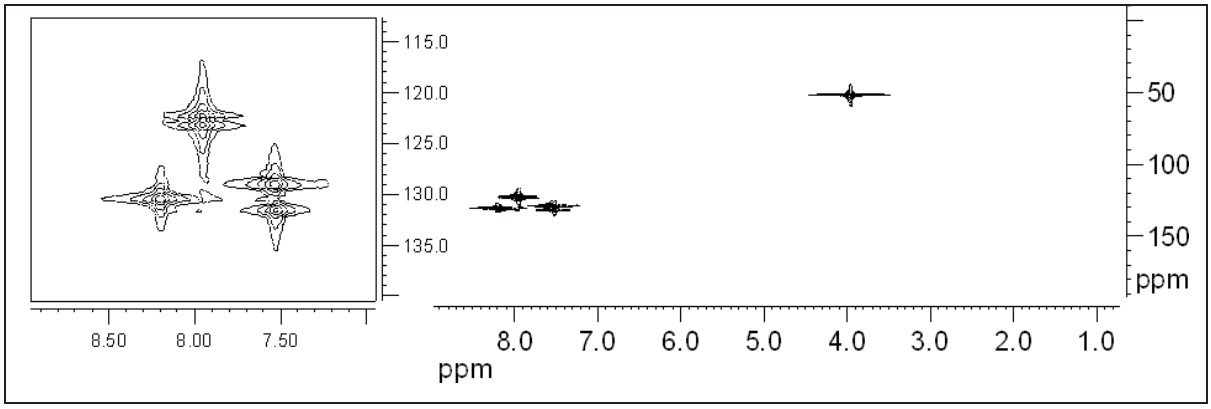


Abbildung 6.300: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **AB13**.

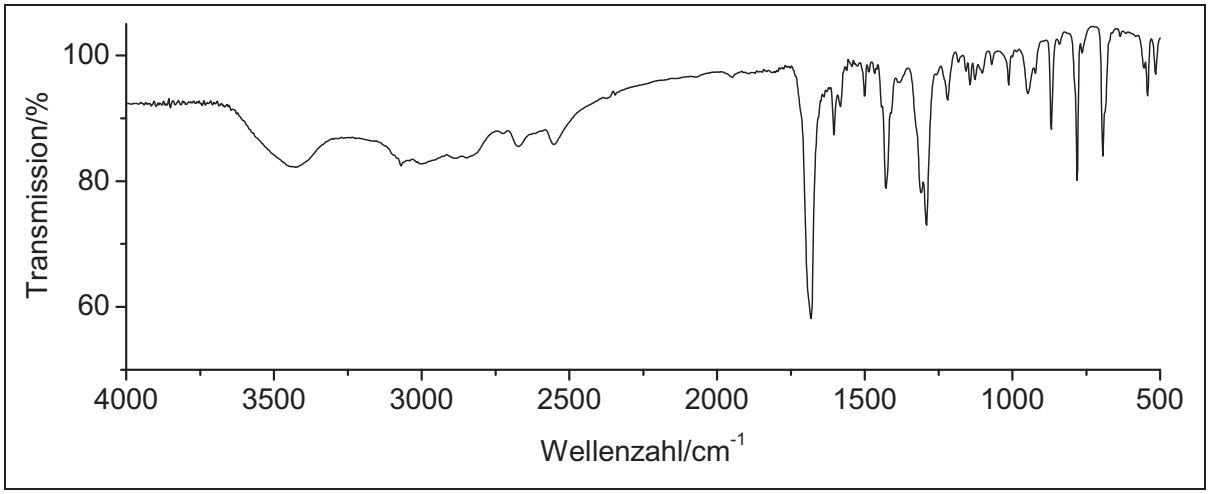
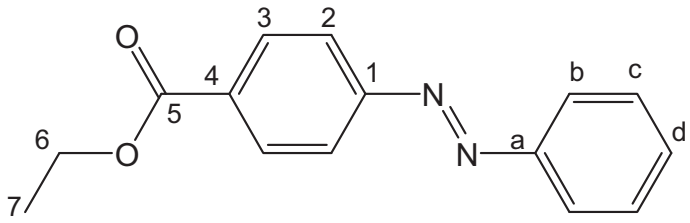


Abbildung 6.301: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB13**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3070 (C-H Valenzschwingung im Aromaten), 2847 (C-H Valenzschwingung), 1682 (C=O Valenzschwingung), 1605 und 1500 (C=C Valenzschwingung), 1428 (C-H Deformationsschwingung), 1291 (C-O Valenzschwingung), 868 (zwei H eines 1,4-substitutierten Aromaten)k, 781 und 694 (fünf H eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 85: Ethyl-4-(phenyldiazenyl)benzoat (AB14)[238, 239]#



AB14

1.71 g (16.0 mmol) Nitrosobenzol (**141**) und 2.58 g (15.6 mmol) Ethyl-4-aminobenzoat (**236**) werden bei Raumtemperatur in 75 ml Eisessig 9 d gerührt. Die Reaktionslösung wird unter starkem Rühren auf 750 ml Wasser gegeben und man rührt 30 min. Es fällt ein Feststoff aus, der abfiltriert wird.

Das Rohprodukt **AB14** wird aus Wasser und Ethanol umkristallisiert.

$C_{15}H_{14}N_2O_2$ (M = 254.28 g/mol)

Ausbeute: 1.49 g (5.68 mmol, 27 %) **AB14** **Lit**: 44 % [238]

Das Produkt **AB14** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen der Methyl- und Methylengruppen bestimmt. Es setzt sich aus 91 % *trans*- und 9 % *cis*- Ethyl-4-(phenydiazenyl)benzoat (**AB14**) zusammen.



Abbildung 6.302: AB14 als orangefarbene Kristalle.

Schmelzpunkt: 86°C **Lit**: 86-87 °C [239]

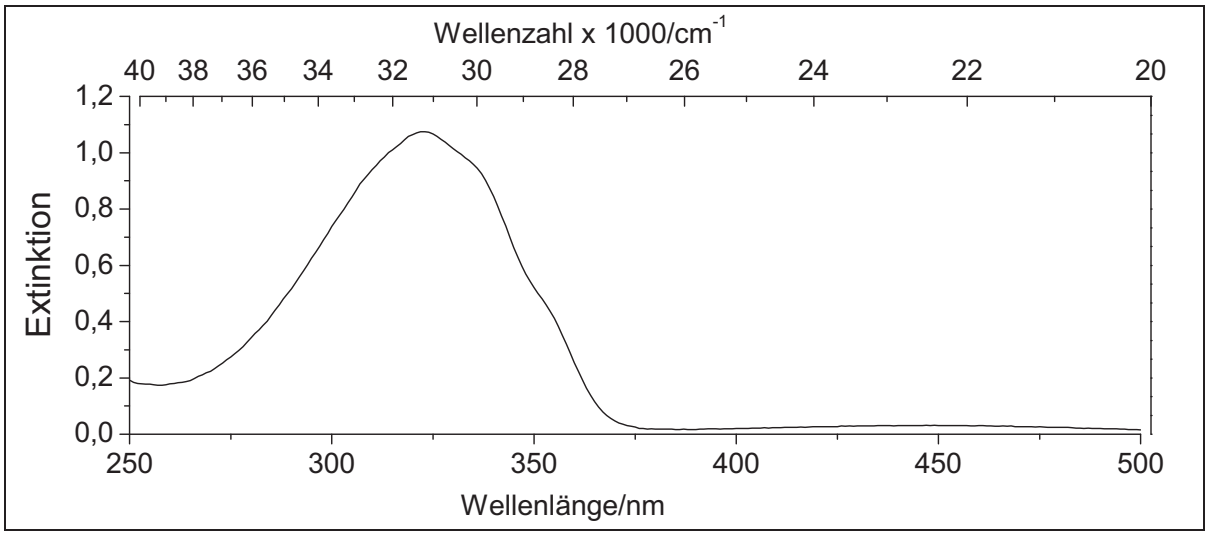


Abbildung 6.303: UV-Vis Spektrum von **AB14** in Methanol (c = 53.5 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Methanol):[240]*

λ_{max} (ε_{max}) = 322 (20100 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

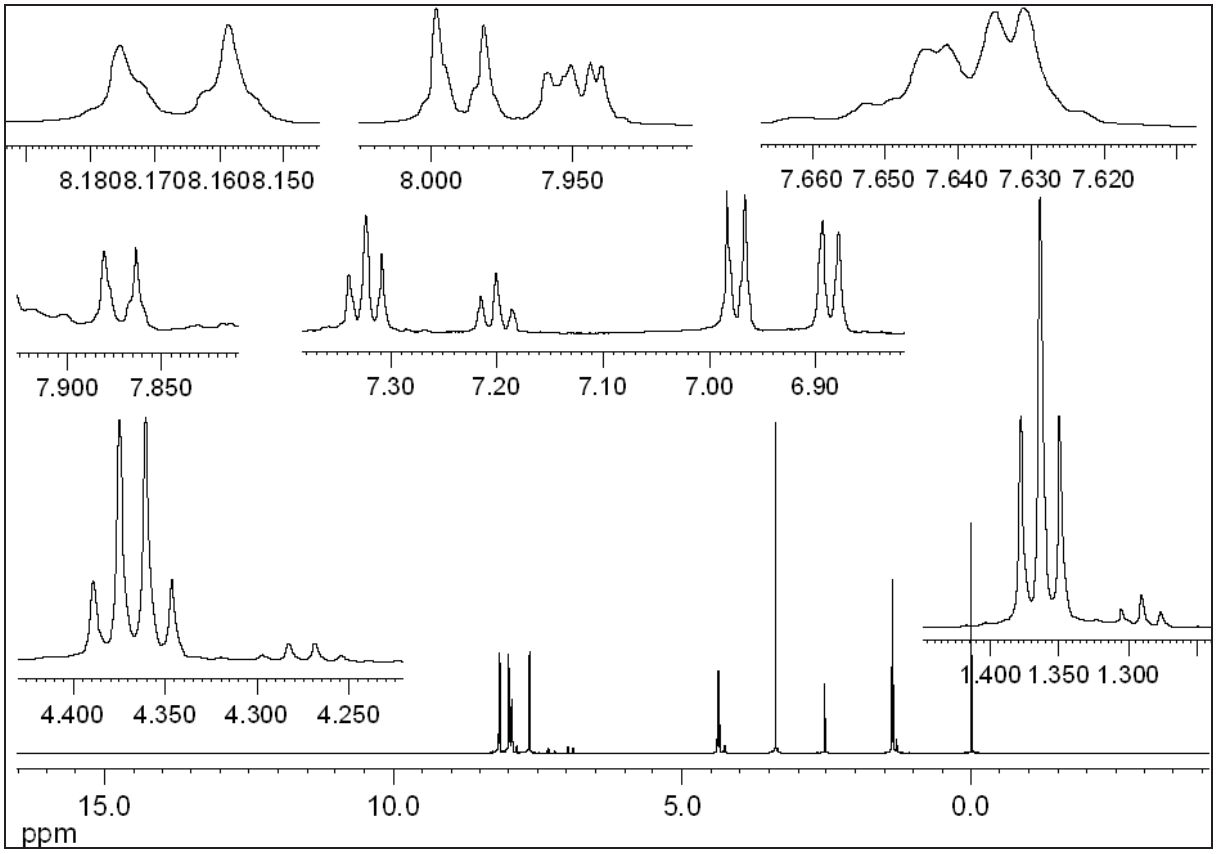


Abbildung 6.304: ^{1}H-NMR (5000 MHz, DMSO-d_6), **AB14** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

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

trans-Ethyl 4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB14**):

δ = 8.15-8.19 (m, 2 H, $^{3+5}J_{32}$ = 8.4 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 7.97-8.01 (m, 2 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.4 Hz , A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 7.93-7.97 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-b), 7.62-7.69 (m, 3 H, A-Teil und B-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-c und H-d), 4.37 (q, 2 H, $^{3}J_{67}$ = 7.1 Hz, H-6), 1.36 (t, $^{3}J_{67}$ = 7.1 Hz, 3 H, H-7) ppm.

cis-Ethyl 4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB14**):

δ = 7.85-7.89 (m, 2 H, $^{3+5}J_{32}$ = 8.4 Hz, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-3), 7.30-7.35 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-c), 7.18-7.22 (m, 1 H, B-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-d), 6.96-6.99 (m, 2 H, $^{3+5}J_{23}$ = 8.4 Hz , A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-2), 6.87-6.91 (m, 2 H, A-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-b), 4.28 (q, 2 H, $^{3}J_{67}$ = 7.1 Hz, H-6), 1.29 (t, $^{3}J_{67}$ = 7.1 Hz, 3 H, H-7) ppm.

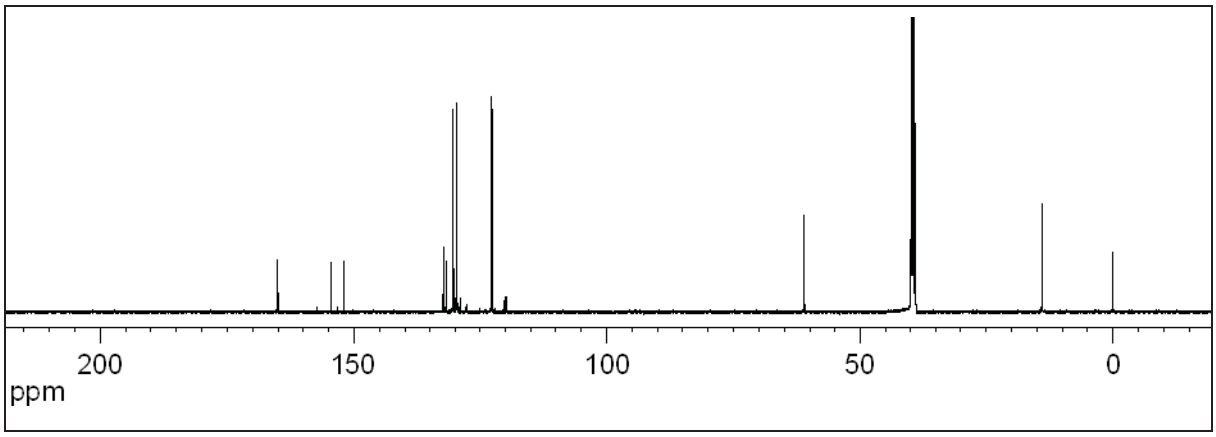


Abbildung 6.305: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB14** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[223]*

trans-Ethyl 4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB14**):

δ = 165.0 (s, C-5), 154.3 (s, C-1), 151.8 (s, C-a), 132.2 (s, C-d), 131.7 (s, C-4), 130.4 (s, C-3), 129.5 (s, C-c), 122.8 (s, C-b), 122.6 (s, C-2), 61.0 (s, C-6), 14.1 (s, C-7) ppm.

cis-Ethyl 4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB14**):

δ = 164.8 (s, C-5), 157.4 (s, C-1), 153.2 (s, C-a), 129.9 (s, C-3), 128.8 (s, C-c), 127.9 (s, C-4), 127.7 (s, C-d), 120.1 (s, C-b), 119.7 (s, C-2), 60.8 (s, C-6), 14.0 (s, C-7) ppm.

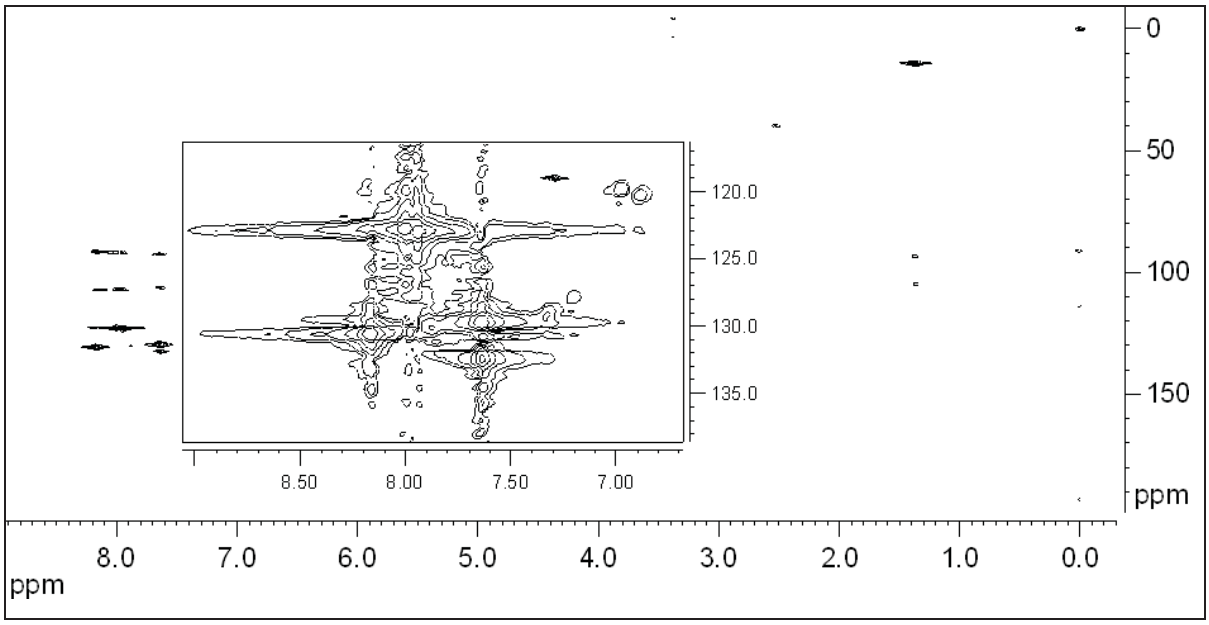


Abbildung 6.306: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB14**.

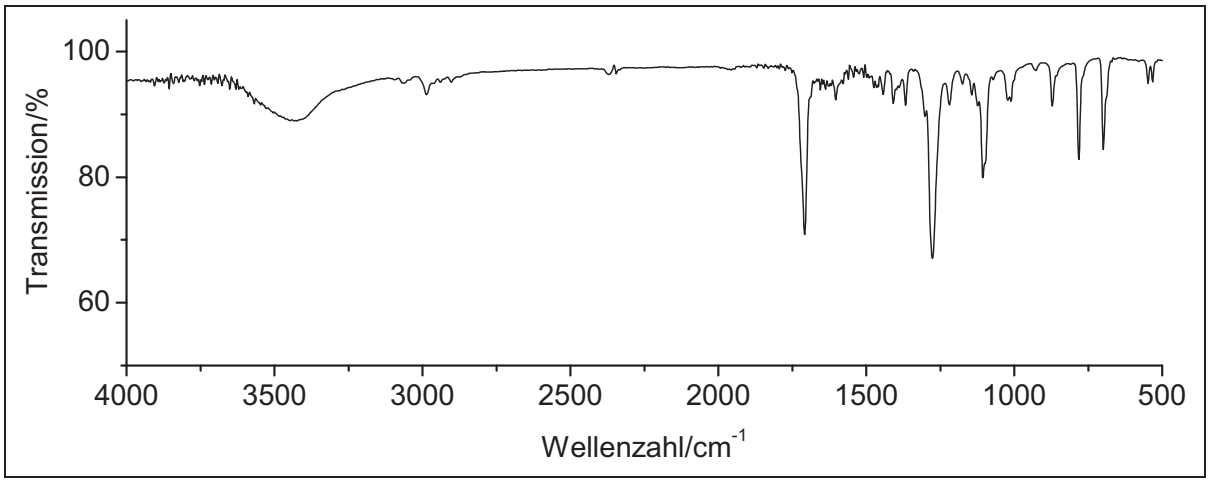
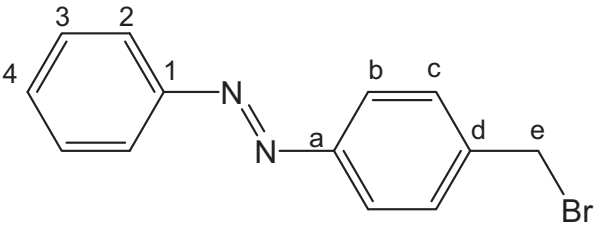


Abbildung 6.307: IR Spektrum (KBr-Pressling), **AB14**.

IR (KBr):[241]*

$\tilde{\nu}$ = 2986 (C-H Valenzschwingung), 1708 (C=O Valenzschwingung), 1603 und 1542 (C=C Valenzschwingung im Aromaten), 1443 (C-H Deformationsschwingung), 1367 (CH_3-symmetrische Deformationsschwingung), 1276 und 1106 (C-O δ_{asym} Ester), 782 und 699 (monosubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 86: 4-(Brommethyl)azobenzol (AB15)[242, 243]#



AB15

0.50 g (2.5 mmol) 4-Methylazobenzol (**AB14**), 0.48 g (2.7 mmol) *N*-Brom-succinimid (**142**) und eine Spatelspitze Dibenzoylperoxid (**237**) werden in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff 9 h zum Rückfluss erhitzt. Aus der erkalteten Reaktionslösung ausgefallenes Succinimid (**238**) wird abfiltriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **AB15** wurde vor der weiteren Umsetzung nicht weiter augereinigt. Es enthält 4 % nicht umgesetztes Edukt **AB14**.

Es besteht jedoch die Möglichkeit das Rohprodukt **AB15** aus Toluol umzukristallisieren oder säulenchromatographisch mit einem Laufmittel aus Hexan/Ethylacetat 95/5 aufzureinigen.

$C_{13}H_{11}N_2Br$ (M = 275.14 g/mol)

Ausbeute: 700 mg (2.5 mmol, quantitativ) **AB15** **Lit**: 47 % [242]

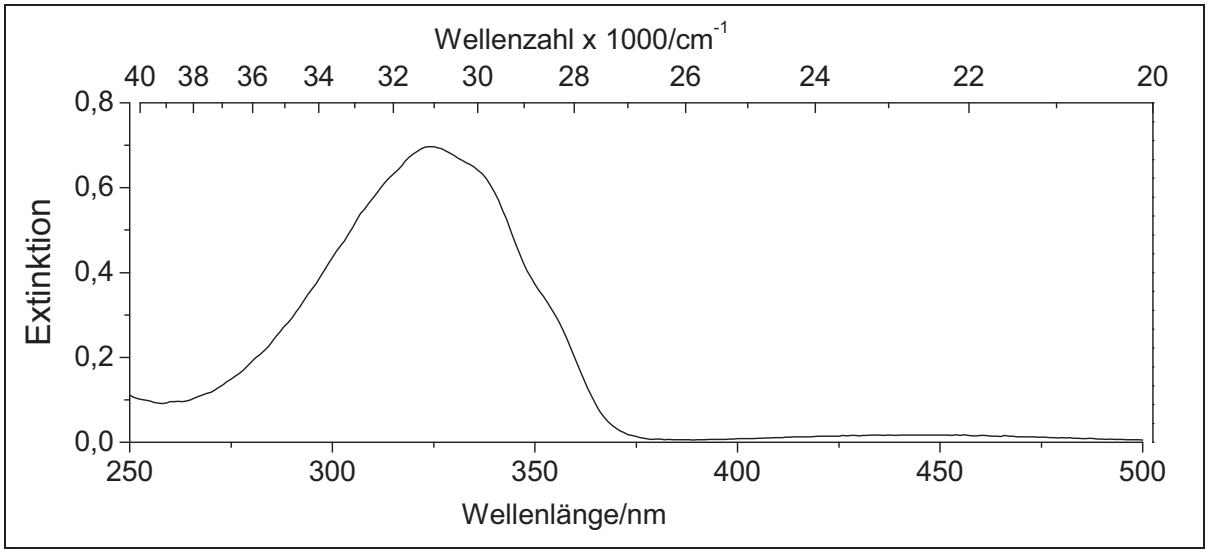


Abbildung 6.308: UV-Vis-Spektrum von **AB15** in Methanol (c = 65.4 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 324 (21300 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

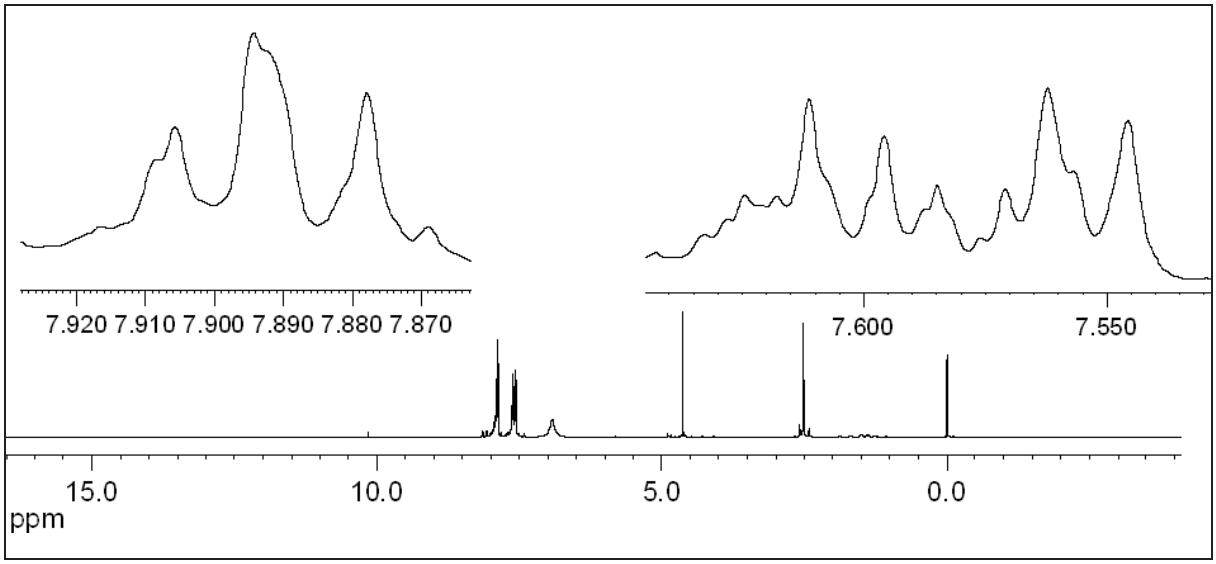


Abbildung 6.309: ^{1}H-NMR (5000 MHz, DMSO-d_6), **AB15**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[242]*

δ = 7.89-7.91 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-2), 7.87-7.90 (m, 2 H, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.2 Hz , B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-b), 7.58-7.63 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-3), 7.56-7.59 (m, 1 H, A-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4), 7.54-7.57 (m, 2 H, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.2 Hz , A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, H-c), 4.62 (s, 2 H, H-e) ppm.

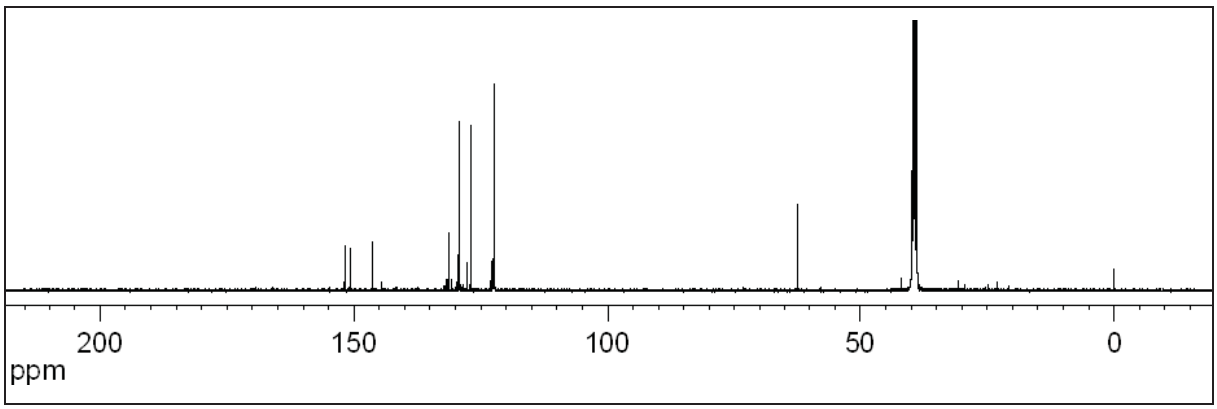


Abbildung 6.310: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB15**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[242]*

δ = 151.8 und 150.7 (s, C-a und C-1), 146.4 (s, C-d), 131.2 (s, C-4), 129.3 (s, C-3), 127.0 (s, C-c), 122.3 und 122.4 (s, C-b und C-2), 62.3 (s, C-e) ppm.

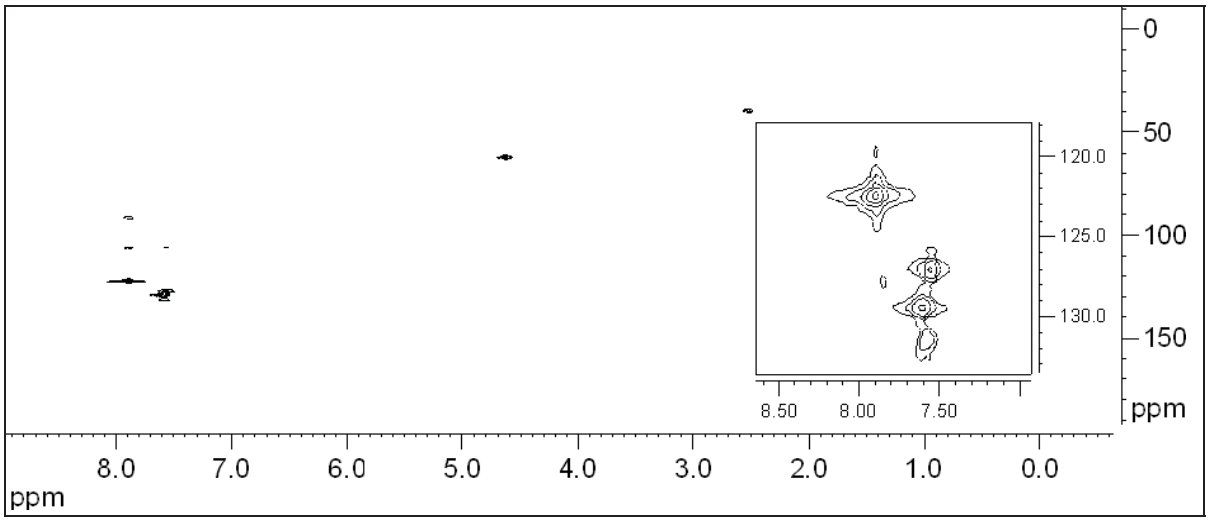


Abbildung 6.311: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB15**.

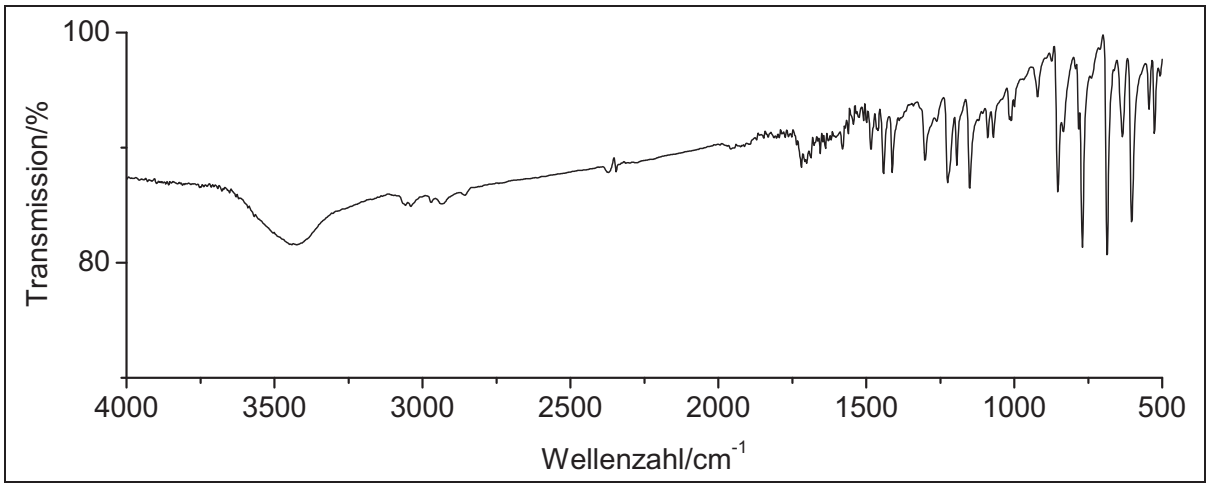
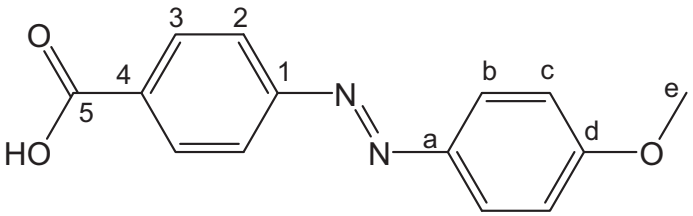


Abbildung 6.312: IR Spektrum (KBr-Pressling), **AB15**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3057 und 3037 (C-H Valenzschwingung im Aromaten), 2970, 2934 und 2857 (C-H Valenzschwingung), 1580 und 1484 (C=C Valenzschwingung), 1440 (C-H Deformationsschwingung), 770 und 680 (monosubstituierter Aromat), 853 (*p*-substituierter Aromat), 603 (C-Br Schwingung) cm^{-1}.

Versuch 87: 4-[(4-Methoxyphenyl)diazenyl]benzoesäure (AB16)[107, 244]#



AB16

2.4 g (9.9 mmol) 4-[(4-Hydroxyphenyl)diazenyl]benzoesäure (**AB06**) und 10 ml 2.5 N Natronlauge werden in 100 ml Ethanol 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 1.0 ml Iodmethan (**128**) (2.27 g, 16 mmol) werden zugegeben und die Lösung wird 6.5 h auf 70 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird mit 24 ml 2 N Salzsäure angesäuert. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und aus Ethanol und Wasser umkristallisiert.

$C_{14}H_{12}N_2O_3$ (M = 256.26 g/mol)

Ausbeute: 260 mg (1.0 mmol, 10 %) **AB16**

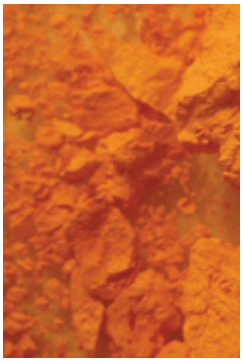


Abbildung 6.313: AB16 als orangefarbener Feststoff.

Das Produkt **AB16** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen bestimmt. Es setzt sich aus 82 % *trans*- und 18 % *cis*-4-[(4-Methoxyphenyl)diazenyl]benzoesäure (**AB16**) zusammen.

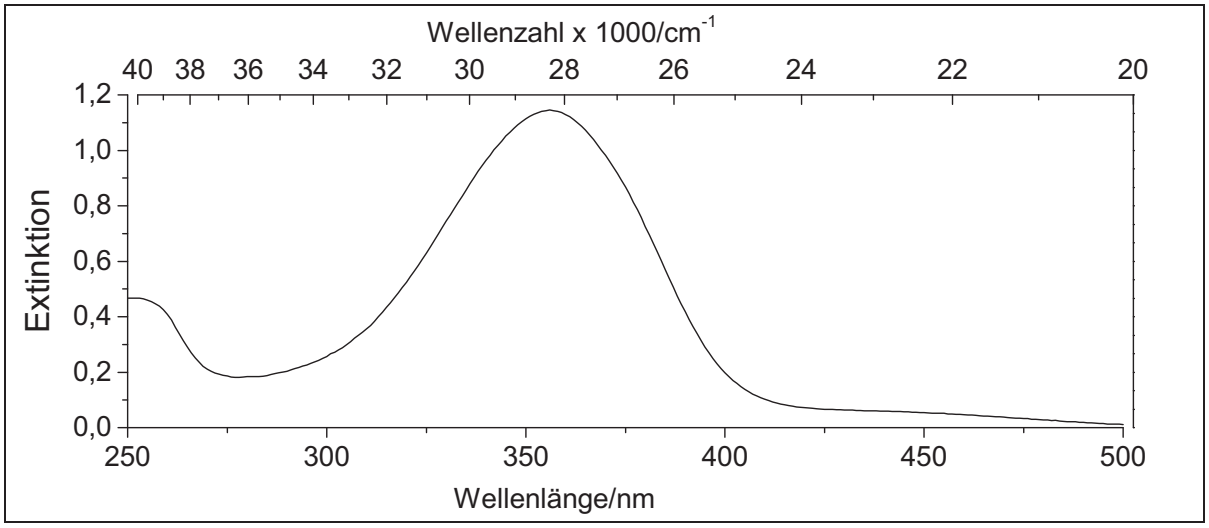


Abbildung 6.314: UV-Vis-Spektrum von **AB16** in (c = 70.2 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Chloroform):[244]*

λ_{max} (ε_{max}) = 356 (32605 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

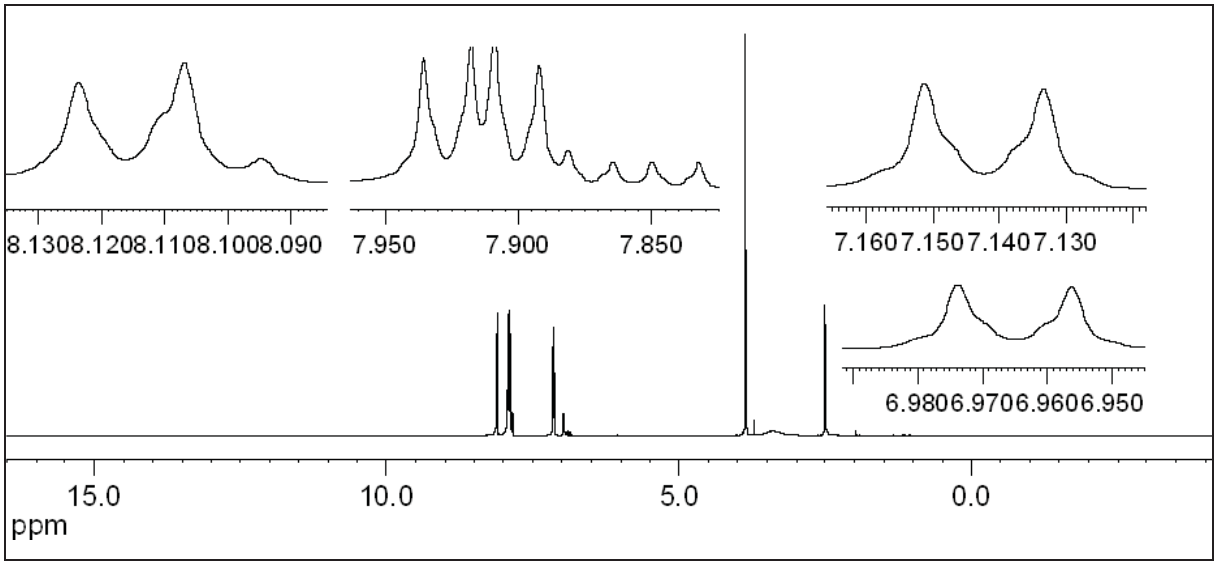


Abbildung 6.315: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB16** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): [107, 245]*

trans-4'-Carboxy-4-(methoxy)azobenzol (**AB16**):

δ = ca 13.1 (bs, 1 H, H-5), 8.10-8.13 (m, 2 H, D-Teil eines $[CD]_2$-Systems, $^3J_{23}+^5J_{23}$ = 8.4 Hz, H-2), 7.91-7.95 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{bc}+^5J_{bc}$ = 8.9 Hz, H-b), 7.89-7.92 (m, 2 H, C-Teil eines $[CD]_2$-Systems, $^3J_{32}+^5J_{32}$ = 8.4 Hz, H-3), 7.12-7.16 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{cb}+^5J_{cb}$ = 8.9 Hz, H-c), 3.87 (s, 3 H, H-e) ppm.

cis-4'-Carboxy-4-(methoxy)azobenzol (**AB16**):

δ = ca 13.1 (verdeckt, H-5), 8.09-8.11 (m, 2 H, D-Teil eines $[CD]_2$-Systems, H-2), 7.86-7.89 (m, 2 H, C-Teil eines $[CD]_2$-Systems, $^3J_{32}+^5J_{32}$ = 8.5 Hz, H-3), 7.82-7.86 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^3J_{bc}+^5J_{bc}$ = 8.7 Hz, H-b), 6.94-6.99 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB_2$-Systems, $^3J_{cb}+^5J_{cb}$ = 8.7 Hz, H-c), 3.87 (verdeckt, H-e) ppm.

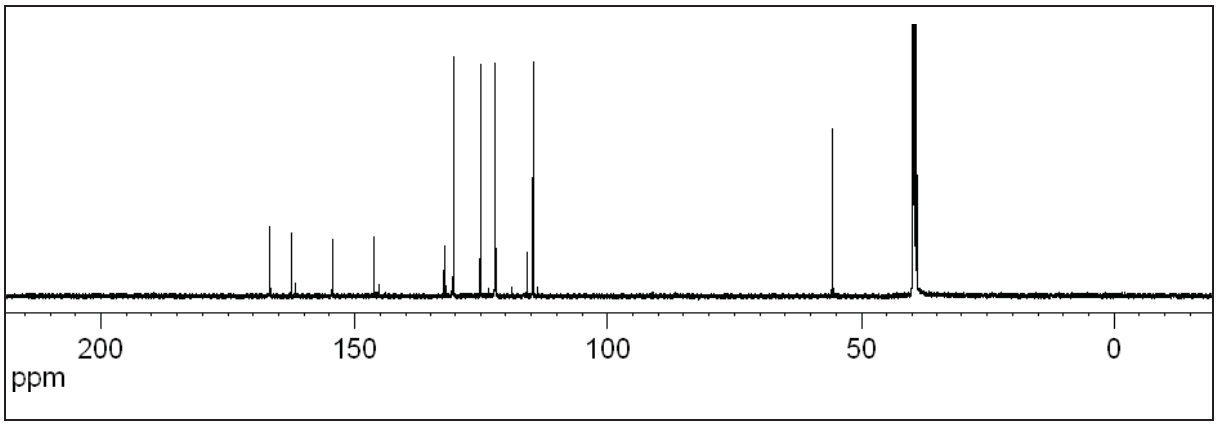


Abbildung 6.316: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB16** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[245]*

trans-4'-Carboxy-4-(methoxy)azobenzol (**AB16**):

δ = 166.7 (s,C-5), 162.5 (s, C-d), 154.4 (s, C-1), 146.2 (s, C-a), 132.2 (s, C-4), 130.5 (s, C-3), 124.9 (s, C-b), 122.2 (s, C-2), 114.7 (s, C-c), 55.7 (s, C-e) ppm.

cis-4'-Carboxy-4-(methoxy)azobenzol (**AB16**):

δ = 166.7 (s,C-5), 161.6 (s, C-d), 154.5 (s, C-1), 145.2 (s, C-a), 131.8 (s, C-4), 130.5 (s, C-3), 125.3 (s, C-b), 122.0 (s, C-2), 116.0 (s, C-c), 55.3 (s, C-e) ppm.

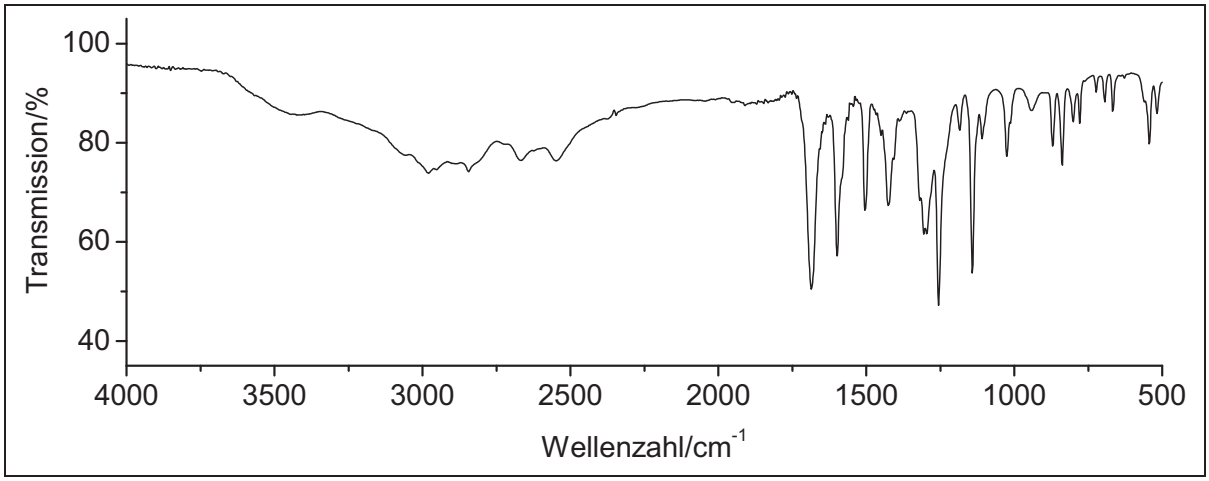
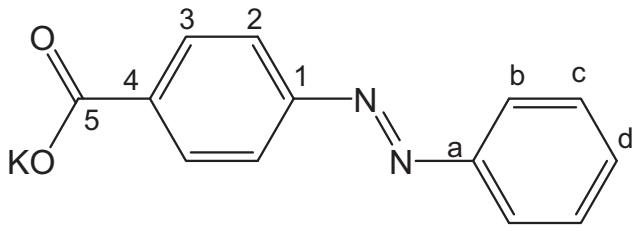


Abbildung 6.317: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB16**.

IR (KBr):

ṽ = 2980 (O-H Valenzschwingung), 2845 (C-H Valenzschwingung), 1685 (C=O Valenzschwingung), 1598 (C=C Valenzschwingung), 1425 (C-H Deformationsschwingung), 1255 (O-H Deformationsschwingung), 1142 (C-O Valenzschwingung), 838 und 801 (zwei H eines 1,4-substituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 88: Kalium-4-(phenyldiazenyl)benzoat (AB01-K)[108, 234]#



AB01-K

1.06 g (4.17 mmol) Ethyl-4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB14**) und 2.23 g (39.7 mmol) frisch gemörsertes Kaliumhydroxid werden in 80 ml Ethanol 5 h zum starken Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wird langsam abgekühlt und bleibt 12 h bei Raumtemperatur stehen. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert und unter vermindertem Druck getrocknet. Man erhält das gewünschte Produkt **AB01** in Form des Kaliumsalzes.

$C_{13}H_9KN_2O_2$(M = 264.32 g/mol)

Ausbeute: 965 mg (3.65 mmol, 88 %) **AB01-K**

Das Produkt **AB01-K** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen bestimmt. Es setzt sich aus 87 % *trans*- und 13 % *cis*-Isomer zusammen.

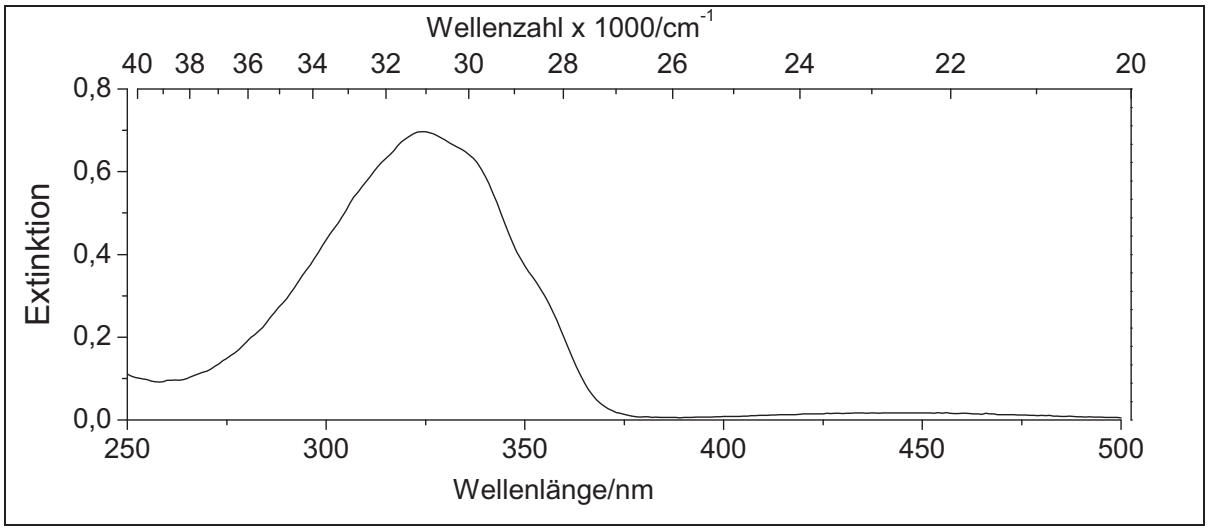


Abbildung 6.318: UV-Vis-Spektrum von **AB01-K** in Methanol (c = 60.5 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 325 (27300 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

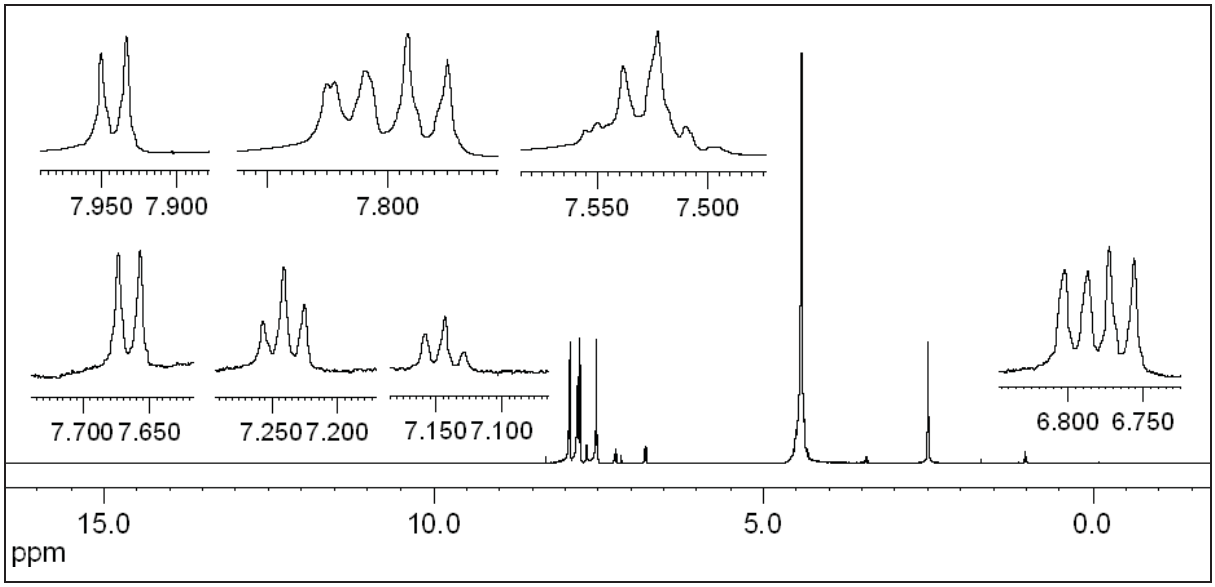


Abbildung 6.319: ^{1}H-NMR (5000 MHz, DMSO-d$_6$), **AB01-K** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d$_6$):

trans-Kalium-4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB01-K**):

δ = 7.92-7.96 (m, 2 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.3 Hz, H-3), 7.80-7.84 (m, 2 H, C-Teil eines [BC]$_2$A-Systems, H-b), 7.76-7.80 (m, 2 H, A-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.3 Hz, H-2), 7.51-7.55 (m, 2 H, A-Teil eines [BC]$_2$A-Systems, H-c), 7.49-7.56 (m, 1 H, A-Teil eines [BC]$_2$A-Systems, H-d) ppm.

cis-Kalium-4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB01-K**):

δ = 7.64-7.69 (m, 2 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.3 Hz, H-3), 7.21-7.27 (m, 2 H, C-Teil eines [AC]$_2$B-Systems, H-c), 7.12-7.17 (m, 1 H, B-Teil eines [AC]$_2$B-Systems, H-d), 6.78-6.81 (m, 2 H, A-Teil eines [AB]$_2$-Systems, H-b), 6.75-6.78 (m, 2 H, A-Teil eines [AC]$_2$B-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.3 Hz, H-2) ppm.

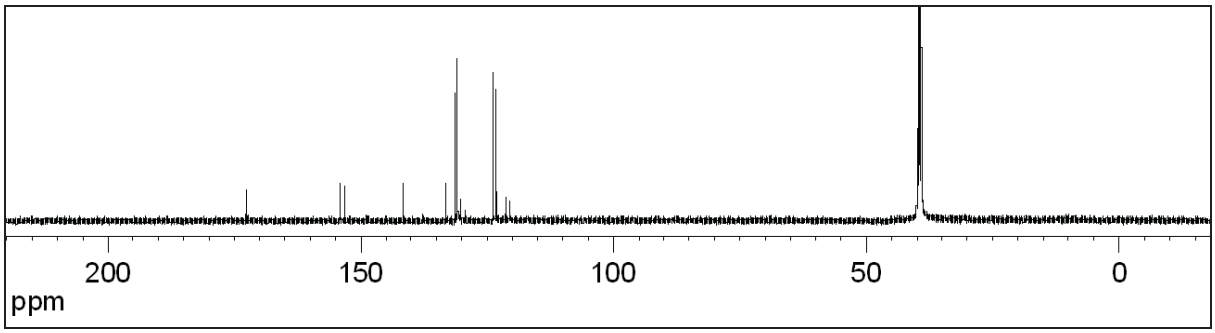


Abbildung 6.320: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB01-K** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

trans-Kalium-4-(phenyldiazenyl)benzoat (**AB01-K**):

δ = 172.7 (s, C-5), 154.0 und 153.1 (C-1 und C-a), 141.6 (s, C-4), 133.3 (s, C-d), 131.3 (s, C-3), 130.9 (s, C-c), 123.8 (s, C-b), 123.2 (s, C-2) ppm.

cis-Kalium-4-(phenyldiazenyl)benzoate (**AB01-K**):

δ = 130.3 (s, C-3), 129.3 (s, C-c), 121.4 (s, C-b), 120.7 (s, C-2) ppm.

(Die Intensität der weiteren Signale ist zu gering, um vom Untergrundrauschen differenziert zu werden.)

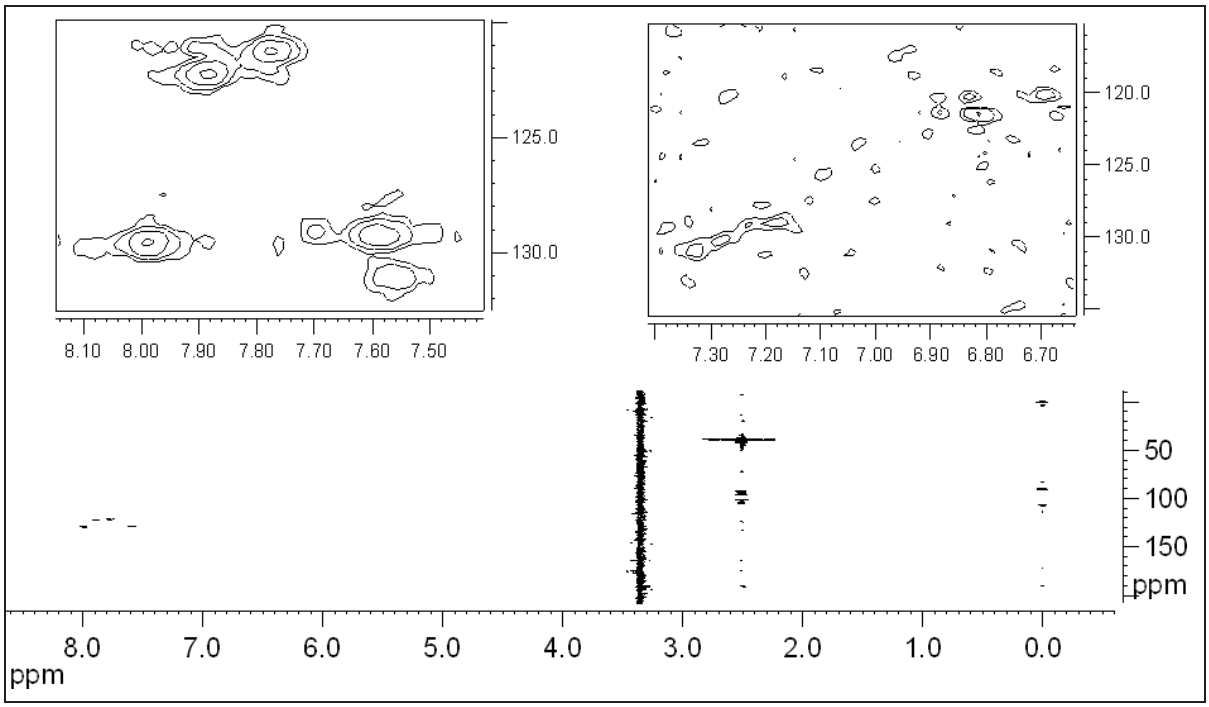


Abbildung 6.321: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB01-K**.

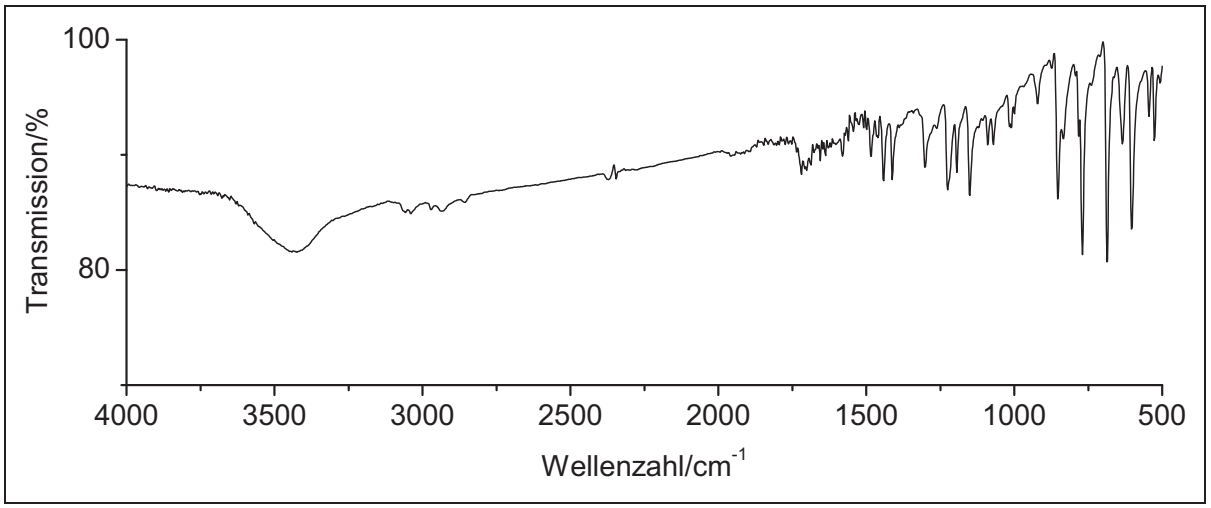


Abbildung 6.322: IR Spektrum (KBr-Pressling), **AB01-K**.

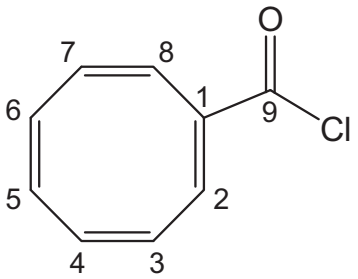
IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3054 (C-H Valenzschwingung im Aromaten), 1594 und 1584 (C=C Valenzschwingung), 870 und 850 (2 H eines 1,4-substituierten Aromaten), 790 und 695 (monosubstituierter Aromat) cm^{-1}.

6.3.2.6 Kopplungsbausteinsynthesen

Versuch 89: Cycloocta-1,3,5,7-tetraencarbonsäurechlorid (COT04)[246, 247]#

528 mg (3.56 mmol) Cycloocta-1,3,5,7-tetraencarbonsäure (**COT01**) und 1.05 g (8.83 mmol) Thionylchlorid (**145**) werden 2 h unter Luftausschluss auf 85 °C zum Rückfluss erhitzt. Aus dem abgekühlten Reaktionsgemisch wird überschüssiges Thionylchlorid (**145**) im Wasserstrahlvakuum entfernt. Zwischen Wasserstrahlpumpe und Kolben wird ein mit Kaliumhydroxidplätzchen gefüllter Trockenturm gesetzt, um Feuchtigkeit von dem entstandenen Säurechlorid **COT04** fernzuhalten.

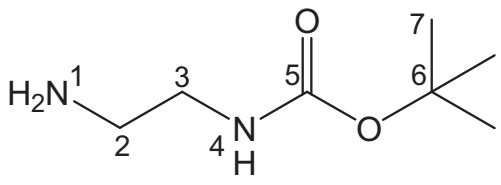


COT04

Man erhält ein dunkelgelbes Öl, welches ohne weitere Reinigung direkt weiter umgesetzt wird.

C_9H_7ClO (M = 166.60 g/mol)

Versuch 90: *tert*-Butyl-*N*-(2-aminoethyl)carbamat (148)[115]#



148

4.80 g (79.9 mmol) Ethylendiamin (**146**) werden in 40 ml abs. Tetrahydrofuran auf 5 °C abgekühlt. Unter Rühren werden 4.16 g (19.1 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat (**149**), gelöst in 30 ml abs. Tetrahydrofuran, langsam zugetropft. Nach 30 min wird das Eisbad entfernt und die Reaktionslösung 20 h bei Raumtemperatur gerührt.

Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mit Ethylacetat und gesättigter Natriumchloridlösung versetzt bis sich der gesamte Feststoff gelöst hat. Die organische Phase wird abgetrennt, dreimal mit je 100 ml gesät-

tigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_7H_{16}N_2O_2$ (M = 160.21 g/mol)

Ausbeute: 2.22 g (13.9 mmol, 73 %) **148** **Lit**: 97 % [115]

Das Produkt **148** wurde als *E-/Z*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus den gemittelten Verhältnissen der ^{1}H-NMR Signalen von H-4 und H-3 bestimmt. Es setzt sich aus 75 % *E*- und 25 % *Z*-Isomer zusammen.

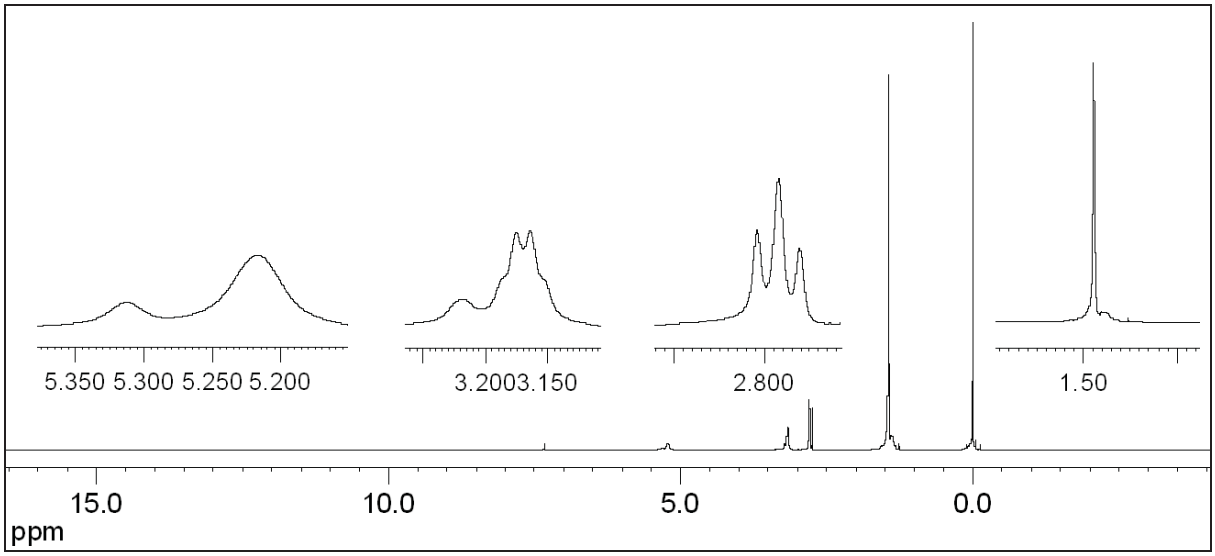


Abbildung 6.323: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **148** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[115]*

(*E*)-*tert*-Butyl 2-aminoethylcarbamat (**148**):

δ = 5.22 (bs, 1 H, H-4), 3.17 (dt, 2 H, $^3J_{32}$ = 5.5 Hz, $^3J_{34}$ = 5.4 Hz, H-3), 2.79 (t, 2 H, $^3J_{23}$ = 5.9 Hz, H-2), 1.45 (s, 9 H, H-7), ppm.

(*Z*)-*tert*-Butyl 2-aminoethylcarbamat (**148**):

δ = 5.31 (bs, 1 H, H-4), 3.22 (bs, 2 H, H-3), 2.79 (t, 2 H, $^3J_{23}$ = 5.9 Hz, H-2), 1.45 (s, 9 H, H-7) ppm.

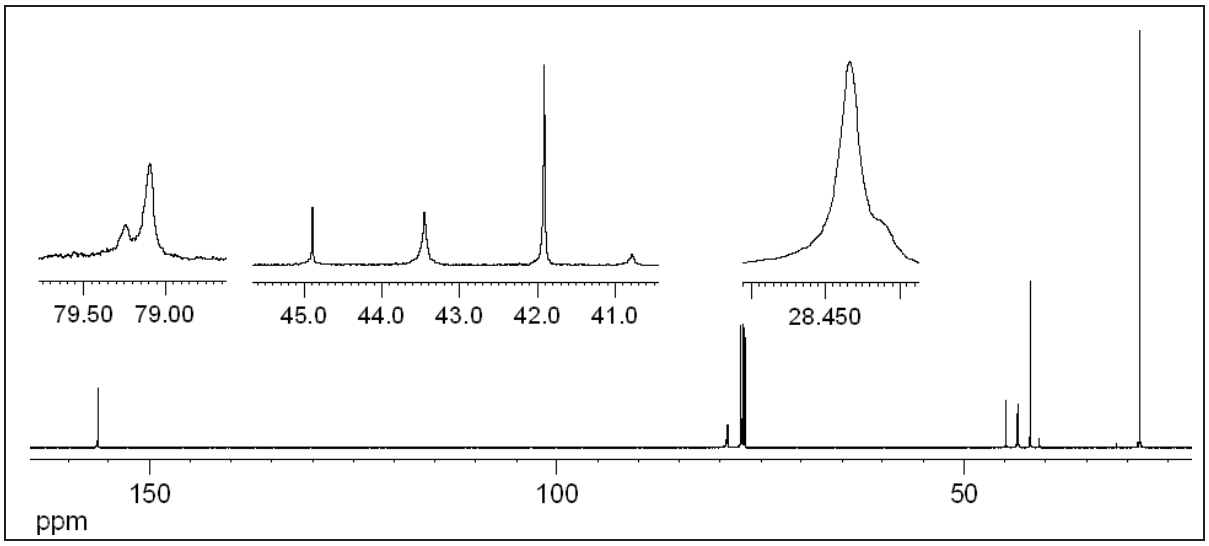


Abbildung 6.324: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **148** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[115]*

trans-tert-Butyl-2-aminoethylcarbamat (**148**):

δ = 156.3 (s, C-5), 79.1 (s, C-6), 43.5 (s, C-3), 41.9 (s, C-2), 28.4 (s, C-7) ppm.

cis-tert-Butyl-2-aminoethylcarbamat (**148**):

δ = 156.3 (s, C-5), 79.2 (s, C-6), 44.9 (s, C-3), 40.8 (s, C-2), 28.4 (s, C-7) ppm.

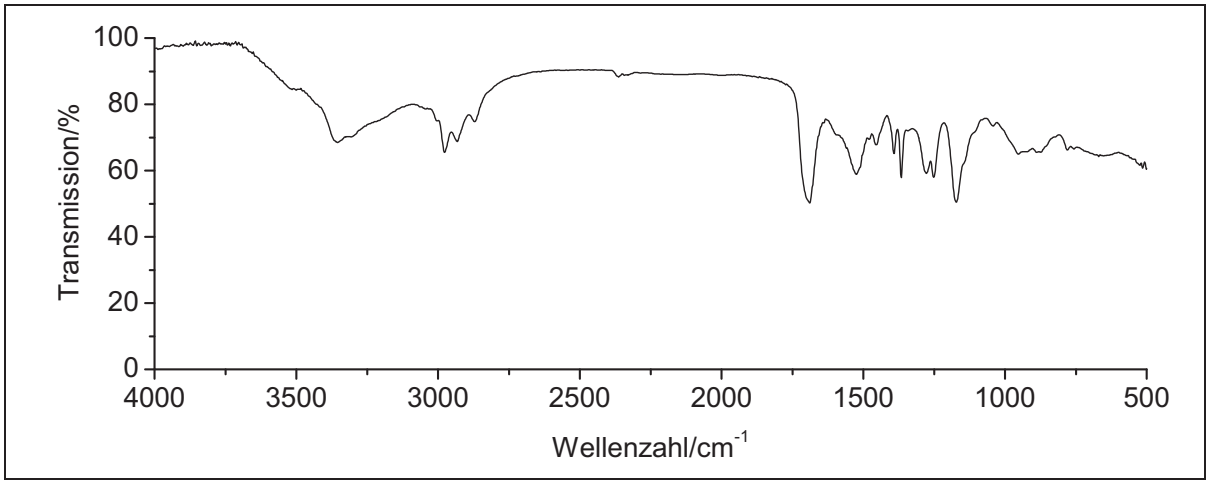
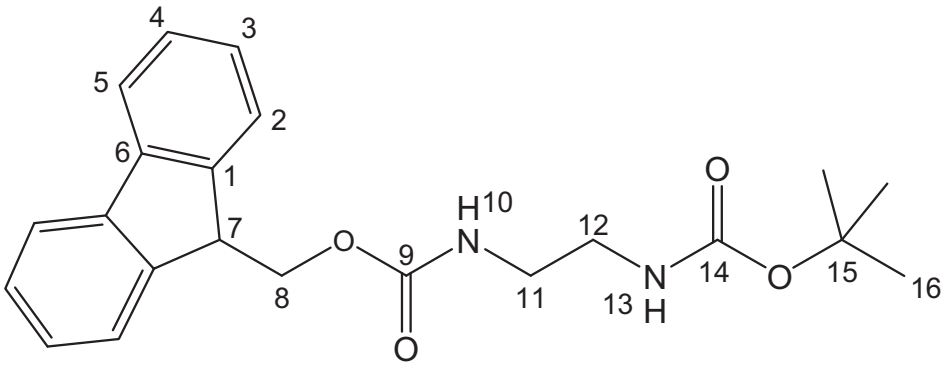


Abbildung 6.325: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **148**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3514 und 3306 (NH-C=O- Valenzschwingung), 3354 (NH_2-Valenzschwingung), 2976, 2932 und 2872 (CH-Valenzschwingung), 1690 (C=O-Valenzschwingung), 1524 (NH-Deformationsschwingung), 1454 (CH_2-Defromationsschwingung), 1391 und 1366 (CH_3-symmetrische Deformationsschwingung), 1173 (C-O-Valenzschwingung) cm^{-1}.

Versuch 91: (9H-Fluoren-9-yl)methyl-N-[2-(tert-butoxycarbonyl-amino)ethyl]carbamat (153)[116]#



153

Zu 1.24 g (7.12 mmol) *tert*-Butyl 2-aminoethylcarbamat (**148**) in 10 ml destilliertem Wasser werden unter Rühren in einer Portion 2.63 g (9.32 mmol) *N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimid (**152**) in 30 ml Acetonitril zugegeben. Unter Schäumen fällt Feststoff aus. Das Reaktionsgemisch wird eine Woche bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Die Reaktion wird in viel destilliertem Wasser aufgeschlämmt. Der Feststoff wird abfiltriert, mit destilliertem Wasser gewaschen und in 150 ml Ethylacetat aufgenommen. Ungelöste Bestandteile werden abfiltriert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_{23}H_{28}N_2O_4$ (M = 396.48 g/mol)

Ausbeute: 2.82 g (7.11 mmol, quantitativ) **153** **Lit**: 84 % [116]

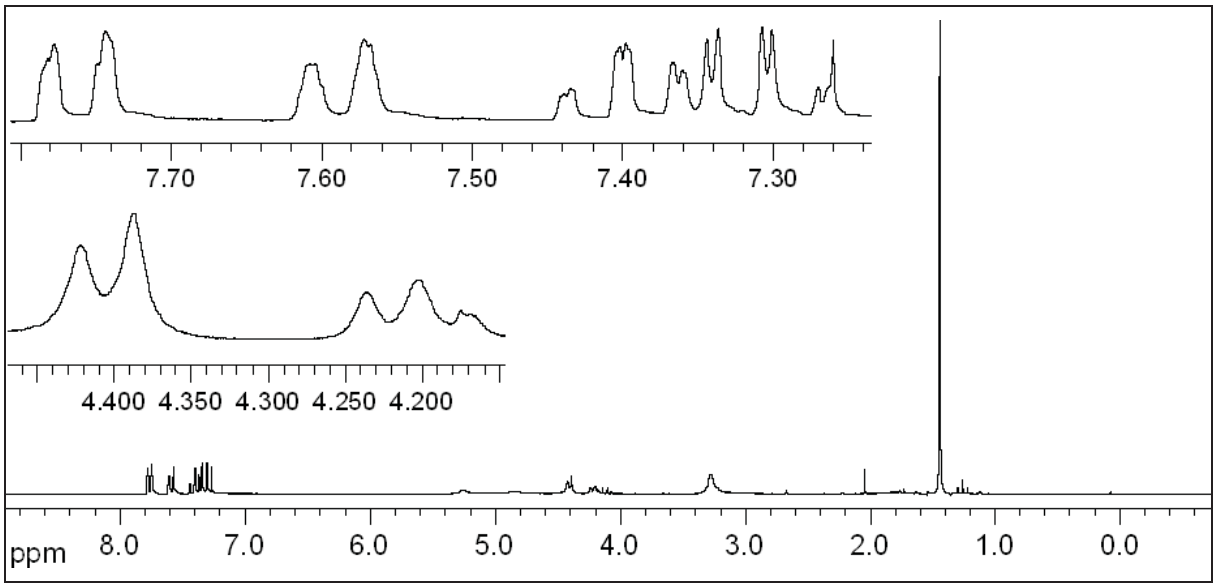
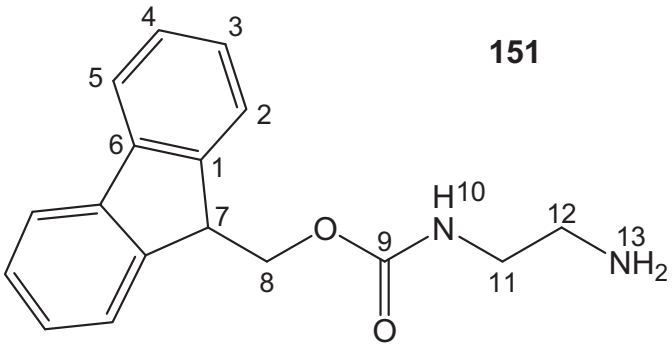


Abbildung 6.326: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **153**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[116]

δ = 7.71-7.80 (m, 2 H, H-5), 7.53-7.62 (m, 2 H, H-2), 7.35-7.45 (m, 2 H, H-4), 7.25-7.35 (m, 2 H, H-3), 5.26 (bs, 1 H, H-10 oder H-13), 4.85 (bs, 1 H, H-10 oder H-13), 4.40 (d, 2 H, $^{3}J_{87}$ = 6.7 Hz, H-8), 4.20 (t, 1 H, $^{3}J_{78}$ = 6.9 Hz, H-7), 3.27 (m, 4 H, H-11 und H-12), 1.44 (s, 9 H, H-16) ppm.

Versuch 92: (9*H*-Fluoren-9-yl)methyl-*N*-(2-aminoethyl)carbamat (151) [248]#



151

712 mg (1.79 mmol) (9H-Fluoren-9-yl)methyl-N-[2-(tert-butoxycarbonyl-amino)ethyl]carbamat (**153**) in 50 ml Chloroform werden auf unter 5 °C angekühlt. 2 ml Trifluoressigsäure in 25 ml Chloroform werden zugetropft. Die Reaktionslösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und für 12 h gerührt.

Die Lösung wird unter verminderten Druck eingeengt. Der Rückstand wird 12 h in Toluol gerührt. Das ausgefallene Produkt **151** wird abfiltriert und getrocknet. Man

erhält eine Mischung des neutralen Amins **151-NH_2** und des Trifluoracetats **151-$NH_3^+ \cdot CF_3COO^-$** im Verhältnis 1:2.

$C_{17}H_{18}N_2O_2$ (M = 282.34 g/mol)
$C_{17}H_{18}N_2O_2 \cdot CF_3COOH$ (M = 396.36 g/mol)

Ausbeute: 303 mg davon ca.
79.6 mg (282 µmol) **151-NH_2**
223 mg (563 µmol) **151-$NH_3^+ \cdot CF_3COO^-$**
→ (844 µmol, 47 %) **Lit**: 91 %[248]

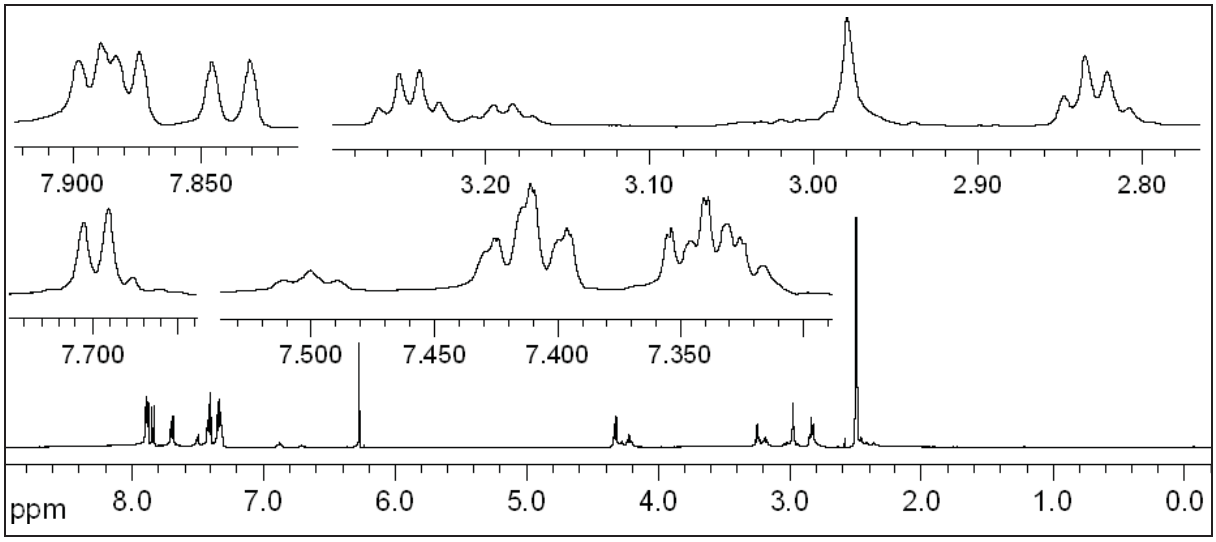


Abbildung 6.327: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **151**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[116, 248]*
151-NH_2:
δ = 2.82 (t, 2 H, $^3J_{12/11}$ = 6.6 Hz, H-12), 2.98 (s, 2 H, H-13), 3.19 (dt, 2 H, $^3J_{11/12}$ = 6.2 Hz, $^3J_{11/10}$ = 6.0 Hz, H-11), 4.22 (s, 1 H, H-7), 4.28 (d, $^3J_{87}$= 7.0 Hz, H-8), 6.28 (s, 1 H, H-10), 7.30-7.38 (m, 2 H, D-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-3), 7.33-7.44 (m, 2 H, C-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-4), 7.68-7.72 (m, 2 H, B-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-2), 7.87-7.91 (m, 2 H, A-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-5) ppm.

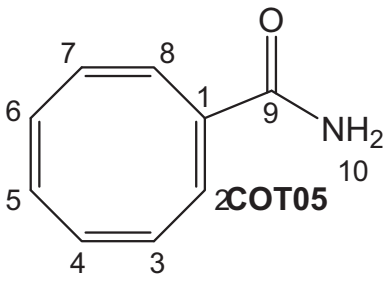
151-$NH_3^+ \cdot CF_3COO^-$:

δ = 2.84 (t, 2 H, $^3J_{12/11}$ = 6.6 Hz, H-12), 3.25 (dt, 2 H, $^3J_{11/12}$ = 6.2 Hz, $^3J_{11/10}$ = 6.0 Hz, H-11), 4.22 (s, 1 H, H-7), 4.33 (d, $^3J_{87}$= 6.8 Hz, H-8), 6.28 (s, 1 H, H-10), 7.30-7.38 (m, 2 H, D-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-3), 7.33-7.44 (m, 2 H, C-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-4), 7.50 (t, 3 H, H-13), 7.82-7.86 (m, 2 H, B-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-2), 7.87-7.91 (m, 2 H, A-Teil eines $[ABCD]_2$-Systems, H-5) ppm.

Versuch 93: Cycloocta-1,3,5,7-tetraencarboxamid (COT05)[117]#

Zu 6 ml 25%iger Ammoniaklösung werden 190 mg (1.1 mmol) Cycloocta-1,3,5,7-tetraencarbonsäurechlorid (**COT04**) in 1.5 ml Tetrachlorkohlenstoff mittels einer Spritze über ein Septum langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 3 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wird dreimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt.



C_9H_9NO (M = 147.17 g/mol)

Ausbeute: 165 mg (1.1 mmol, 98 %) **COT05**

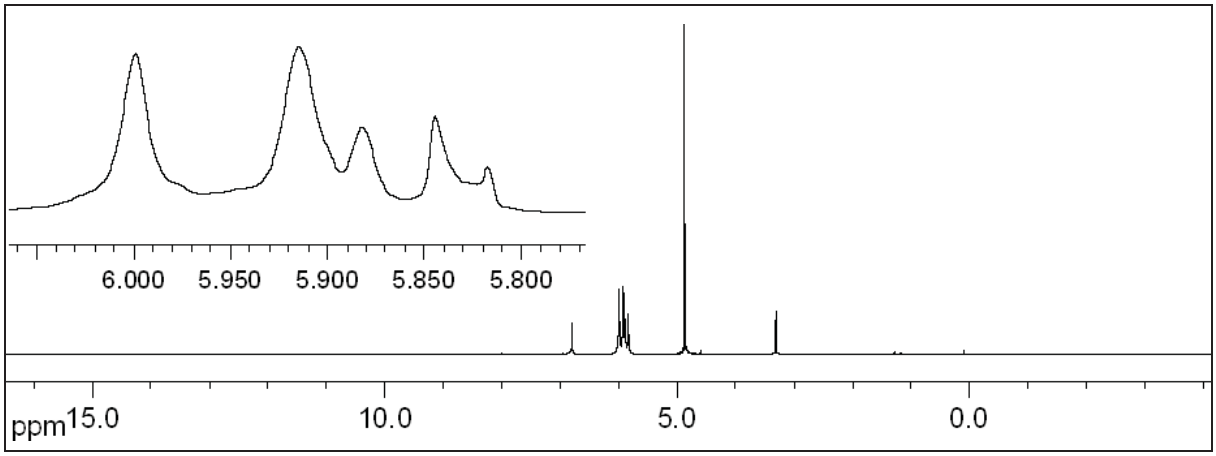


Abbildung 6.328: ^{1}H-NMR (500 MHz, MeOH-d_4), **COT05**.

^{1}H-NMR (500 MHz, MeOH-d_4):

δ = 6.80 (s, 1 H, H-2), 5.79-6.05 (m, 6 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 und H-8) ppm.
Die beobachteten Spektren sind ungewöhnlich breit und umstrukturiert. Dies kann auf koformationelle Bewegungen auf der Zeitskala des NMRs erklärt werden.

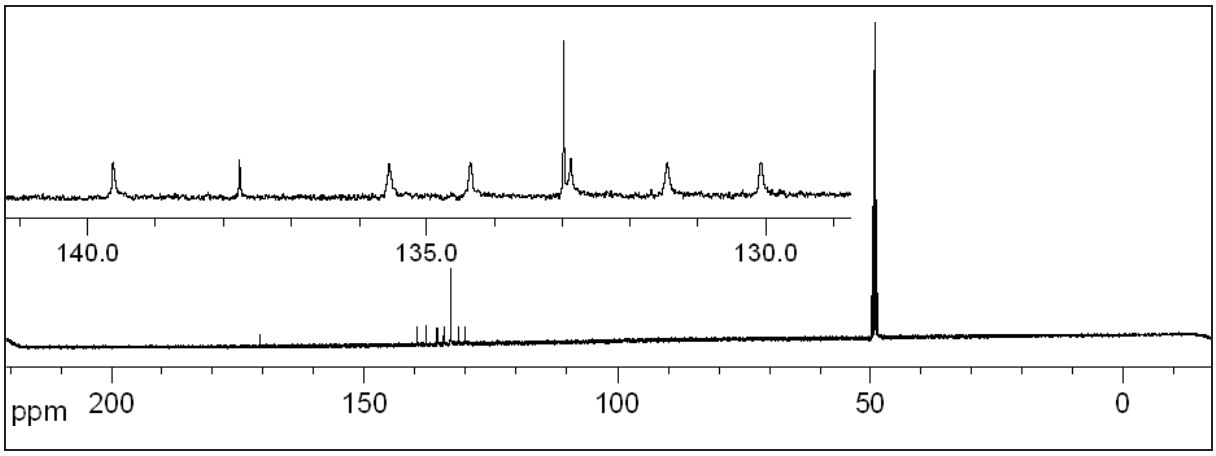
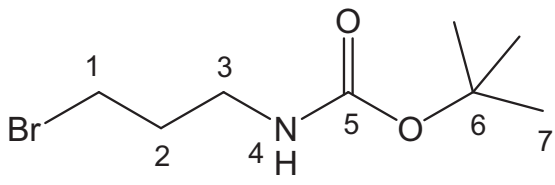


Abbildung 6.329: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, MeOH-d_4), **COT05**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, MeOH-d_4):
δ = 170.9 (s, C-9), 139.6 (bs, C-2), 137.8 (bs, C-1), 135.5 (bs, C-7), 134.4 (bs, C-6), 133.0 (s, C-5), 132.9 (s, C-4), 131.5 (bs, C-8), 130.1 (bs, C-3) ppm.

MS (70 eV):
m/z = 148 (M^++1, 9 %), 147 (M^+, 17 %), 131 (M-NH_2, 4 %), 103 (C_8H_7, 70 %), 77 (C_6H_5, 100).

Versuch 94: *tert*-Butyl-*N*-(3-brompropyl)carbamat (157)[118]#



157

10.1 g (46.1 mmol) 3-Brompropylamin·Hydrobromid (**156**) werden mit 100 ml 10%ige Natronlauge versetzt und 15 min gerührt. Die Lösung wird zweimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck auf 50 ml eingeengt.
Diese Lösung wird langsam zu 10.2 g (46.7 mmol) Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) getropft und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wird nacheinander mit je 30 ml destilliertem Wasser, 4%iger Citratlösung, gesättigter Natriumhydro-

gencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt enthält 25 % Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) und wurde nicht weiter aufgereinigt.

$C_8H_{16}BrNO_2$ (M = 238.12 g/mol)

Ausbeute: 9.88 g (41.5 mmol, max 90 %) **157** **Lit**: 95 % [120]

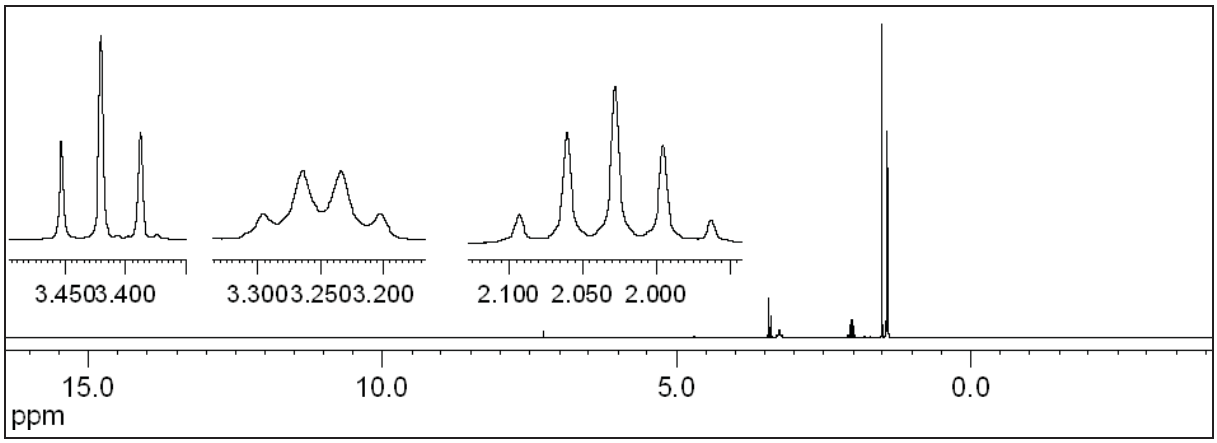


Abbildung 6.330: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **157**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[119]*

δ = 4.70 (bs, 1 H, H-4), 3.42 (t, 2 H, $^3J_{12}$ = 6.5 Hz, H1), 3.25 (dt, 2 H, $^3J_{32}$ = 6.3 Hz, $^3J_{34}$ = 6.2 Hz, H-3), 2.03 (tt, 2 H, $^3J_{21}$ = 6.5 Hz, $^3J_{23}$ = 6.5 Hz, H-2), 1.42 (s, 9 H, H-7) ppm.

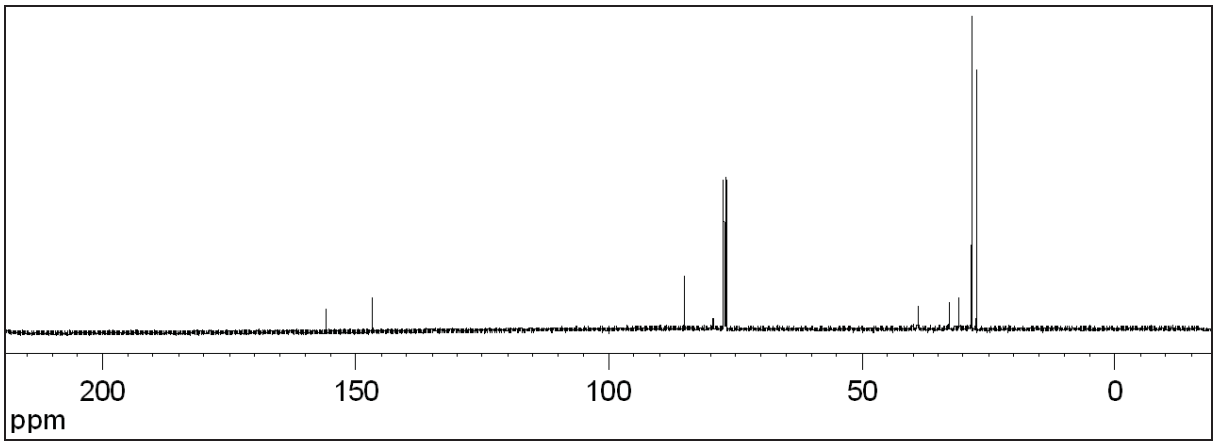
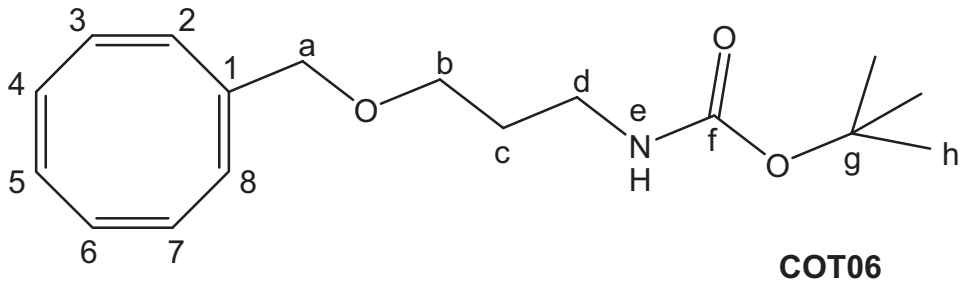


Abbildung 6.331: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **157**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[119]*

δ = 155.9 (s, C-5), 79.3 (bs, C-6), 38.9 (s, C-3), 32.6 (s, C-2), 30.8 (s, C-1), 28.3 (s, C-7) ppm.

Versuch 95: *tert*-Butyl-*N*-{3-[(1,3,5,7)-cycloocta-1,3,5,7-tetraenyl-methoxy]propyl}carbamat (COT06)[247]#



COT06

Zu 510 mg (3.80 mmol) Cycloocta-1,3,5,7-tetraenylmethanol (**COT03**) in 10 ml abs. Tetrahydrofuran werden portionsweise 222 mg (5.55 mmol) einer 60%igen Natriumhydridsuspension in Mineralöl gegeben. 905 mg (3.80 mmol) tert-Butyl-3-brompropylcarbamat (**157**) in 15 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 2 h zum Rückfluss erhitzt.

Die abgekühlte Reaktionsmischung wird über Kieselgel 60 mit Diethylether filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 aufgereingt. Als Laufmittel dient eine Ethylacetat/Hexan-Mischung im Verhältnis 4:1. Man erhält eine Edukt/Produkt-Mischung aus dem Edukt **COT03** und dem gewünschten Produkt **COT06** im Verhältnis 3:1. Weitere Reinigung führt zur Zersetzung des Produkts.

$C_{17}H_{25}NO_3$ (M = 291.39 g/mol)

Ausbeute: 47 mg davon ca. 12 mg **COT06** (41 µmol, 1 %)

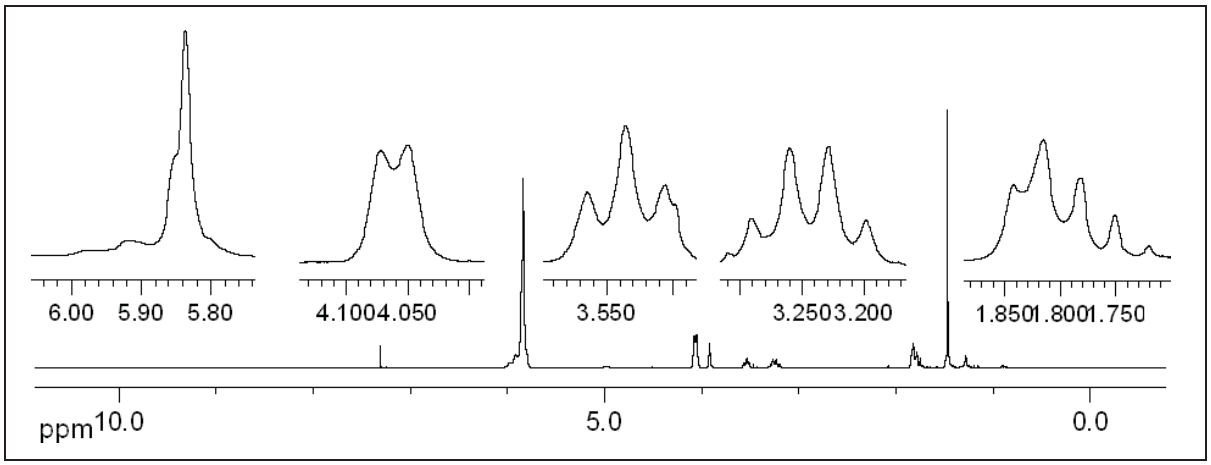


Abbildung 6.332: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **COT06**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):

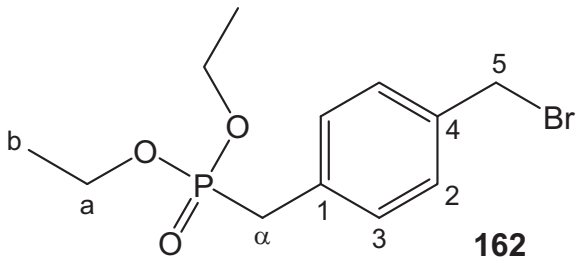
tert-Butyl-3-[(1,3,5,7)-cycloocta-1,3,5,7-tetraenylmethoxy]propylcarbamat (**COT06**):

δ = 5.74 – 6.02 (m, 7 H, H2 - H8), 3.92 (s, 2 H, H-9), 3.54 (t, 2 H, $^{3}J_{ab}$ = 5.9 Hz, H-a), 3.23 (dt, 2 H, $^{3}J_{cb}$ = 6.2 Hz, $^{3}J_{cd}$ = 6.2 Hz, H-c), 1.70 – 1.88 (m, 2 H, H-b) ppm.

Cycloocta-1,3,5,7-tetraenylmethanol (**COT03**):

δ = 5.74 – 6.02 (m, 7 H, H2 - H8), 4.06 (d, 2 H, $^{3}J_{9\text{-}OH}$ = 4.4 Hz, H-9') ppm.

Versuch 96: Diethyl-[(4-brommethyl)benzyl]phosphonat (162)[121]#



162

16 g (94 mmol) Triethylphosphit (**108**) und 25 g (95 mmol) 1,4-Di(brommethyl)benzol (**163**) werden 3 h zum Rückfluss erhitzt. Dabei wird eine kurze Kühlbrücke mit gekühlter Vorlage auf den Rückflusskühler gesetzt, um entstehendes Ethylbromid (**109**) anzufangen. Nach Ablauf der Reaktion werden alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wird in 100 ml Methanol gerührt und zurückbleibender Feststoff abfiltriert. Die Lösung wird unter vermindertem Druck eingeengt und dann säulenchromatographisch an Kieselgel 60 gereinigt. Als Laufmittel wird eine Mischung von Ethylacetat und Hexan im Verhältnis 3:1 verwendet.

$C_{12}H_{18}O_3BrP$ (M = 321.15 g/mol)

Ausbeute: 8.6 g (27 mmol, 29 %) **162** **Lit**: 48.5 %[249], 80 %[121]

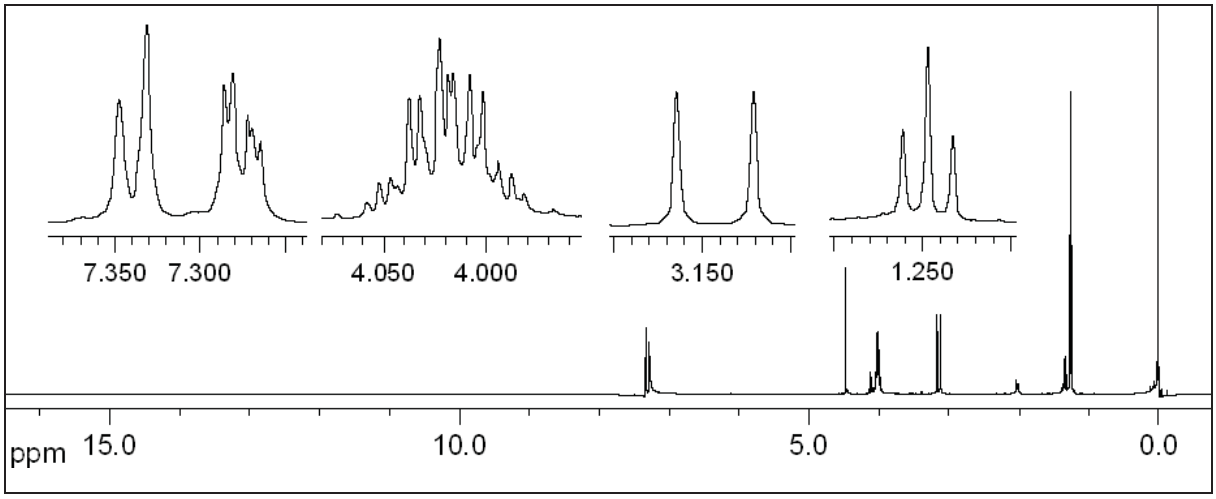


Abbildung 6.333: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **162**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[121, 250]*

δ = 7.32 – 7.36 (m, 2 H, H-2), 7.25 – 7.26 (M, 2 H, H-3), 4.48 (s, 2 H, H-5), 3.97 – 4.07 (m, 4 H, H-a), 3.14 (d, 2 H, $^{3}J_{\alpha P}$ = 21.8 Hz, H- α), 1.25 (t, 6 H, $^{3}J_{ba}$ = 7.1 Hz, H-b) ppm.

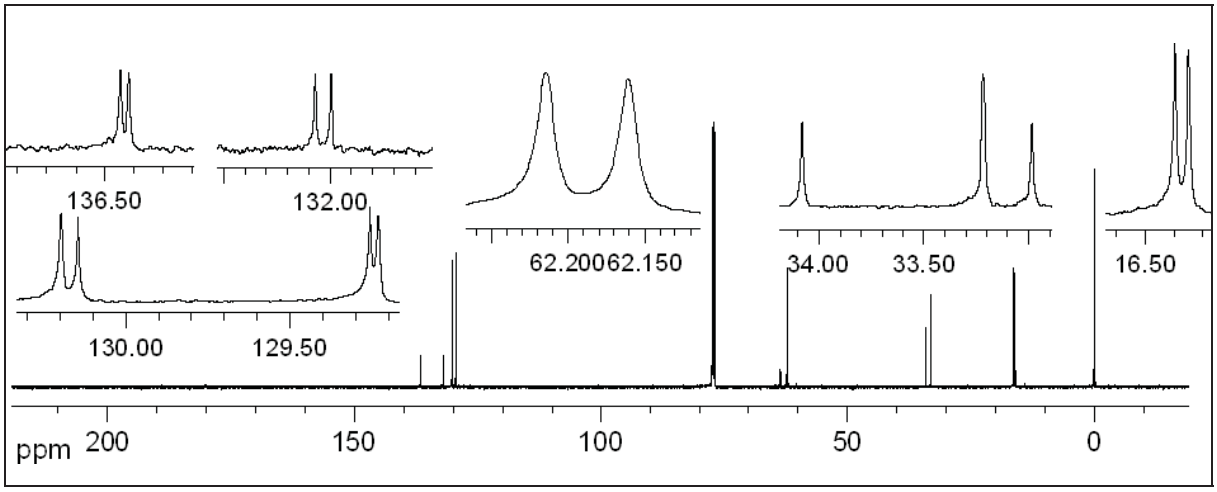


Abbildung 6.334: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **162**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[250]*

δ = 136.4 (d, $^{5}J_{4P}$ = 3.8 Hz, C-4), 132.0 (d, $^{2}J_{1P}$ = 9.2 Hz, C-1), 130.2 (d, $^{4}J_{3P}$ = 6.6 Hz, C-3), 129.2 (d, $^{3}J_{2P}$ = 3.1 Hz, C-2), 62.2 (d, $^{2}J_{aP}$ = 6.8 Hz, C-a), 33.5 (d, $^{1}J_{\alpha P}$ = 138.2 Hz, C-α), 33.2 (s, C-5), 16.4 (d, $^{3}J_{bP}$ = 6.0 Hz, C-b) ppm.

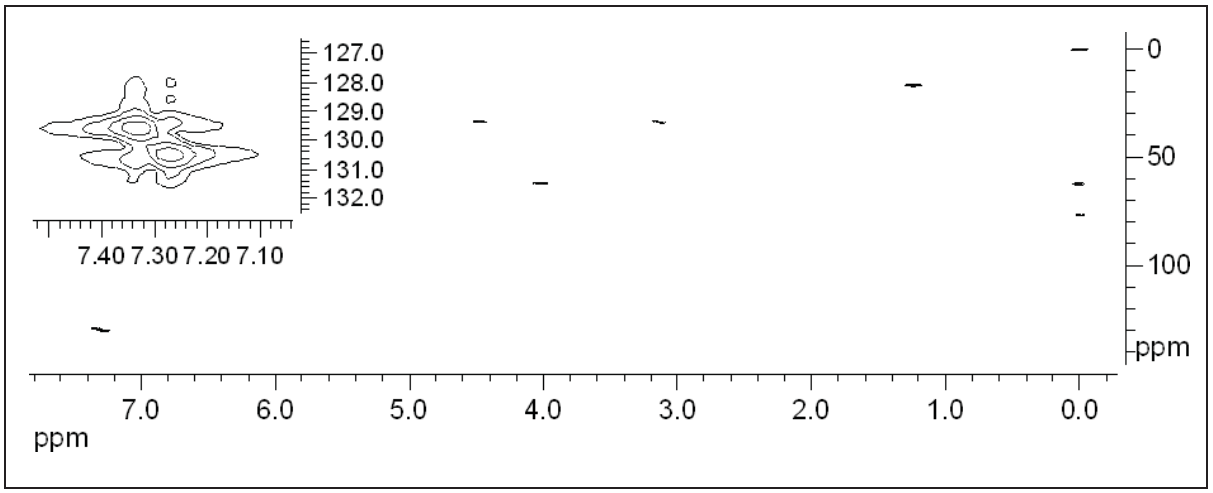


Abbildung 6.335: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **162**.

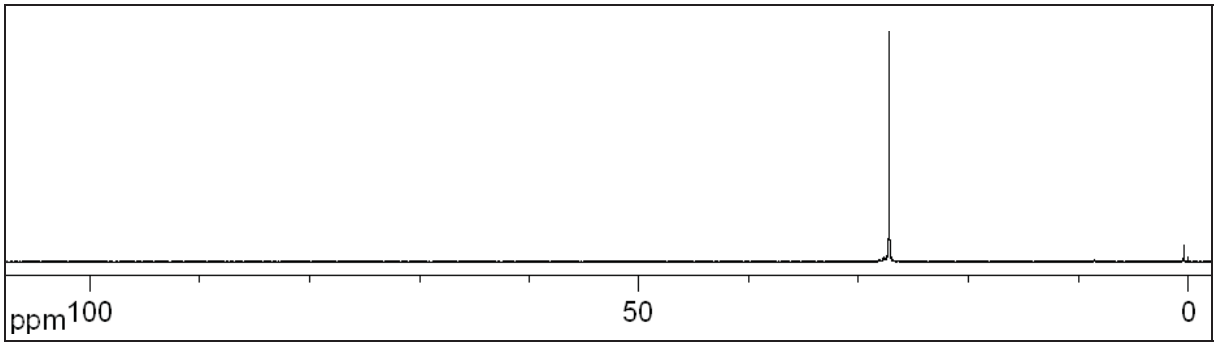


Abbildung 6.336: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$), **162**.

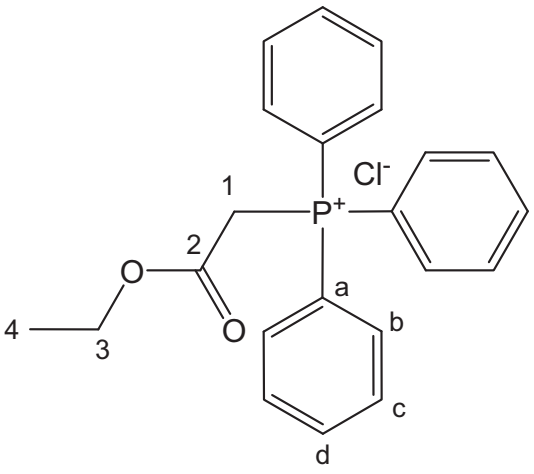
^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$):[251]*

δ = 27.2 (s) ppm.

Versuch 97: (2-Ethoxy-2-oxoethyl)triphenylphosphonium-chlorid (169)

Zu 131 g (500 mmol) Triphenylphosphin (**98**) in 750 ml Diethylether werden 75.0 ml (532 mmol) Chloresigsäureethylacetat (**170**) getropft. Die Lösung wird 90 min zum Rückfluss erhitzt.

Die abgekühlte Lösung wird 3 d stehen gelassen. Ausfallender Feststoff **169** wird abfiltriert.



169

$C_{22}H_{22}ClO_2P$ (M = 384.84 g/mol)

Ausbeute: 61.5 g (160 mmol, 32 %) **169**

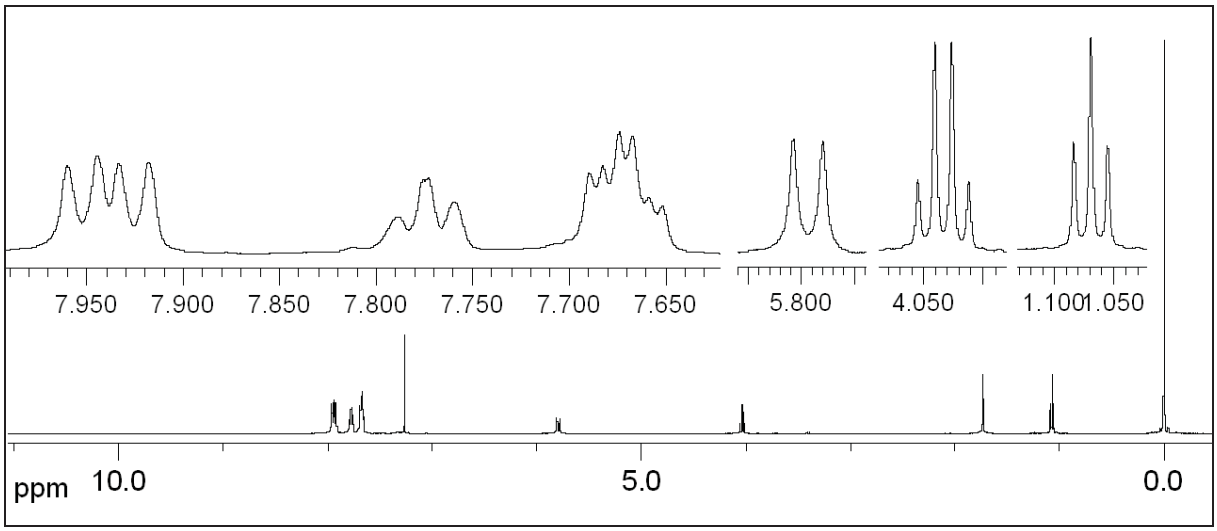
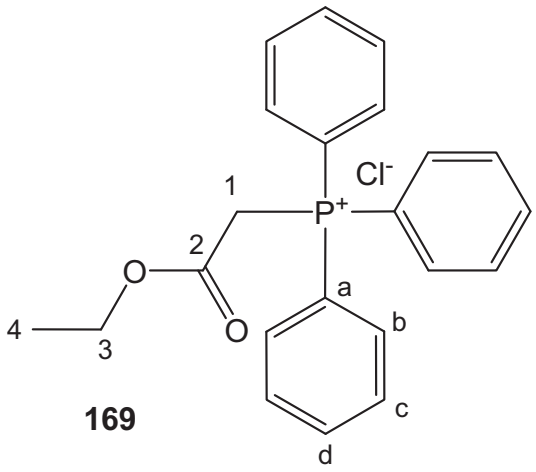


Abbildung 6.337: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **169**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [125]

δ = 7.91 – 7.97 (m, 6 H, C-Teil von $[AC]_2B$, H-b), 7.74 – 7.80 (m, 3 H, B-Teil von $[AC]_2B$, H-d), 7.64 – 7.70 (m, 6 H, A-Teil von $[AC]_2B$, H-c), 5.79 (d, 2 H, $^2J_{1P}$ = 13.8 Hz, H-1), 4.03 (q, 2 H, $^3J_{34}$ = 7.1 Hz, H-3), 1.07 (t, 3 H, $^3J_{43}$ = 7.1 Hz, H-4) ppm.

Versuch 98: (2-Ethoxy-2-oxoethyl)triphenylphosphonium-chlorid (169)



169

Zu 131 g (500 mmol) Triphenylphosphin (**98**) in 750 ml Ethylacetat werden 75.0 ml (532 mmol) Chloresigsäureethylacetat (**170**) getropft. Die Lösung wird 90 min zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck auf die Hälfte eingeengt. Die Lösung wird 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert.

$C_{22}H_{22}ClO_2P$ (M = 384.84 g/mol)

Ausbeute: 103 g (269 mmol, 54 %) **169**

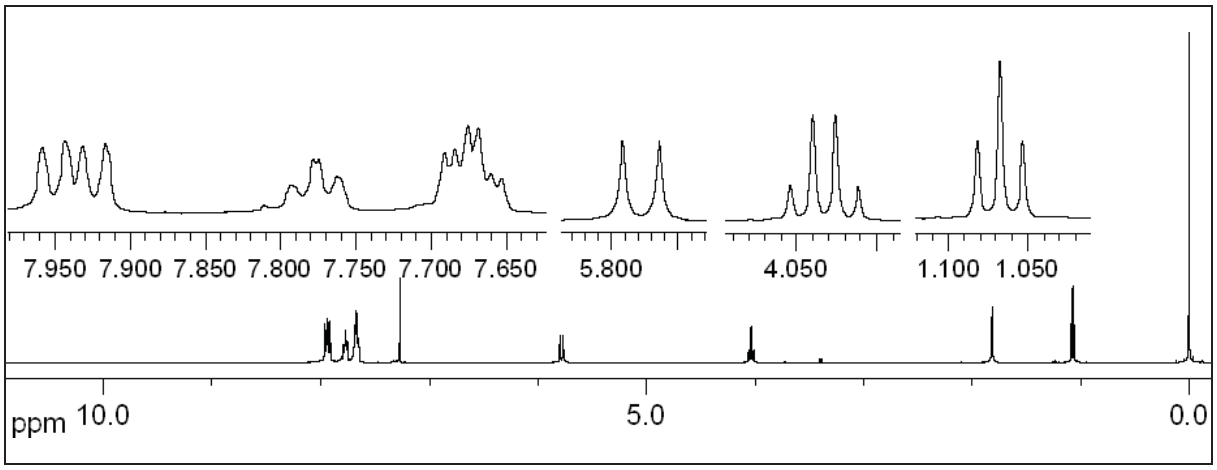
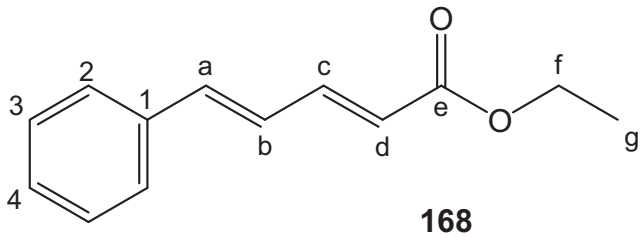


Abbildung 6.338: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **169**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [125]*

δ = 7.90 – 8.00 (m, 6 H, C-Teil von $[AC]_2B$, H-b), 7.75 – 7.81 (m, 3 H, B-Teil von $[AC]_2B$, H-d), 7.64 – 7.71 (m, 6 H, A-Teil von $[AC]_2B$, H-c), 5.78 (d, 2 H, $^2J_{1P}$ = 13.9 Hz, H-1), 4.03 (q, 2 H, $^3J_{34}$ = 7.1 Hz, H-3), 1.07 (t, 3 H, $^3J_{43}$ = 7.1 Hz, H-4) ppm.

Versuch 99: *all-trans*-Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (168)



168

Zu einer Suspension aus 502 mg (12.6 mmol) 60%iges Natriumhydrid in Tetrahydrofuran, p. a. werden portionsweise 5.00 g (11.6 mmol) (2-Ethoxy-2-oxoethyl)triphenyphosphonium-bromid (**172**) zugegeben. Die Reaktionslösung wird 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung von 1.52 g (11.5 mmol) Zimtaldehyd (**164**) in 20 ml Tetrahydrofuran, p. a. werden zugetropft.

Nach 12 h Rühren bei Raumtemperatur ist die Reaktionslösung noch trübe. Eine Dünnschichtchromatogramm mit Hexan/Ethylacetat (95:5) als Laufmittel zeigt, dass nur ein geringer Stoffumsatz stattgefunden hat. Es werden daher 30 ml Methylenchlorid, p. a. zugegeben und die Reaktionsmischung 7 h zum Rückfluss erhitzt.

Ausgefallenes Triphenylphosphoniumoxid (**239**) wird abfiltriert. Die Lösung wird unter vermindertem Druck auf ein Drittel eingeengt und mit 50 ml Diethylether versetzt. Die Lösung wird zweimal mit je 50 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.
Das Rohprodukt **168** wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Hexan/-Ethylacetat (95:5) als Laufmittel aufgereinigt.

$C_{13}H_{14}O_2$ (M = 202.25 g/mol)

Ausbeute: 1.57 g (7.76 mmol, 67 %) **168**

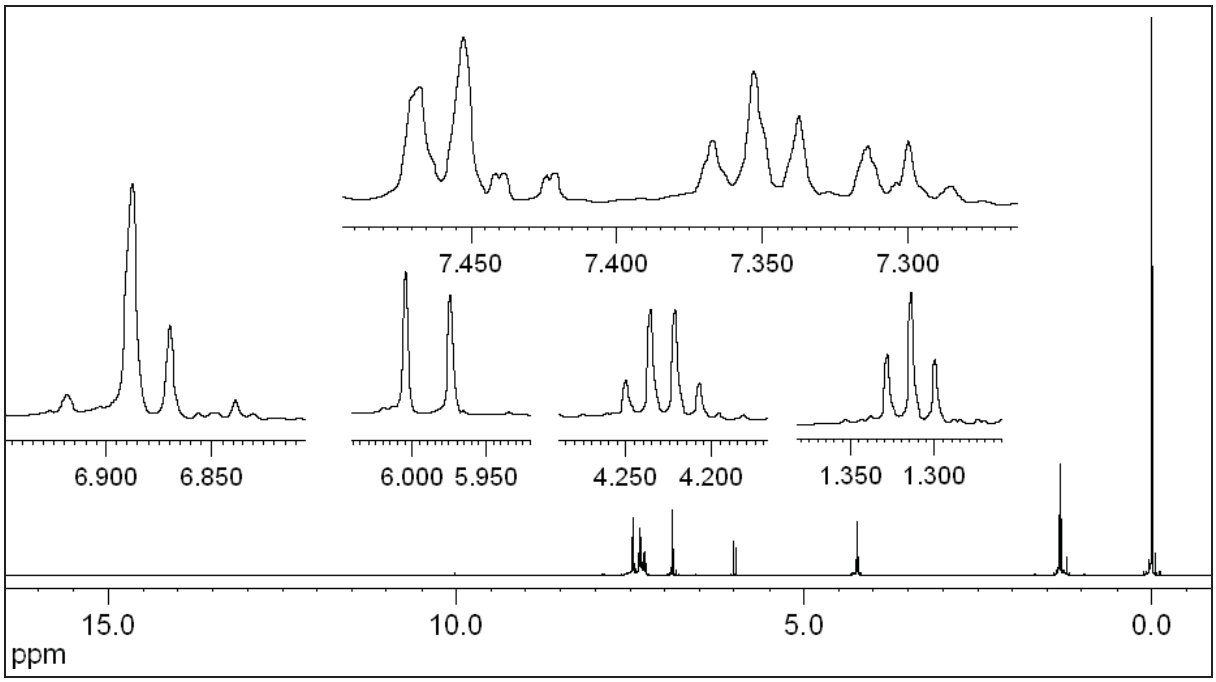


Abbildung 6.339: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **168**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[252, 253]*
δ = 7.45 (dd, 1 H, $^3J_{cd}$ = 15.4 Hz, $^3J_{cb}$ = 8.6 Hz, H-c), 7.44 – 7.48 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-2), 7.38 – 7.33 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-3), 7.33 – 7.28 (m, 1 H, A-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4), 6.90 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 15.4 Hz, H-a), 6.86 (dd, 1 H, $^3J_{ba}$ = 15.4 Hz, $^3J_{bc}$ = 8.8 Hz, H-b), 5.99 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 15.3 Hz, H-d), 4.23 (q, 2 H, $^3J_{fg}$ = 7.1 Hz, H-f), 1.31 (t, 3 H, $^3J_{gf}$ = 7.1 Hz, H-g) ppm.

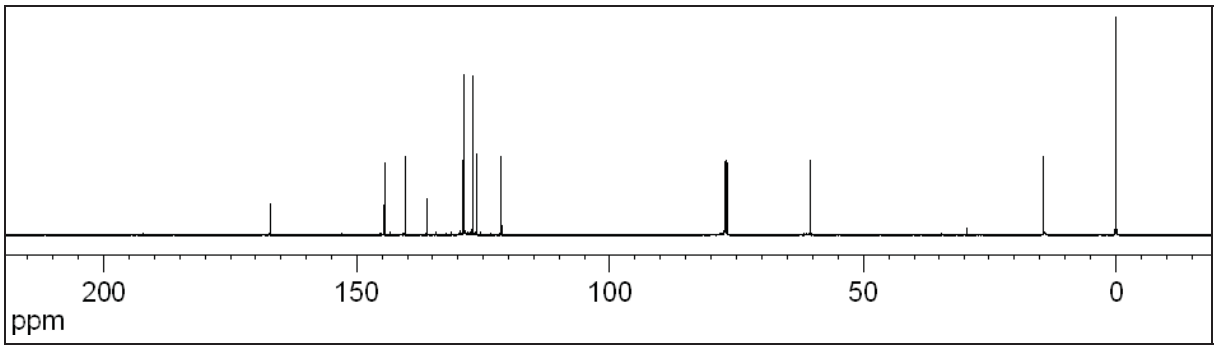


Abbildung 6.340: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **168**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[253]*

δ = 167.0 (s, C-e), 144.5 (s, C-c), 140.4 (s, C-a), 136.0 (s, C-1), 129.0 (s, C-4), 128.8 (s, C-3), 127.2 (s, C-2), 126.2 (s, C-b), 121.3 (s, C-d), 60.3 (s, C-f), 14.3 (s, C-g) ppm.

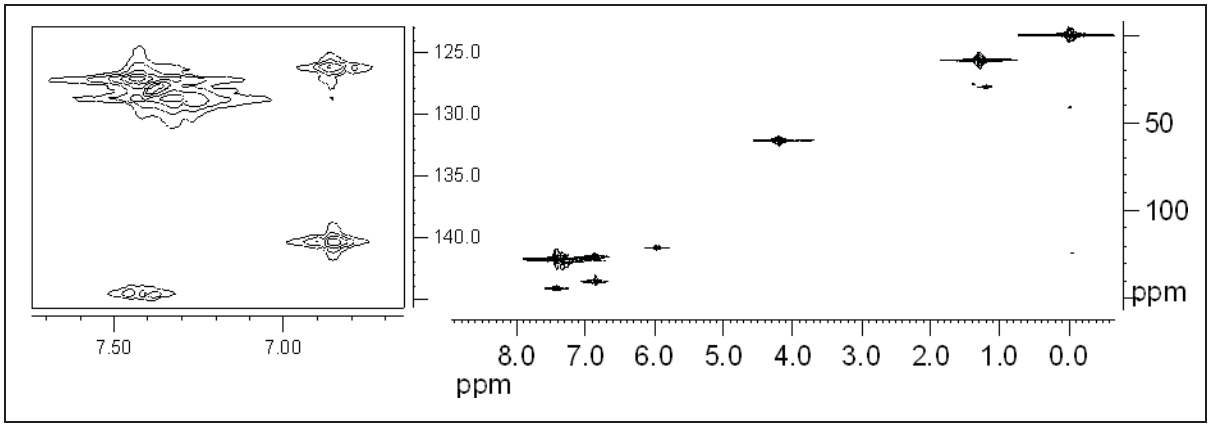


Abbildung 6.341: HMBC (500 MHz, $CDCl_3$), **168**.

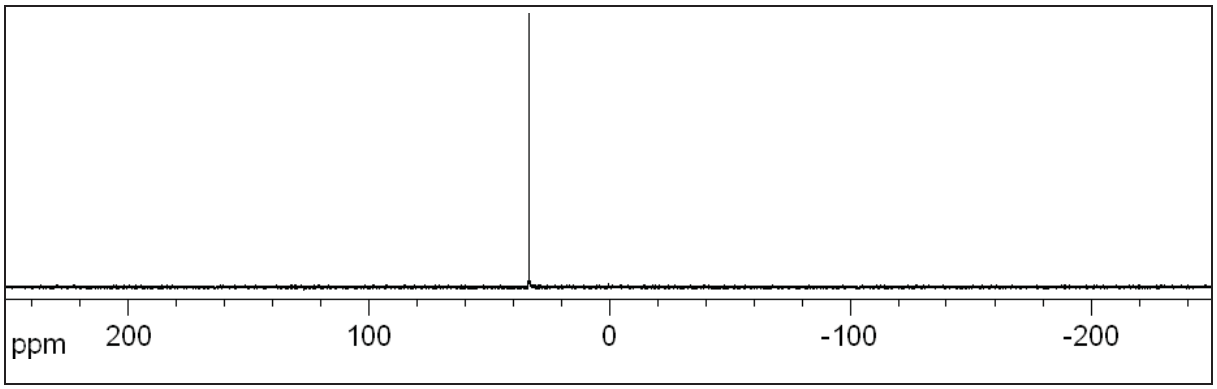


Abbildung 6.342: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$), **168**.

^{31}P-{^{1}H}-NMR (81 MHz, $CDCl_3$):[253, 254]*

δ = 33.56 (s) ppm.

GC:

m/z = 203 (M^++1, 3 %), 202 (M^+, 21 %), 157 (M-OEt, 20 %), 129 (M-COOEt, 100 %), 115 (7 %), 102 (6 %), 91 (3 %), 77 (8 %), 64 (7 %), 51 (7 %).

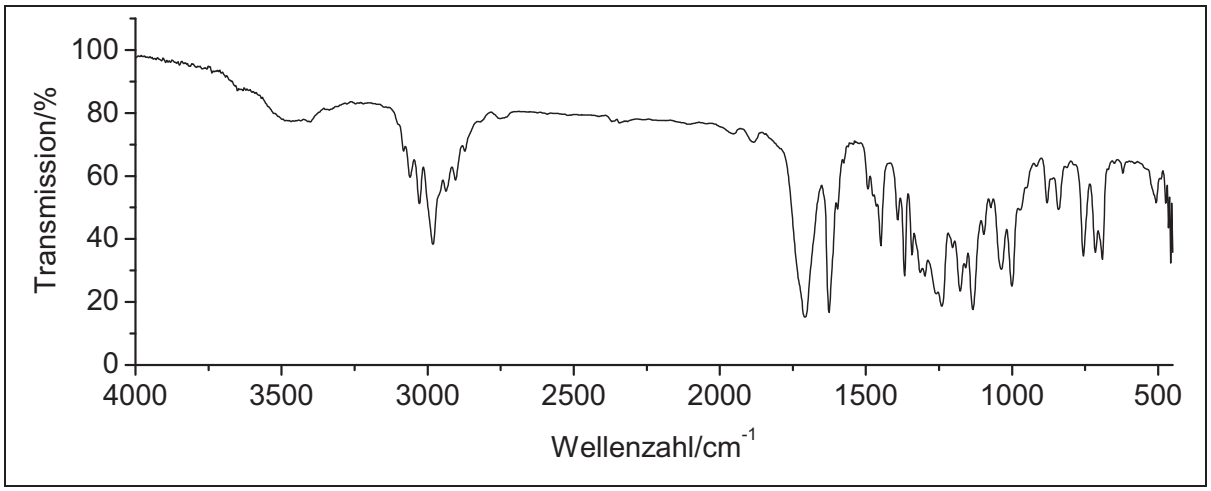
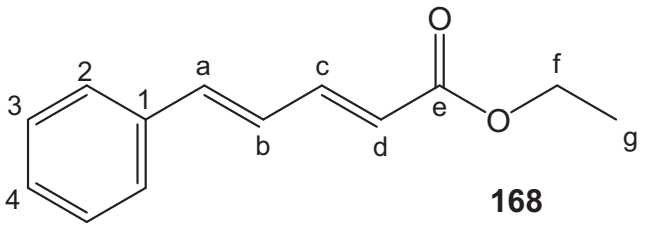


Abbildung 6.343: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **168**.

IR (KBr):[254]*

$\tilde{\nu}$ = 2982 (Aryl-H Valenzschwingung), 1709 (C=O Valenzschwingung), 1626 und 1449 (C=C Valenzschwingung), 1240 und 1178 (Ester δ_{asym}), 756 und 691 (*mono*-substituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 100: Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (168) (Mischung von *cis/trans*-Isomeren) [126]#



168

17.2 g (40.1 mmol) (2-Ethoxy-2-oxo-ethyl)triphenylphosphonium-bromid (**172**), 5.30 g (40.1 mmol) Zimtaldehyd (**164**), 150 ml 2 M Natriumcarbonatlösung und 150 ml eines Hexan/-Diethylether-Lösungsmittelgemischs im Verhältnis 95:5 werden in einem Kolben mittels Ultraschallbad zur Reaktion gebracht. Nach 150 min werden 50 ml Ethylacetat zugegeben und weitere 70 min beschallt.

Die Reaktionsmischung wird 12 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Ausgefallener Feststoff wird abfiltriert. Die organische Phase wird abgetrennt und das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **168** wird in Ethylacetat aufgenommen. Überschüssiger Zimtaldehyd (**164**) wird durch Rühren mit einer gesättigten wässrigen Natriumbisulfitlösung entfernt. Nach 12 h bei Raumtemperatur wird die organische Phase abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (**168**) als *cis/trans*-Isomerengemisch in Form eines gelben Öls.

$C_{13}H_{14}O_2$ (M = 202.25 g/mol)

Ausbeute: 6.42 g (31.7 mmol, 79 %) **168**

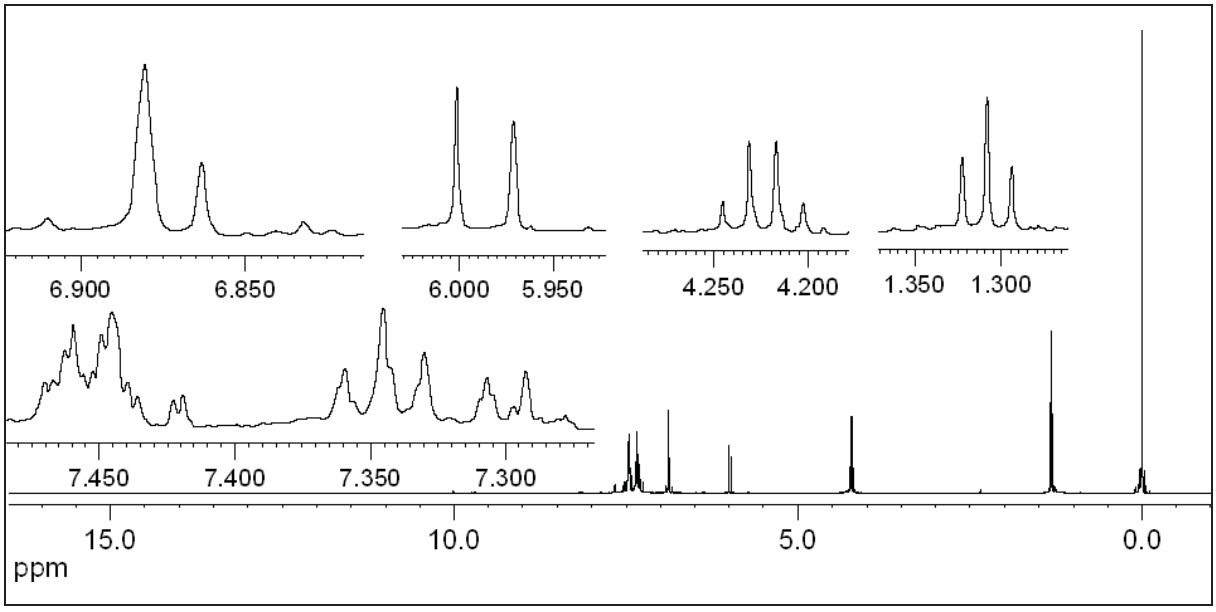


Abbildung 6.344: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **168**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[126, 252, 253]*

δ = 7.44 – 7.47 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-2), 7.44 (ddd, 1 H, $^3J_{cd}$ = 15.1 Hz, $^3J_{cb}$ = 8.6 Hz, $^3J_{ca}$ = 1.7 Hz, H-c), 7.37 – 7.32 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-3), 7.32 – 7.27 (m, 1 H, A-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4), 6.90 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 14.9 Hz, H-a), 6.86 (dd, 1 H, $^3J_{ba}$ = 15.6 Hz, $^3J_{bc}$ = 8.6 Hz, H-b), 5.99 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 15.3 Hz, H-d), 4.22 (q, 2 H, $^3J_{fg}$ = 7.1 Hz, H-f), 1.31 (t, 3 H, $^3J_{gf}$ = 7.1 Hz, H-g) ppm.

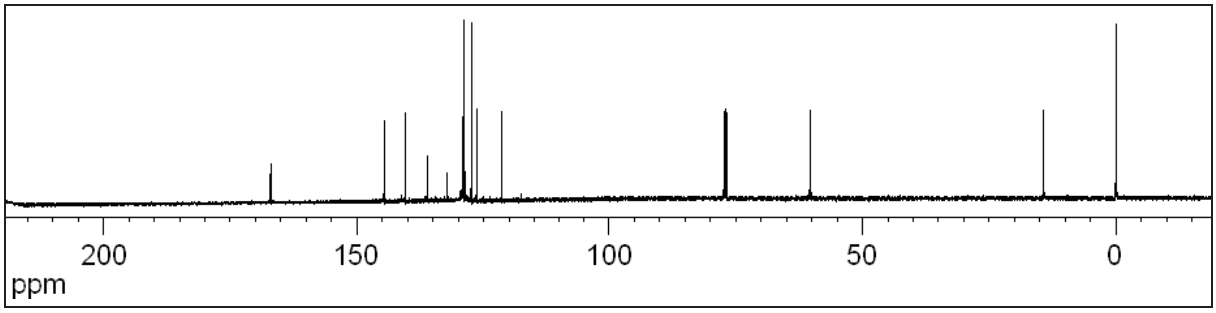


Abbildung 6.345: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **168**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[253]*

δ = 167.1 (s, C-e), 144.5 (s, C-c), 140.4 (s, C-a), 136.0 (s, C-1), 129.0 (s, C-4), 128.8 (s, C-3), 127.2 (s, C-2), 126.2 (s, C-b), 121.3 (s, C-d), 60.3 (s, C-f), 14.3 (s, C-g) ppm.

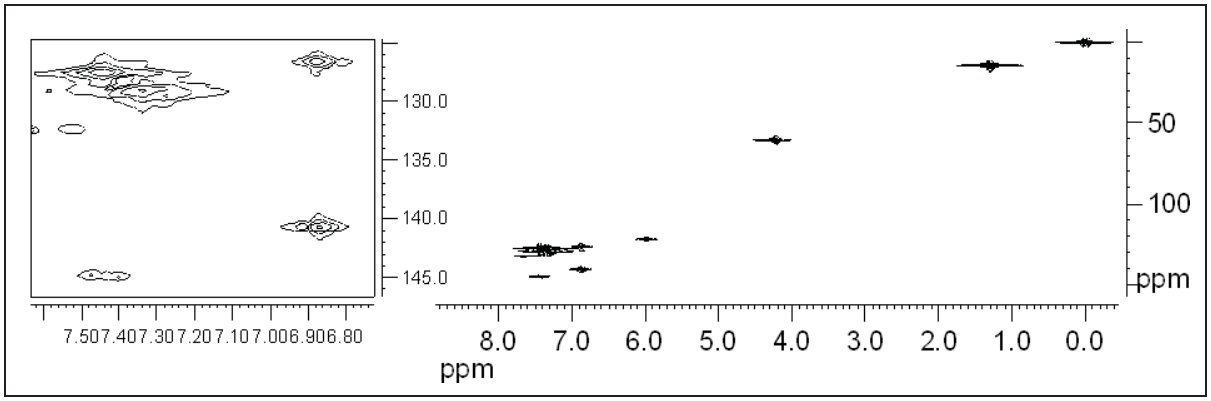


Abbildung 6.346: HMQC (500 MHz, $CDCl_3$), **168**.

GCMS:

m/z = 202 (M^+, 16 %), 157 (M-OEt, 17 %), 129 (M-COOEt, 100 %), 115 (6 %), 102 (6 %), 77 (8 %), 64 (8 %), 51 (7 %).

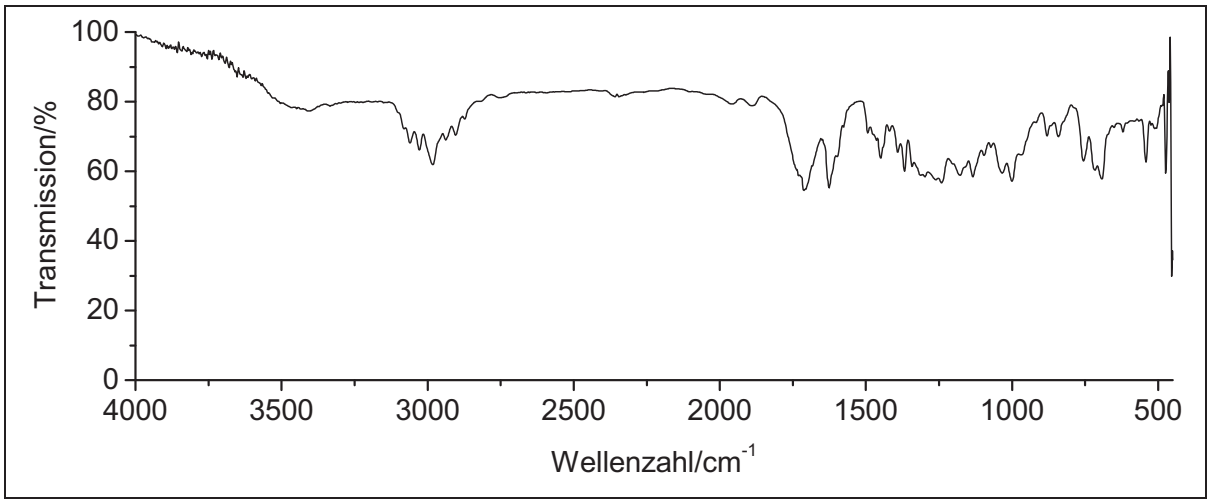
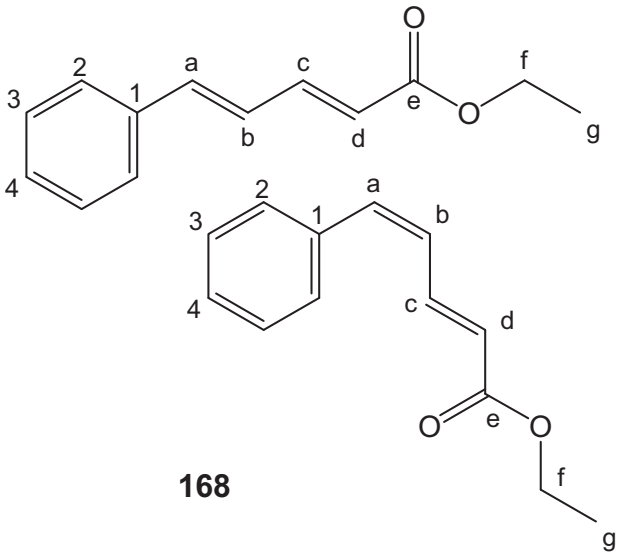


Abbildung 6.347: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **168**.

IR (KBr):[253, 254]*

$\tilde{\nu}$ = 2983 (Aryl-H Valenzschwingung), 1713 (C=O Valenzschwingung), 1626 und 1449 (C=C Valenzschwingung), 1241 und 1178 (Ester δ_{asym}), 756 und 692 (*mono*-substituierter Aromat) cm^{-1}.

Versuch 101: Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (168) (Mischung von *cis/trans*-Isomeren)[126]#



168

8.58 g (20.0 mmol) (2-Ethoxy-2-oxo-ethyl)triphenylphosphonium-bromid (**172**), 2.64 g (19.7 mmol) Zimtaldehyd (**164**), 80 ml 3 M Natriumcarbonatlösung und je 100 ml eines Hexan/Diethylether-Lösungsmittelgemischs im Verhältnis 1:1 werden in einem Kolben mittels Ultraschallbad zur Reaktion gebracht. Nach 6 h wird die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wird mit 100 ml gesättigter Natriumbisulfitlösung versetzt und 12 h gerührt. Ausgefallenes Bisulfit-Aldehyd-Addukt wird abfiltriert und die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet.

Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **168** wird säulenchromatographisch an Kieselgel 60 mit Hexan/Diethylether 95:5 als Laufmittel aufgereinigt. Man erhält Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (**168**) als *cis/trans*-Isomerengemisch in Form eines gelben Öls.

$C_{13}H_{14}O_2$ (M = 202.25 g/mol)

Ausbeute: 2.30 g (11.4 mmol, 58 %) **168**

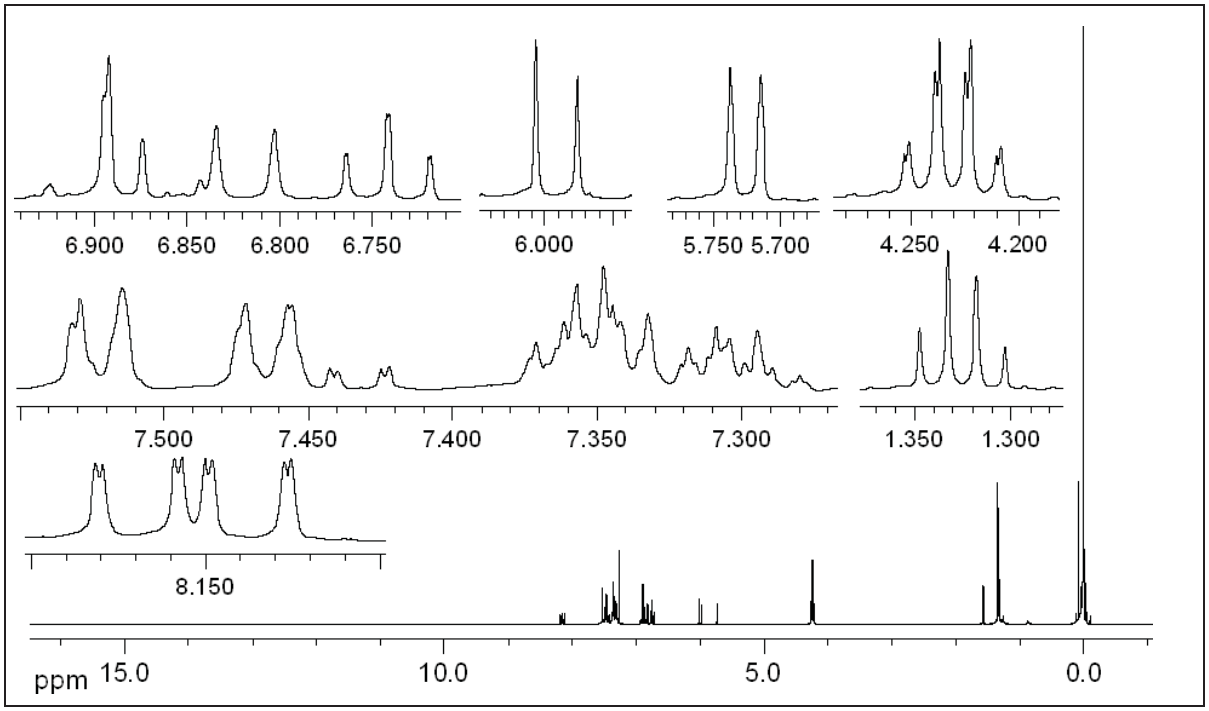


Abbildung 6.348: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **186**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[126, 255]*

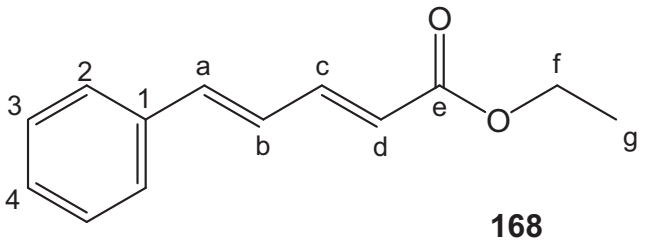
All-trans-Isomer **168**:

δ = 7.45 – 7.48 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-2), 7.45 (ddd, 1 H, $^3J_{cd}$ = 15.2 Hz, $^3J_{cb}$ = 8.6 Hz, $^4J_{ca}$ = 1.4 Hz, H-c), 7.32 – 7.37 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-3), 7.27 – 7.32 (m, 1 H, A-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4), 6.91 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 15.9 Hz, H-a), 6.87 (dd, 1 H, $^3J_{ba}$ = 15.7 Hz, $^3J_{bc}$ = 9.1 Hz, H-b), 5.99 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 15.3 Hz, H-d), 4.23 (q, 2 H, $^3J_{fg}$ = 7.1 Hz, H-f), 1.32 (t, 3 H, $^3J_{gf}$ = 7.4 Hz, H-g) ppm.

2E,4Z-Isomer **168**:

δ = 8.15 (ddd, 1 H, $^3J_{cd}$ = 15.7 Hz, $^3J_{cb}$ = 11.4 Hz, $^4J_{ca}$ = 1.0 Hz, H-c), 7.50 – 7.54 (m, 2 H, C-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-2), 7.34 – 7.38 (m, 2 H, B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-3), 7.30 – 7.33 (m, 1 H, A-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4), 6.82 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 15.7 Hz, H-d), 6.74 (ddd, 1 H, $^3J_{ba}$ = 11.3 Hz, $^3J_{bc}$ = 11.3 Hz, $^3J_{bd}$ = 0.6 Hz, H-b), 5.72 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 11.2 Hz, H-a), 4.23 (q, 2 H, $^3J_{fg}$ = 7.1 Hz, H-f), 1.33 (t, 3 H, $^3J_{gf}$ = 7.4 Hz, H-g) ppm.

Versuch 102: Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (168) (Mischung von *cis/trans*-Isomeren)[126]#



168

8.57 g (20.0 mmol) (2-Ethoxy-2-oxo-ethyl)triphenylphosphonium-bromid (**172**), 2.63 g (19.6 mmol) Zimtaldehyd (**164**), 80 ml 3 M Natriumcarbonatlösung und je 100 ml eines Hexan/Ethylacetat-Lösungsmittelgemischs im Verhältnis 1:1 werden in einem Kolben mittels Ultraschallbad zur Reaktion gebracht. Nach 100 min wird die wässrige Phase abgetrennt.

Die organische Phase wird mit 100 ml gesättigter Natriumbisulfitlösung versetzt und 12 h gerührt. Ausgefallenes Bisulfit-Aldehyd-Addukt wird abfiltriert und die wässrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet.

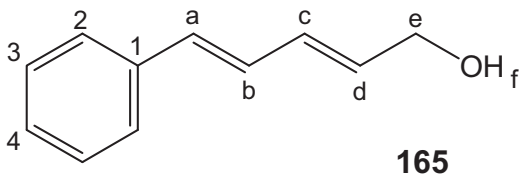
Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird mit 75 ml Diethylether versetzt. Unlösliches Triphenylphosphinoxid wird abfiltrert. Die Lösung wird über Kieselgel 60 mit Diethylether filtriert. Man erhält Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (**168**) als *cis/trans*-Isomerengemisch in Form eines gelben Öls.

$C_{13}H_{14}O_2$ (M = 202.25 g/mol)

Ausbeute: 3.945 g (19.5 mmol, 99 %) **168**

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen aus Versuch 101 überein.

Versuch 103: 5-Phenylpenta-2,4-dien-1-ol (165)[256]#



165

100 ml einer 1 M Diisobutylaluminiumhydridlösung in Hexan werden auf – 5 °C abgekühlt. 975 mg (4.82 mmol) Ethyl-5-phenylpenta-2,4-dienoat (**168**) werden langsam zugetropft. Man lässt die Lösung unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmen.

Nach 12 h wird das Reaktionsgemisch auf viel Eis gegossen. Der dickflüssigen Mischung werden 2 Löffel L(+)-Weinsäure zugesetzt, um das komplexierte Aluminium aus dem Alkohol **165** zu verdrängen. Die Reaktionsmischung wird mit zweimal mit je 200 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält das Produkt **165** als Mischung von c*is-/trans*-Isomeren.

$C_{11}H_{12}O$ (M = 160.21 g/mol)

Ausbeute: 715 mg (4.46 mmol, 93 %) **165** **Lit**: 95 % [256]

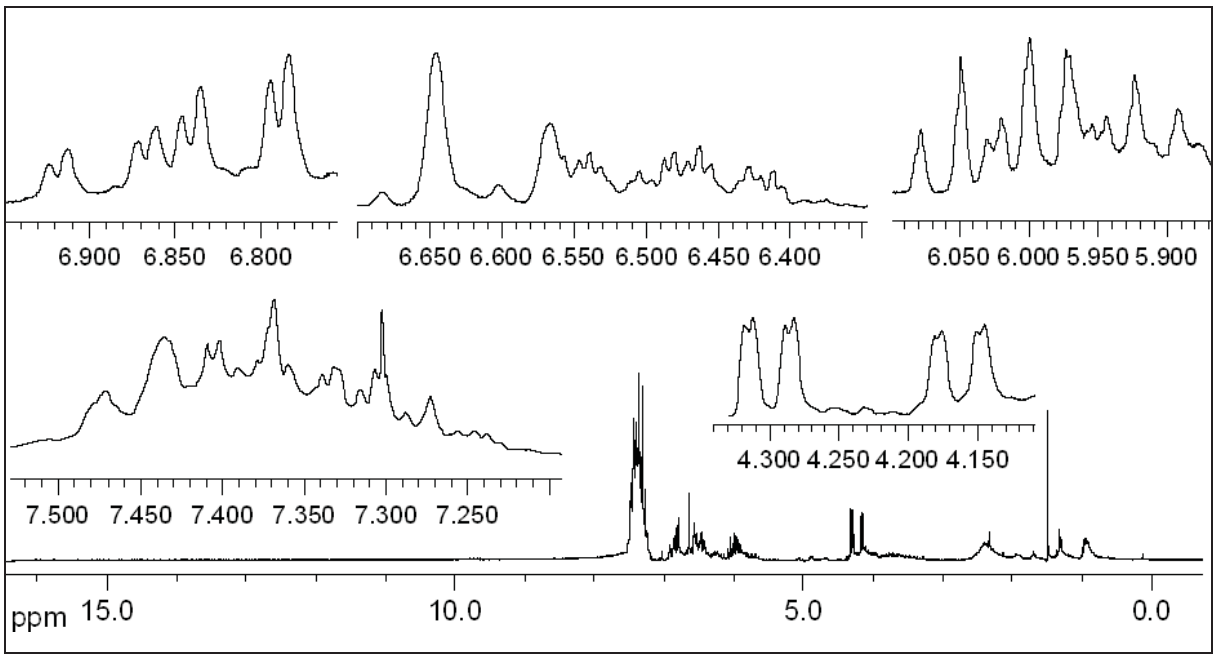


Abbildung 6.349: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **165**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[122, 256]*

δ = 7.00 – 7.40 (m, 5 H, H-2, H-3 und H-4), 6.85 (ddd, 1 H, $^3J_{ba}$ = 15.5 Hz, $^3J_{bc}$ = 10.5 Hz, $^4J_{bd}$ = 2.2 Hz, H-b), 6.61 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 15.8 Hz, H-a), 6.40 – 6.57 (m, 1 H, H-c), 5.99 (dt, 1 H, $^3J_{dc}$ = 16.6Hz, $^3J_{de}$ = 6.2 Hz H-d), 4.30 (dd, 2 H, $^3J_{ed}$ = 5.8 Hz, $^3J_{ec}$ = 1.3 Hz, H-e$^+$), 4.16 (dd, 2 H, $^3J_{ed}$ = 6.2 Hz, $^3J_{ec}$ = 1.1 Hz, H-e') ppm.

$^+$ und ' kennzeichnen unterschiedliche Isomere.

GCMS:

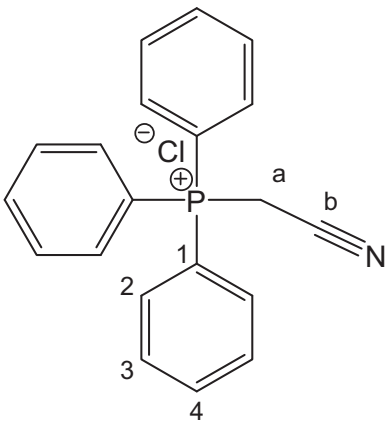
Isomer 1@T = 12.6 min

m/z = 159 (M^+-1, 7 %), 158 (68 %), 142 (4 %)129 (M^+-CH_2-OH, 100 %), 115 (39 %), 102 (14 %), 91 (8 %), 77 (24 %)

Isomer 2@T = 12.9 min

m/z = 160 (M^+, 7 %), 158 (15 %), 142 (23 %)129 (M^+-CH_2-OH, 81 %), 115 (50 %), 104 (100 %), 91 (67 %), 77 (29 %)

Versuch 104: (Cyanomethyl)triphenylphosphonium-chlorid (175)[257]#



175

In 500 ml Nitromethan werden 11.0 g (14.6 mmol) Chloracetonitril (**176**) und 40.1 g (15.3 mmol) Triphenylphosphin (**98**) gelöst und 6 h zum Rückfluss erhitzt.

Ausgefallener Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Produkt **175** wird unter vermindertem Druck getrocknet.

$C_{20}H_{17}ClNP$ (M = 337.78 g/mol)

Ausbeute: 32.9 g (97.4 mmol, 67 %)

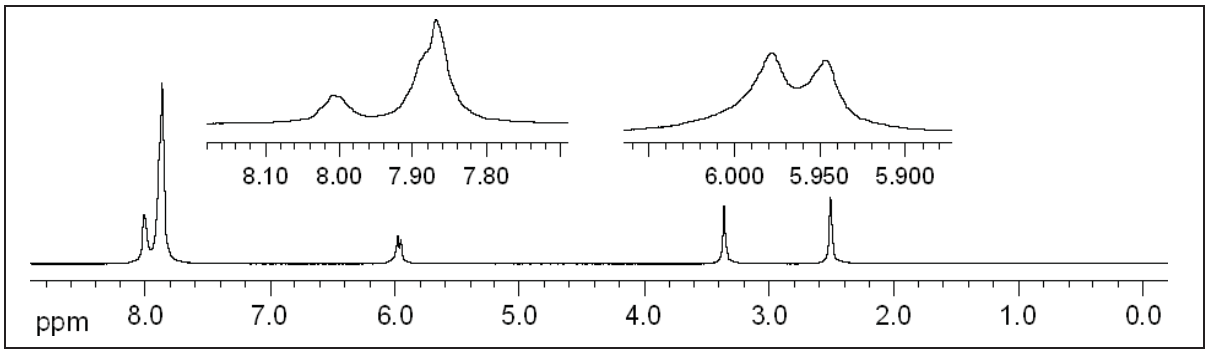


Abbildung 6.350: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **175**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[258]*

δ = 7.96 – 8.04 (m, 3 H, C-Teil des $[AB]_2C$-Systems, H-4), 7.81 - 7.93 (m, 12 H, A- und B-Teil des $[AB]_2C$-Systems, H-2 und H-3), 5.96 (d, 2 H, $^{3}J_{aP}$ = 15.7 Hz, H-a) ppm.

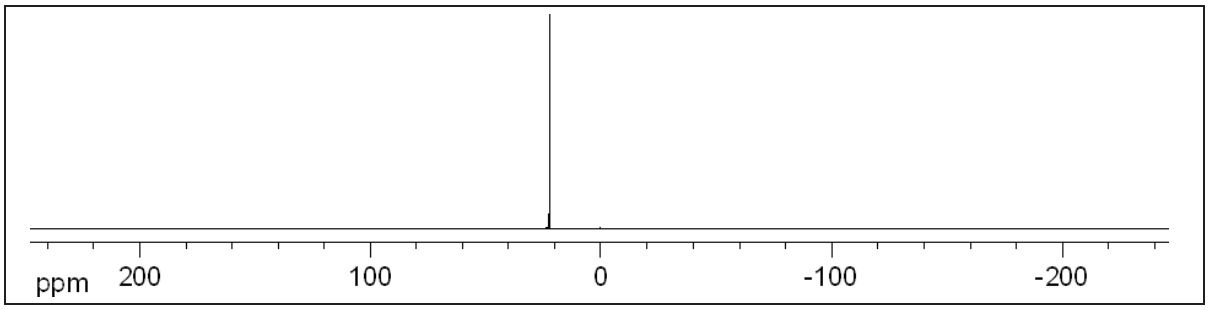


Abbildung 6.351: ^{31}P-{^{1}H}-NMR (202 MHz, DMSO), **175**.

^{31}P-{^{1}H}-NMR (202 MHz, DMSO-d_6):

δ = 22.5 (s) ppm.

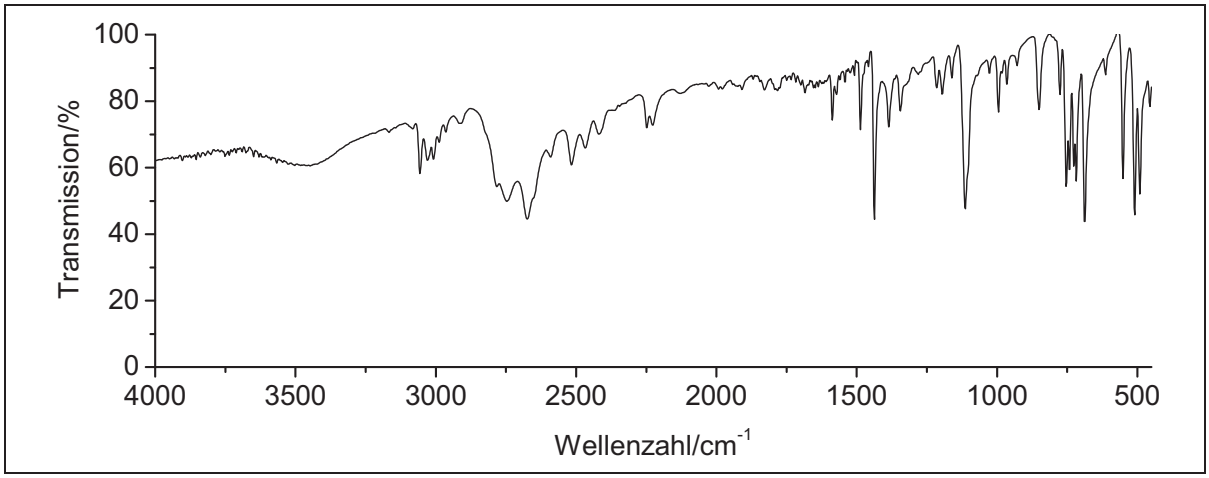
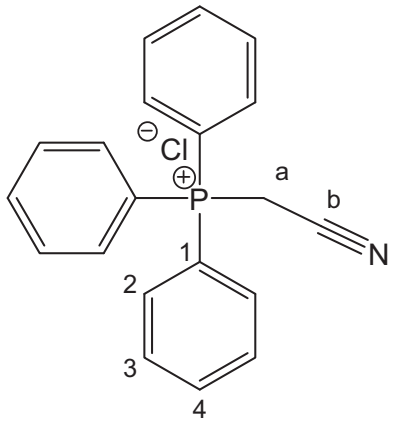


Abbildung 6.352: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **175**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3057 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2674 (C-H-Valenzschwingung), 2248 (C≡N-Valenzschwingung), 1587 (C=C-Valenzschwingung), 1437 (P-Phenyl-Schwingung), 754 und 689 (C=C-Valenzschwingung eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 105: (Cyanomethyl)triphenylphosphonium-chlorid (175)[259]#



175

In 750 ml Benzol werden 40.93 g (544.1 mmol) Chloracetonitril (**176**) und 142.7 g (542.1 mmol) Triphenylphosphin (**98**) gelöst und 35 h zum Rückfluss erhitzt. Ausgefallener Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Produkt **175** wird unter vermindertem Druck getrocknet.

$C_{20}H_{17}ClNP$ (M = 337.78 g/mol)

Ausbeute: 114.8 g (339.9 mmol, 63 %) **175** **Lit**: 90 %[259]

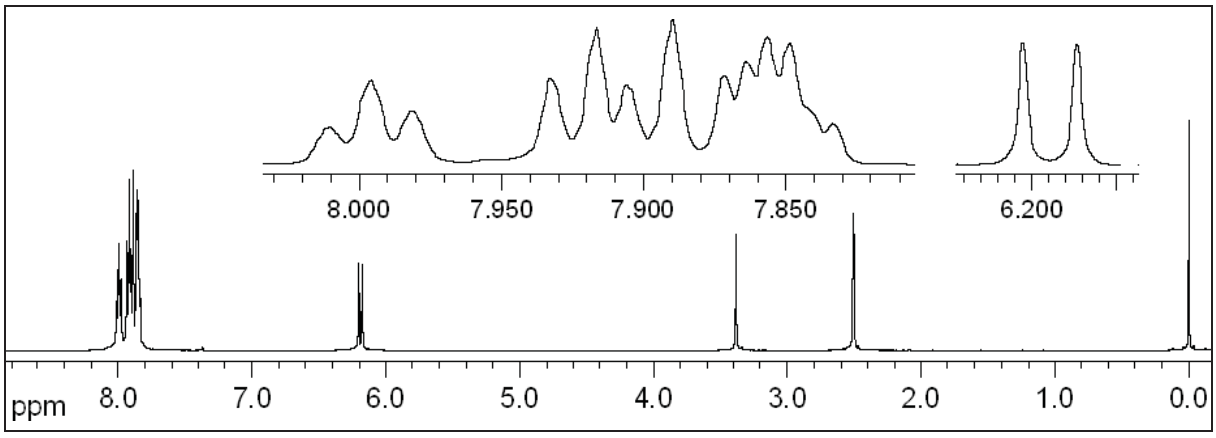


Abbildung 6.353: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **175**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[258]*

δ = 7.94 – 8.02 (m, 3 H, C-Teil des $[AB]_2$C-Systems, H-4), 7.88 - 7.94 (m, 6 H, B-Teil des $[AB]_2$C-Systems, H-2), 7.82 - 7.88 (m, 6 H, A-Teil des $[AB]_2$C-Systems, H-3), 6.19 (d, 2 H, $^{3}J_{aP}$ = 16.0 Hz, H-a) ppm.

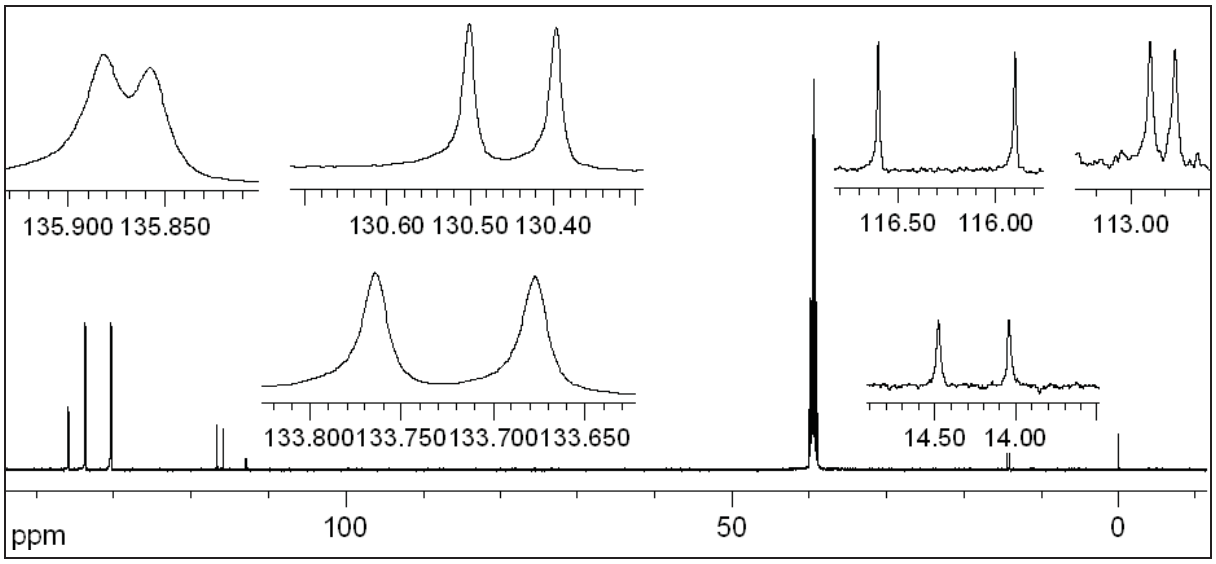


Abbildung 6.354: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **175**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 135.9 (d, $^{5}J_{4P}$ = 3.0 Hz, C-4), 133.7 (d, $^{2}J_{2P}$ = 10.9 Hz, C-2), 130.4 (d, $^{3}J_{3P}$ = 13.2 Hz, C-3), 116.3 (d, $^{1}J_{1P}$ = 88.6 Hz, C-1), 112.9 (d, $^{2}J_{bP}$ = 9.2 Hz, C-b), 14.3 (d, $^{1}J_{aP}$ = 55.0 Hz, C-a) ppm.

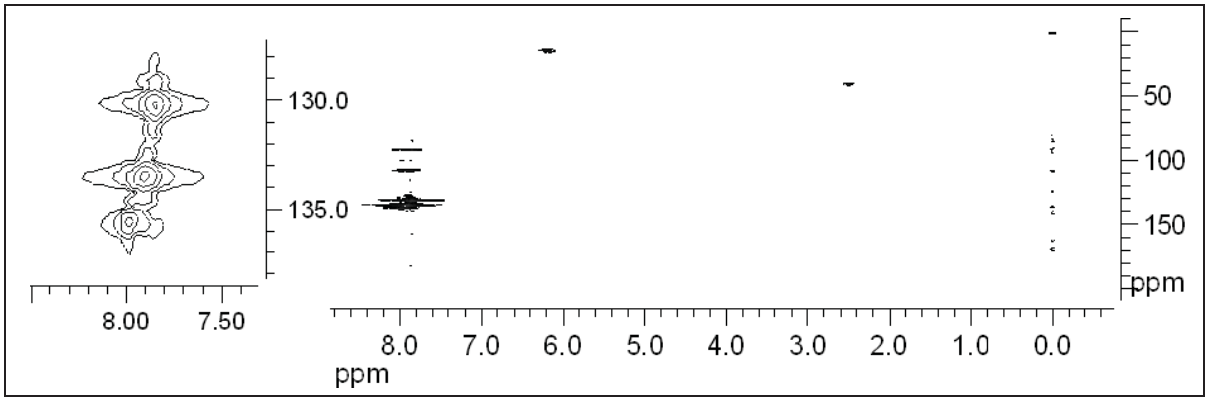


Abbildung 6.355: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **175**.

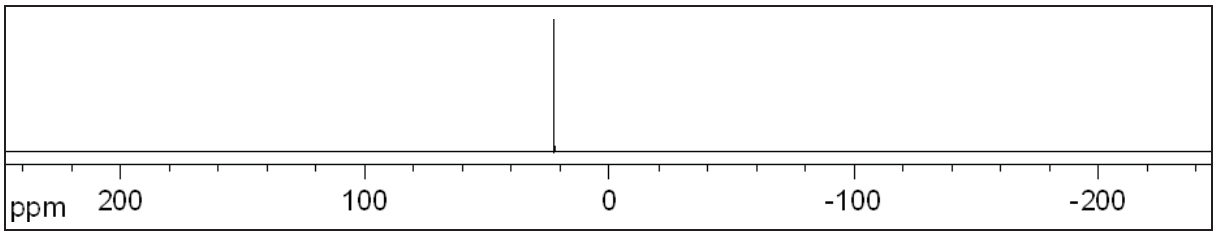


Abbildung 6.356: ^{31}P{^{1}H}-NMR (202 MHz, DMSO-d_6), **175**.

^{31}P-{^{1}H}-NMR (202 MHz, DMSO-d_6):

δ = 22.5 (s) ppm.

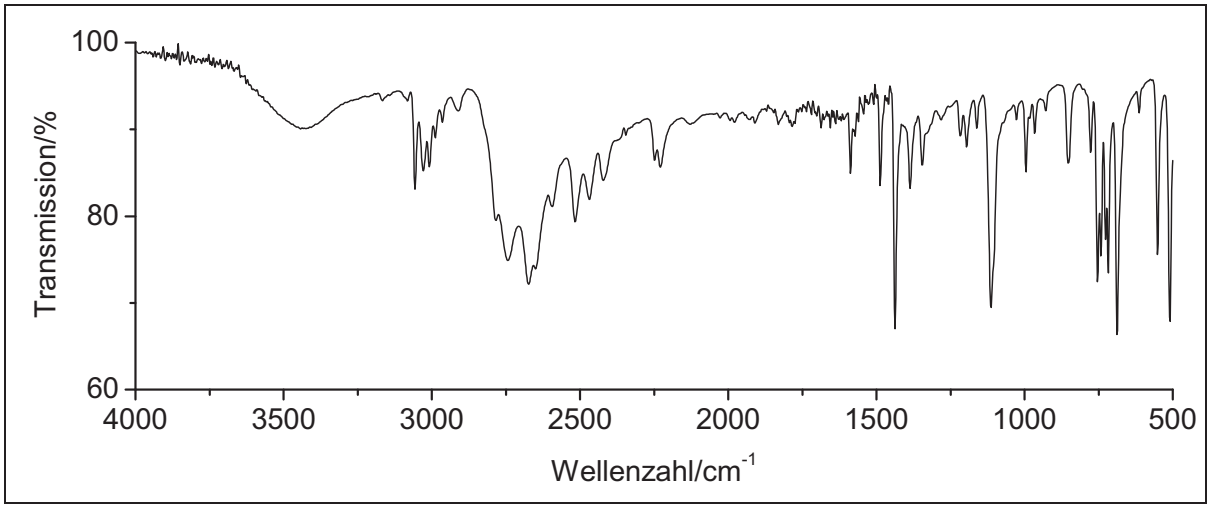
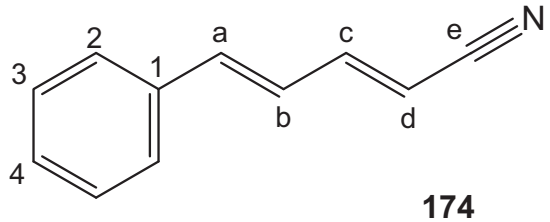


Abbildung 6.357: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **175**.

IR (KBr):

ṽ = 3057 (Aryl-H-Valenzschwingung), 2673 (C-H-Valenzschwingung), 2229 (C≡N-Valenzschwingung), 1587 (C=C-Valenzschwingung), 1437 (P-Phenyl-Schwingung), 754 und 688 (C=C-Valenzschwingung eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 106: 5-Phenylpenta-2,4-diennitril (174)



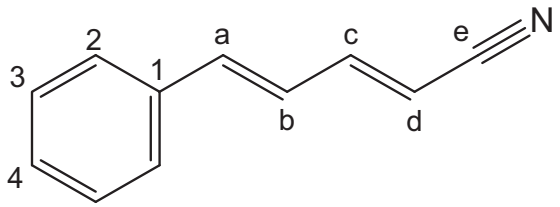
174

15.2 g (45.0 mmol) (Cyanomethyl)triphenylphosphonium-chlorid (**175**) werden in 100 ml abs. Tetrahydrofuran vorgelegt. 1.85 g (46.3 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden portionsweise zugegeben. Die Suspension wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt. 6.10 g (46.2 mmol)

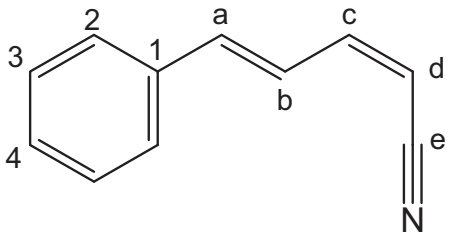
Zimtaldehyd (**164**) in 50 ml abs. Tetrahydrofuran werden zugetropft. Nach 7 d wird die Reaktionslösung mit destilliertem Wasser hydrolysiert. Zur Phasentrennung werden 150 ml Diethylether zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingeengt. Das verdünnte Rohprodukt **174** wird mit gesättigter Natriumbisulfitlösung gerührt. Nach 10 d wird ausgefallener Feststoff abfiltriert. Die organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 aufgereinigt mit einer Lösungsmittelmischung von Hexan und Ethylacetat im Verhältnis 4:1. Man erhält 5-Phenylpenta-2,4-diennitril (**174**) als (*2E, 4E*)- und (*2Z, 4E*)-Isomerengemisch.

$C_{11}H_9N$ (M = 155.20 g/mol)

Ausbeute: 1.43 g (9.21 mmol, 20 %) **174**



(*2E, 4E*)-5-Phenylpenta-2,4-diennitril



(*2Z, 4E*)- 5-Phenylpenta-2,4-diennitril

Aus den ^{1}H-NMR-spektroskopischen Daten wurde ein Verhältnis von 54 % (*2E, 4E*)- und 46 % (*2Z, 4E*)-Isomer von **174** bestimmt.

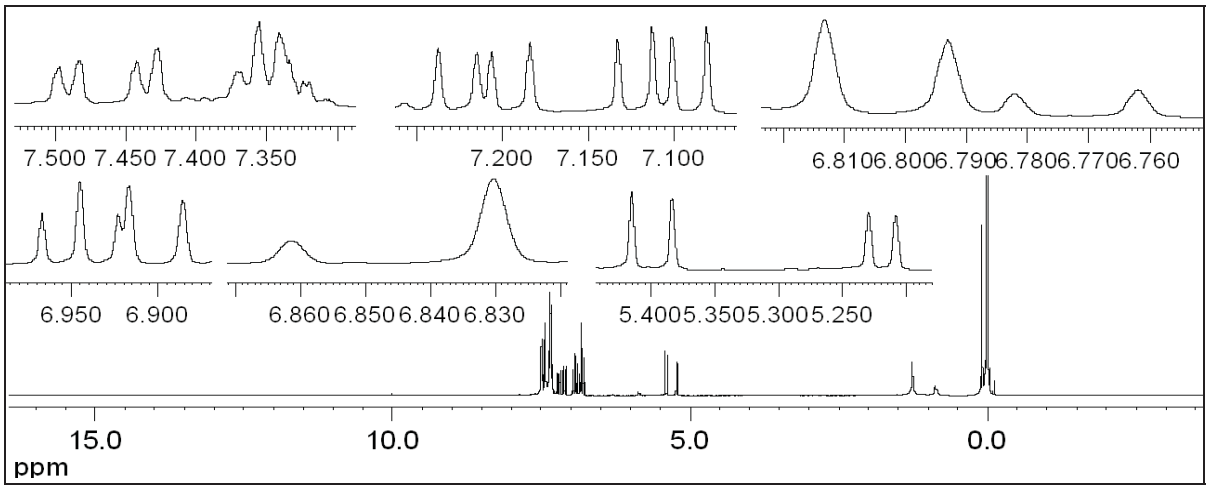


Abbildung 6.358: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **174** als Mischung des (*2E,4E*)- und des (*2Z,4E*)-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

(*2E, 4E*)-Isomer **174**[260, 261]*

δ = 7.42 – 7.45 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.30 – 7.42 (m, 3 H, A- und B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4 und H-3), 7.11 (dd, 1 H, $^{3}J_{cb}$ = 10.0 Hz, $^{3}J_{cd}$ = 15.9 Hz, H-c), 6.85 (d, 1 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a), 6.79 (dd, 1 H, $^{3}J_{bc}$ = 10.1 Hz, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, H-b), 5.40 (d, 1 H, $^{3}J_{dc}$ = 15.8 Hz, H-d) ppm.

(*2Z, 4E*)-Isomer **174**[260-262]

δ = 7.47 – 7.51 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.30 – 7.42 (m, 3 H, A- und B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4 und H-3), 7.21 (dd, 1 H, $^{3}J_{bc}$ = 11.2 Hz, $^{3}J_{ba}$ = 15.5 Hz, H-b), 6.95 (dd, 1 H, $^{3}J_{cb}$ = 10.9 Hz, $^{3}J_{cd}$ = 10.9 Hz, H-c), 6.90 (d, 1 H, $^{3}J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a), 5.22 (d, 1 H, $^{3}J_{dc}$ = 10.7 Hz, H-d) ppm.

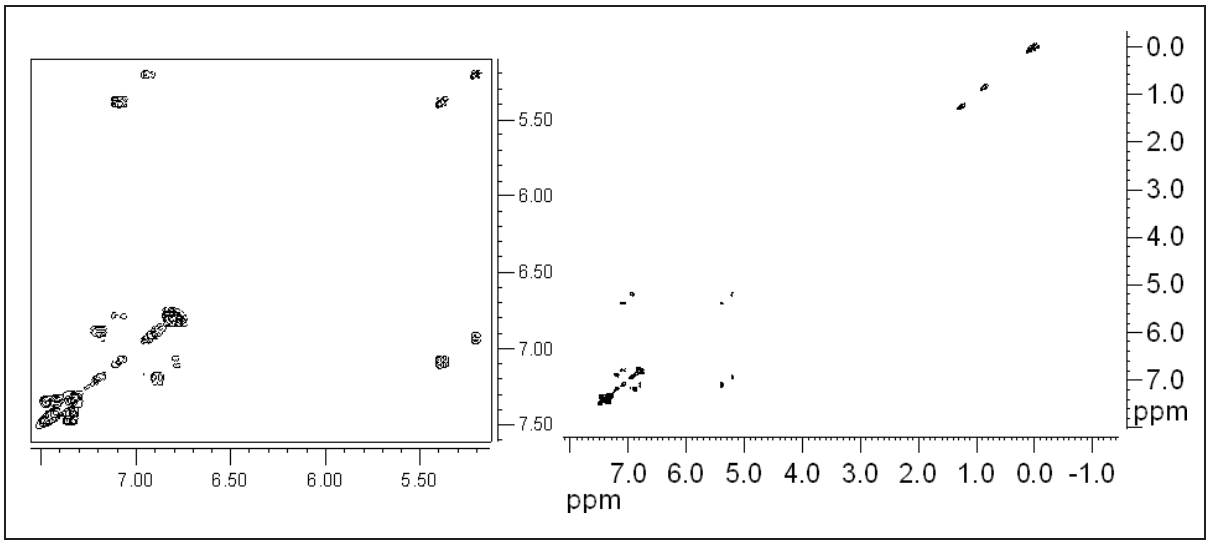


Abbildung 6.359: COSY-NMR (^{1}H-^{1}H, 500 MHz, $CDCl_3$),**174** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

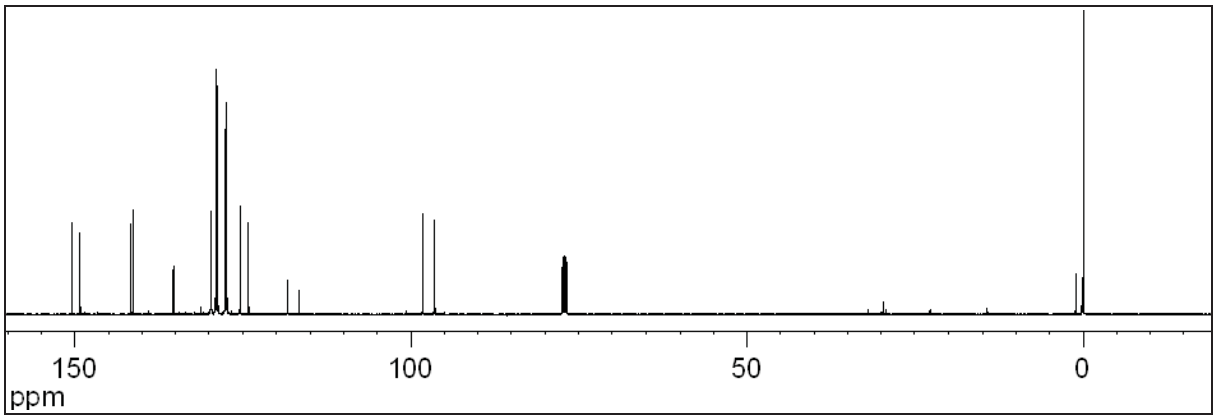


Abbildung 6.360: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **174** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):[260]

(*2E, 4E*)-Isomer **174:**

δ = 150.3 (s, C-c), 141.3 (s, C-a), 135.3 (s, C-1), 129.6 (s, C-4), 128.9 (s, C-3), 127.4 (s, C2), 125.4 (s, C-b), 118.3 (s, C-e), 98.2 (s, C-d) ppm.

(*2Z, 4E*)-Isomer **174:**

δ = 149.2 (s, C-c), 141.7 (s, C-a), 135.3 (s, C-1), 129.7 (s, C-4), 128.9 (s, C-3), 127.6 (s, C2), 124.1 (s, C-b), 116.7 (s, C-e), 96.5 (s, C-d) ppm.

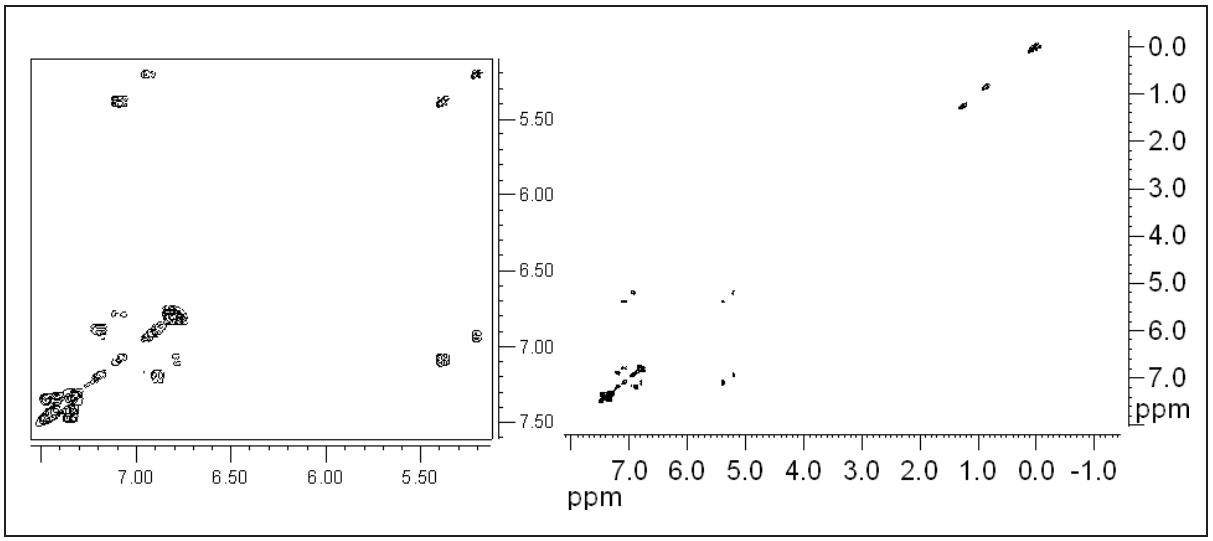
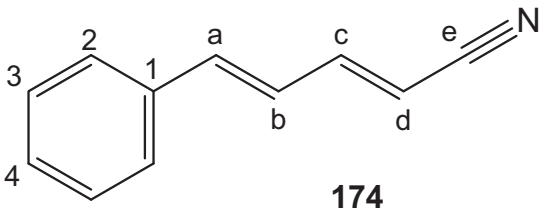


Abbildung 6.361: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, $CDCl_3$), **174** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

EI (70 eV):

m/z = 155 (M^+, 100 %), 154 (M^+-1, 78 %), 140 (26 %), 128 (25 %), 127 (29 %), 115 (35 %), 77 (12 %).

Versuch 107: 5-Phenylpenta-2,4-diennitril (174)



174

50 g (150 mmol) (Cyanomethyl)triphenylphosphonium-chlorid (**175**) werden in 200 ml abs. Tetrahydrofuran unter Luftausschluss auf 0 °C abgekühlt. Unter Rühren werden 6.0 g (150 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionswiese zugegeben. Die Reaktionssuspension wird 8 h bei 0 °C gerührt. 20 g (150 mmol) Zimtaldehyd (**164**) in 50 ml abs. Tetrahydrofuran werden langsam zugetropft. Nach 12 h bei Raumtemperatur werden weitere 1.1 g (30 mmol) 60%iges Natriumhydrid zugegeben. Nach 12-tätigem Rühren wird die Reaktionslösung auf 0 °C abgekühlt und mit destilliertem Wasser hydrolysiert.

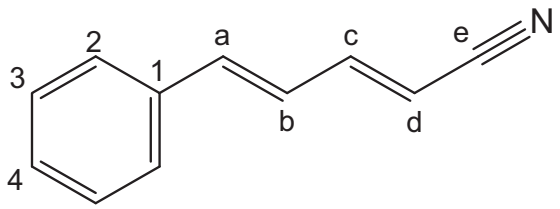
Zur Phasentrennung werden 600 ml Diethylether zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und über Kieselgel 60 filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck eingeengt. Das verdünnte Rohprodukt **174** wird mit gesättigter Natriumbisulfitlösung gerührt. Nach 3 h wird ausgefallener Feststoff abfiltriert. Die

organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

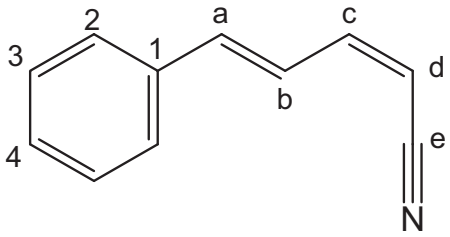
Der Rückstand wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 aufgereinigt mit einer Lösungsmittelmischung von Hexan und Ethylacetat im Verhältnis 4:1. Man erhält 5-Phenylpenta-2,4-diennitril (**174**) als (*2E, 4E*)- und (*2Z, 4E*)-Isomerengemisch.

$C_{11}H_9N$ (M = 155.20 g/mol)

Ausbeute: 8.17 g (52.6 mmol, 35 %) **174**



(*2E, 4E*)-5-Phenylpenta-2,4-diennitril



(*2Z, 4E*)- 5-Phenylpenta-2,4-diennitril

Aus den ^{1}H-NMR-spektroskopischen Daten wurde ein Verhältnis von 62 % (*2E, 4E*)- und 38 % (*2Z, 4E*)-Isomer von **174** bestimmt.

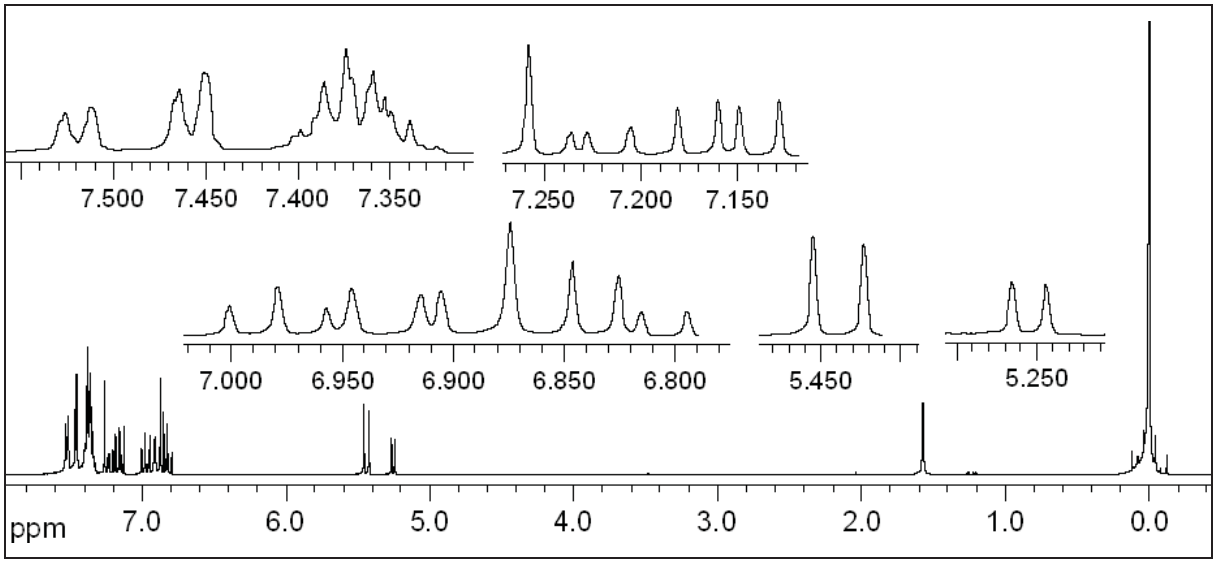


Abbildung 6.362: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **174** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):

(*2E, 4E*)-Isomer **174**[260, 261]*:

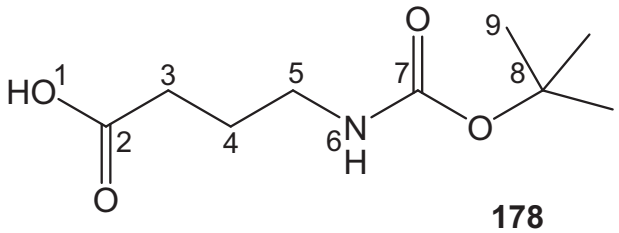
δ = 7.44 – 7.48 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.29 – 7.41 (m, 3 H, A- und B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4 und H-3), 7.16 (dd, 1 H, $^3J_{cb}$ = 10.4 Hz, $^3J_{cd}$ = 15.9 Hz, H-c), 6.89 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 15.6 Hz, H-a), 6.82 (dd, 1 H, $^3J_{bc}$ = 10.4 Hz, $^3J_{ba}$ = 15.6 Hz, H-b), 5.44 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 15.8 Hz, H-d) ppm.

(*2Z, 4E*)-Isomer **174**[260-262]*:

δ = 7.50 – 7.54 (m, 2 H, C-Teil eines $[AC]_2B$-Systems, H-2), 7.29 – 7.41 (m, 3 H, A- und B-Teil eines $[BC]_2A$-Systems, H-4 und H-3), 7.23 (dd, 1 H, $^3J_{bc}$ = 11.2 Hz, $^3J_{ba}$ = 15.5 Hz, H-b), 6.97 (dd, 1 H, $^3J_{cb}$ = 10.9 Hz, $^3J_{cd}$ = 10.9 Hz, H-c), 6.93 (d, 1 H, $^3J_{ab}$ = 15.5 Hz, H-a), 5.26 (d, 1 H, $^3J_{dc}$ = 10.7 Hz, H-d) ppm.

Versuch 108: 4-(tert-Butoxycarbonylamino)buttersäure (178)[130, 131]#

4.19 g (40.6 mmol) γ-Aminobuttersäure (**177**) in 80 ml 0.5 N Natronlauge und 80 ml 1,4-Dioxan werden auf 5 °C abgekühlt. Langsam werden 9.78 g (44.8 mmol) Di-*tert*-Butyldicarbonat (**149**) gelöst in 50 ml 1,4-Dioxan zugetropft. Nach 30 min wird das Eisbad entfernt. Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei Raumtemperatur gerührt.



178

Unter vermindertem Druck wird die Lösung auf 25 ml eingeengt und mit verdünnter Salzsäure langsam auf pH 2 gebracht. Währendessen wird dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 100 ml Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

$C_9H_{17}NO_4$ (M = 203.24 g/mol)

Ausbeute: 5.76 g (28.3 mmol, 70 %) **178** **Lit**: 85 %[131]

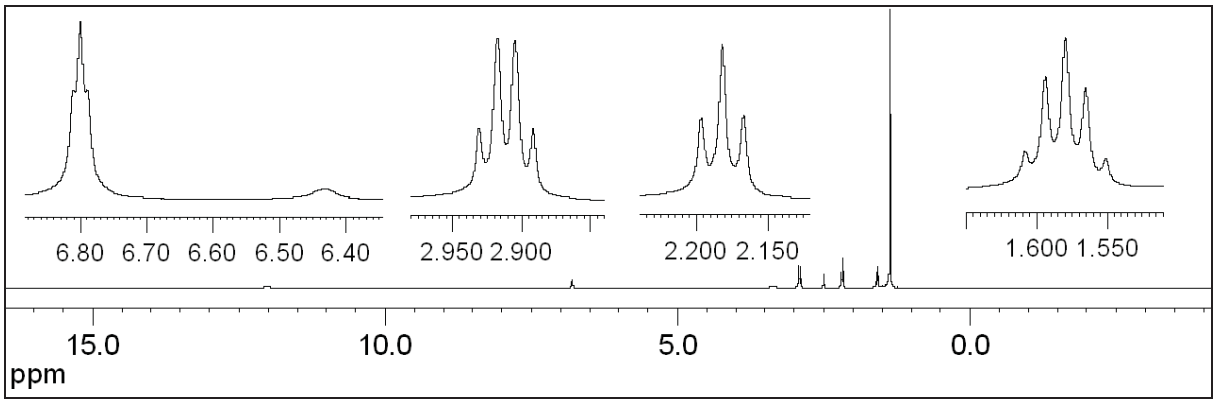


Abbildung 6.363: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **178**.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6):[131]*

δ = 12.01 (bs, 1 H, H-1), 6.80 (t, 0.9 H, $^{3}J_{65}$ = 5.2 Hz, *cis*-Amid, H-6), 6.43 (bs, 0.1 H, *trans*-Amid, H-6), 2.91 (dt, 2 H, $^{3}J_{56}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{54}$ = 6.7 Hz, H-5), 2.18 (t, 2 H, $^{3}J_{34}$ = 7.4 Hz, H-3), 1.58 (tt, 2 H, $^{3}J_{43}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{45}$ = 7.2 Hz, H-4), 1.36 (s, 9 H, H-9) ppm.

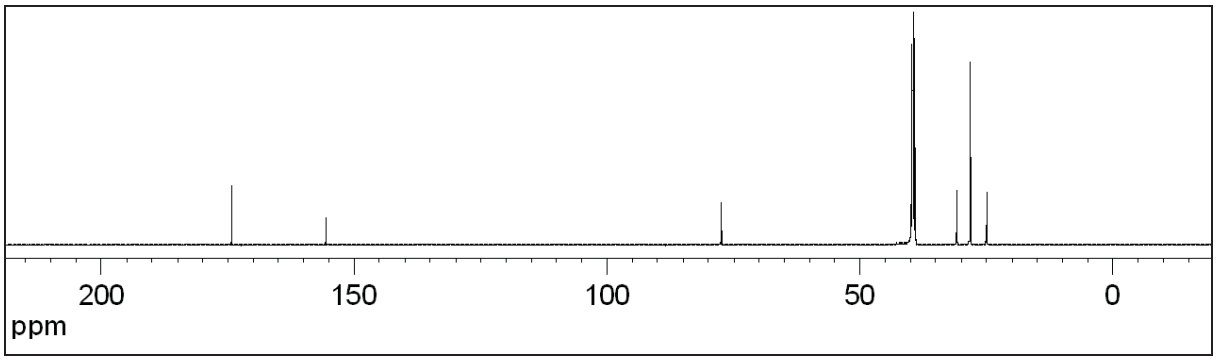


Abbildung 6.364: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **178**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):[131]*

δ = 174.2 (s, C-2), 155.6 (s, C-7), 77.4 (s, C-8), 39.2 (s, C-5), 30.9 (s, C-3), 28.2 (s, C-9), 24.9 (s, C-4) ppm.

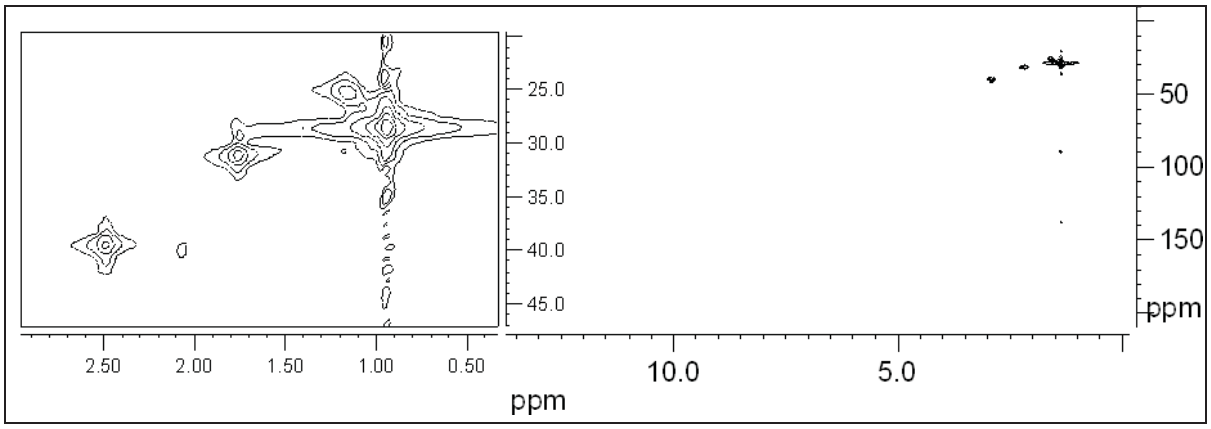
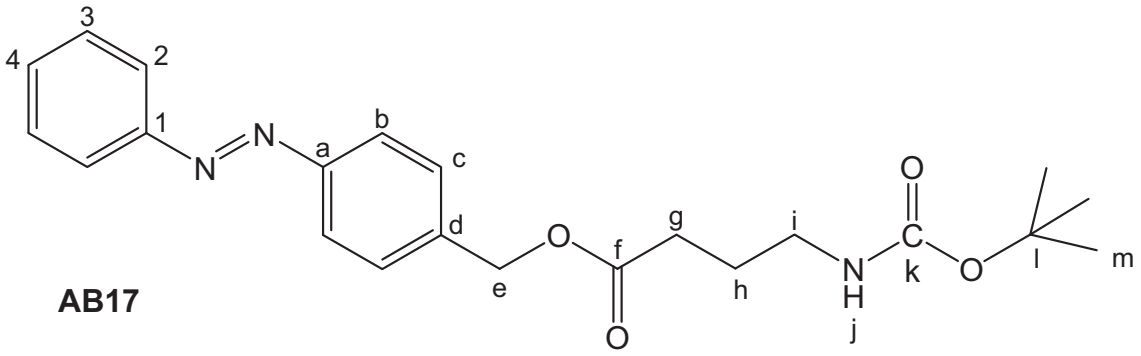


Abbildung 6.365: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6),**178**.

Versuch 109: [4-(Phenyldiazenyl)benzyl]-[4-(*tert*-butoxycarbonyl-amino)]butanoat (AB17)[26]#



AB17

240 mg (1.18 mmol) 4-(*tert*-Butoxycarbonylamino)buttersäure (**178**), 300 mg (1.09 mmol) 4-(Brommethyl)azobenzol (**AB15**) und 163 mg (1.07 mmol) 1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-2-en werden in 60 ml Benzol 3 h zum Rückfluss erhitzt. Ausgefallener Feststoff wird aus der abgekühlten Lösung abfiltriert. Die Lösung wird zweimal mit je 100 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das gewonnene Produkt **AB17** ist in Spuren mit der entschützten Form **AB18** verunreinigt.

$C_{22}H_{27}N_3O_4$ (M = 397.47 g/mol)

Ausbeute: 393 mg (0.989 mmol, 91 %) **AB17**

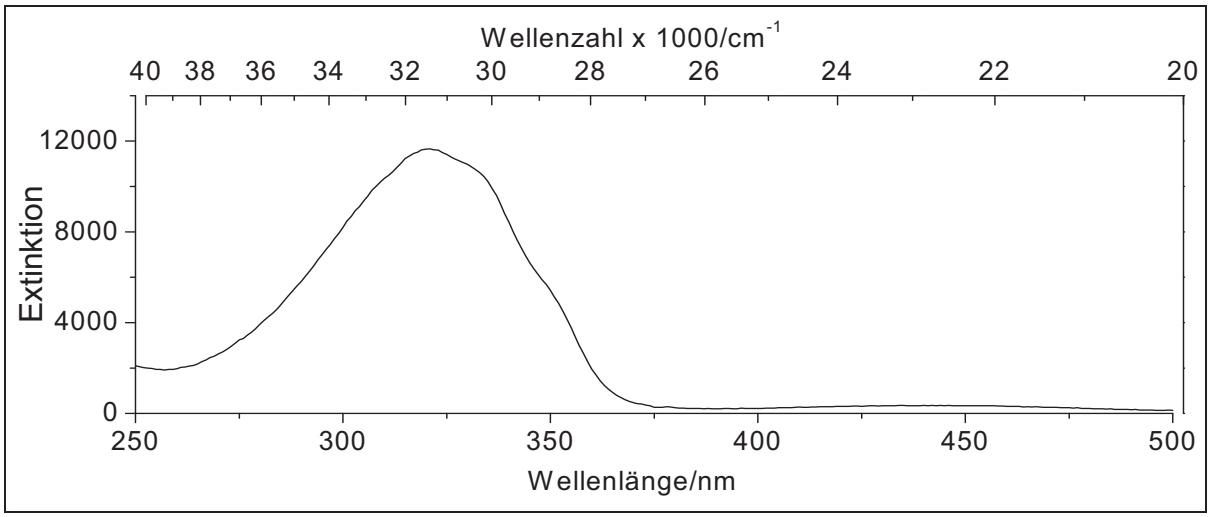


Abbildung 6.366: UV-Vis-Spektrum von **AB17**in Methanol (c = 47.3 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 321 (11700 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

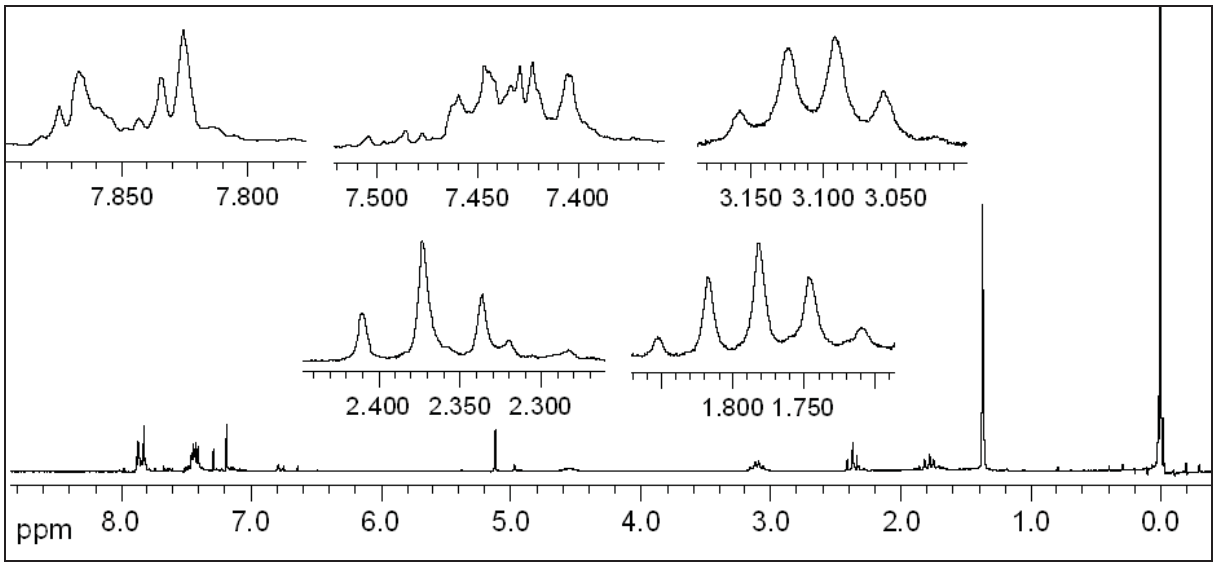


Abbildung 6.367: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **AB17**.

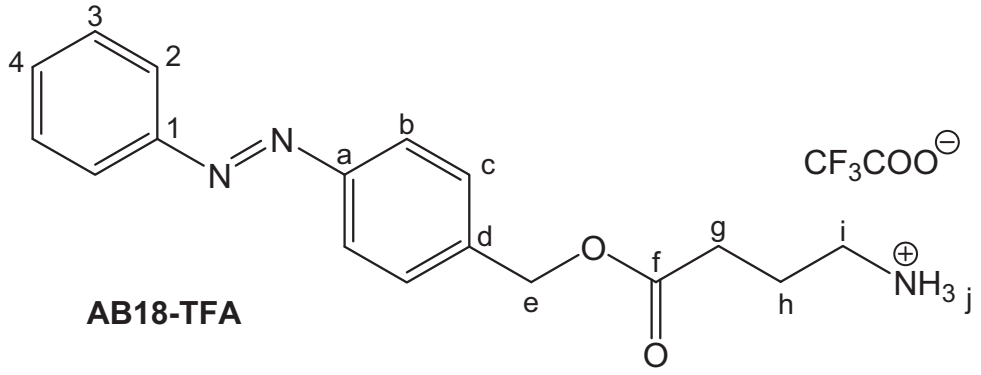
^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):

δ = 7.80 – 7.90 (m, 4 H, B-Teil eines [AB]-Systems und C-Teil eines [BC]A-Systems, H-b und H-2), 7.38 – 7.47 (m, 5 H, A-Teil eines [AB]-Systems und A- und B-Teil eines [BC]A-Systems, H-c, H-3 und H-4), 7.19 (bs, 1 H, H-j), 5.12 (s, 2 H, H-e), 3.11 (m, 2 H, H-i), 2.37 (t, 2 H, $^{3}J_{gh}$ = 7.4 Hz, H-g), 1.75 (tt, 2 H, $^{3}J_{hg}$ = 7.3 Hz, $^{3}J_{hi}$ = 7.0 Hz, H-h), 1.34 (s, 9 H, H-m) ppm.

GCMS:

m/z = 220 (M^+-(Ph-N=N)-(*t*-Bu-O), 29 %), 205 (100 %), 145 (Ph-N=N-Ph-CH_2, 12 %), 105 (Ph-N=N, 12 %), 58 (t-Bu, 72 %).

Versuch 110: {4-Oxo-4-[4-(Phenyldiazenyl)phenylmethoxy]ammonium}-trifluoracetat (AB18-TFA)



AB18-TFA

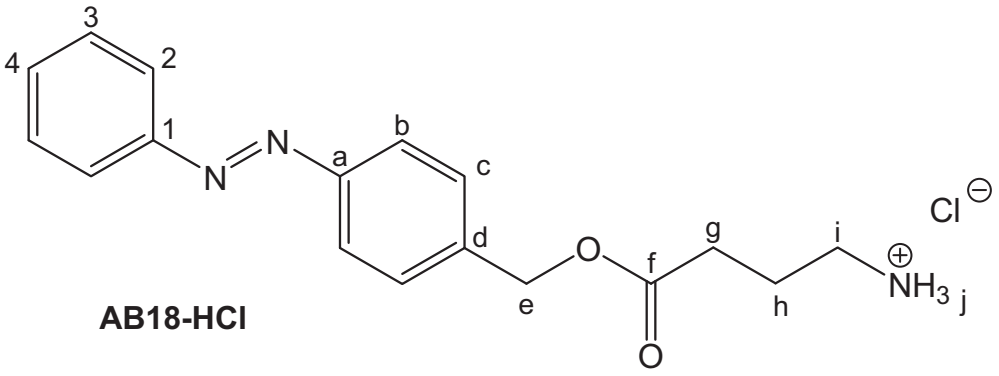
In 15 ml Methylenchlorid werden 100 mg (25 µmol) [4-(Phenyldiazenyl)benzyl]-[4-(*tert*-butoxycarbonylamino)]butanoat (**AB17**) mit 6.3 ml (82 mmol) Trifluoressigsäure 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionskontrolle erfolgt mittels HPLC.

Die Reaktionslösung wird mit je 25 ml Toluol und destilliertem Wasser versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt, dreimal mit 100 ml destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt **AB18-TFA** wird ohne weitere Reinigung und Analytik direkt umgesetzt.

$C_{17}H_{19}N_3O_2 \cdot CF_3COOH$ (M = 411.38 g/mol)

Ausbeute: 67 mg (160 µmol, 65 %) **AB18-TFA**

Versuch 111: {4-Oxo-4-[4-(Phenyldiazenyl)phenylmethoxy]ammonium}-hydrochlorid (AB18-HCl)



AB18-HCl

130 mg (330 µmol) [4-(Phenyldiazenyl)benzyl]-[4-(*tert*-butoxycarbonylamino)]butanoat (**AB17**) werden in 10 ml abs. Diethylether gelöst. Durch ein Septum werden mittels Spritze 5 ml einer 2 M Lösung von Salzsäure in Diethylether (10 mmol) zugegeben. Die Lösung wird 3 d bei Raumtemperatur gerührt.
Ausfallender Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet.

$C_{17}H_{19}N_3O_2 \cdot HCl$ (M = 333.81 g/mol)

Ausbeute: 58 mg (170 µmol, 52 %) **AB18-HCl**

Das Produkt **AB18-HCl** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus dem Verhältnis der ^{1}H-NMR Signalen von H-e bestimmt. Es setzt sich aus 85 % *trans*- und 15 % *cis*-Isomer zusammen.

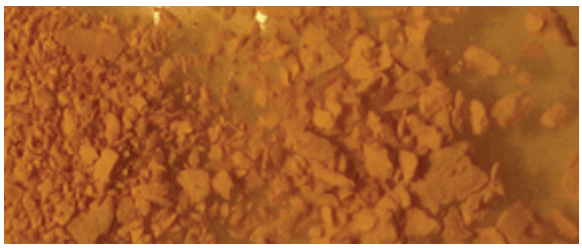


Abbildung 6.368: AB18-HCl als orange-beiger Feststoff.

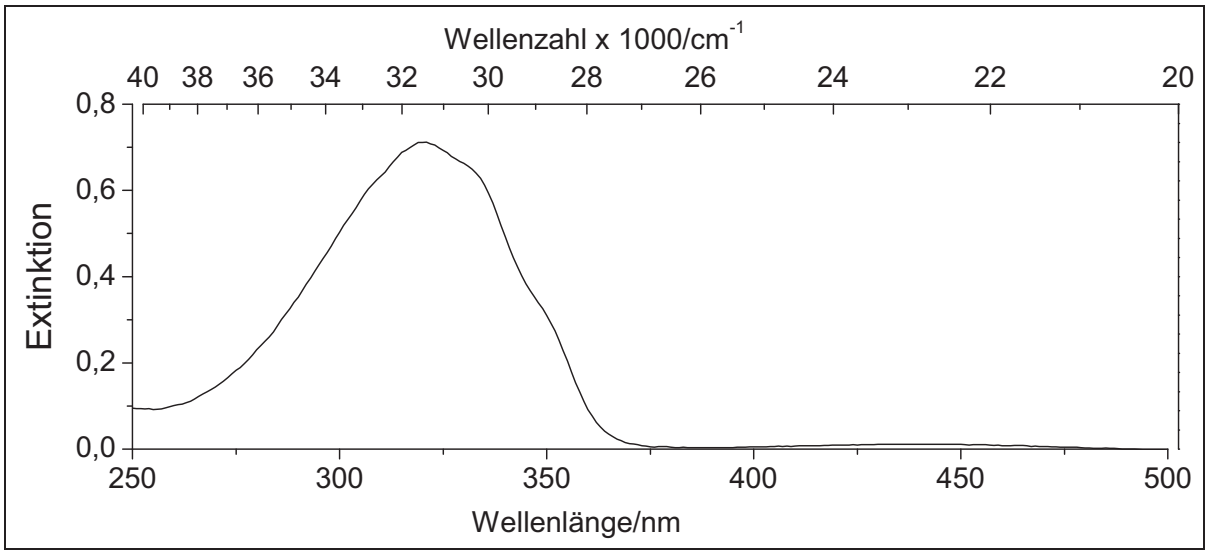


Abbildung 6.369: UV-Vis-Spektrum von **AB18-HCl** in Methanol (c = 51.3 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 321 (27600 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

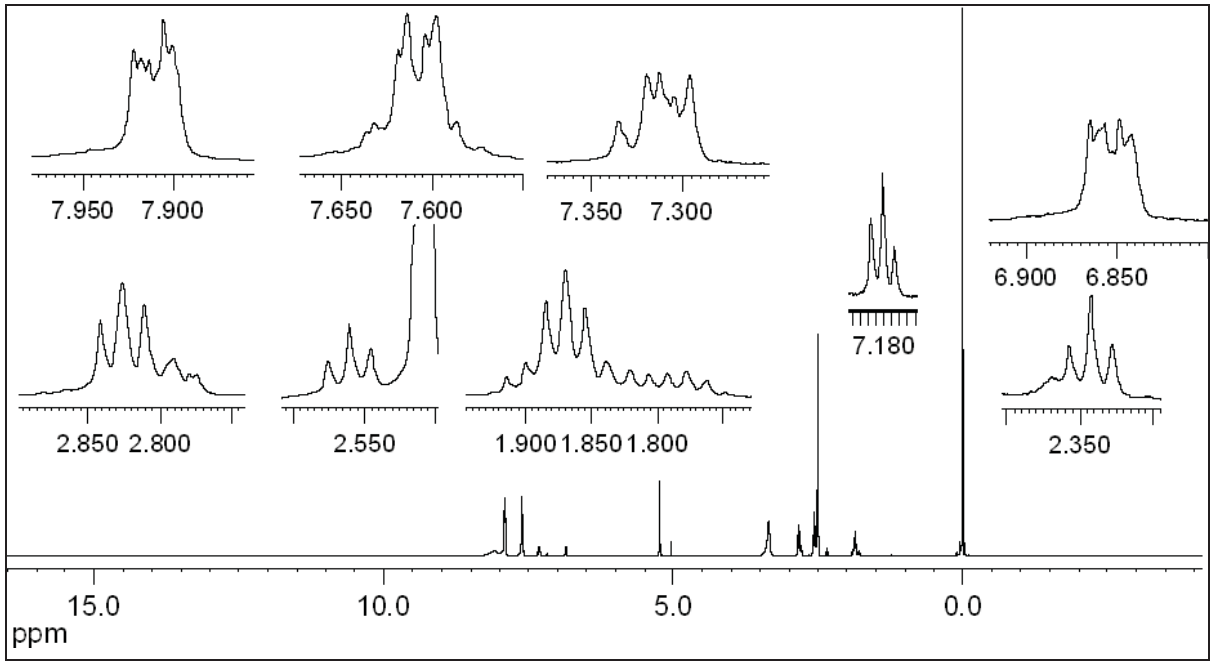


Abbildung 6.370: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB18-HCl** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

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

cis-4-(Phenyldiazenyl)benzyl 4-aminobutanoat (**AB18-HCl**):

δ = 8.08 (bs, 2 H, H-j), 7.89 - 7.94 (m, 4 H, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.3 Hz, H-b und H-2), 7.57 - 6.65 (m, 5 H, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.3 Hz, H-c, H-3 und H-4), 5.22 (s, 2 H, H-e), 2.83 (t, $^{3}J_{ih}$ = 7.5 Hz, H-i), 2.56 (t, $^{3}J_{gh}$ = 7.4 Hz, H-g), 1.83 - 1.92 (m, 2 H, H-h) ppm.

trans-4-(Phenyldiazenyl)benzyl 4-aminobutanoat (**AB18-HCl**):

δ = 8.08 (bs, 2 H, H-j), 7.28 - 7.35 (m, 4 H, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.3 Hz, H-c und H-3), 7.15 - 7.21 (m, 1 H, H-4), 6.83 - 6.88 (m, 4 H, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.2 Hz, H-b und H-2), 5.04 (s, 2 H, H-e), 2.76 - 2.83 (m, 2 H, H-i), 2.34 (t, $^{3}J_{gh}$ = 7.3 Hz, H-g), 1.73 - 1.92 (m, 2 H, H-h) ppm.

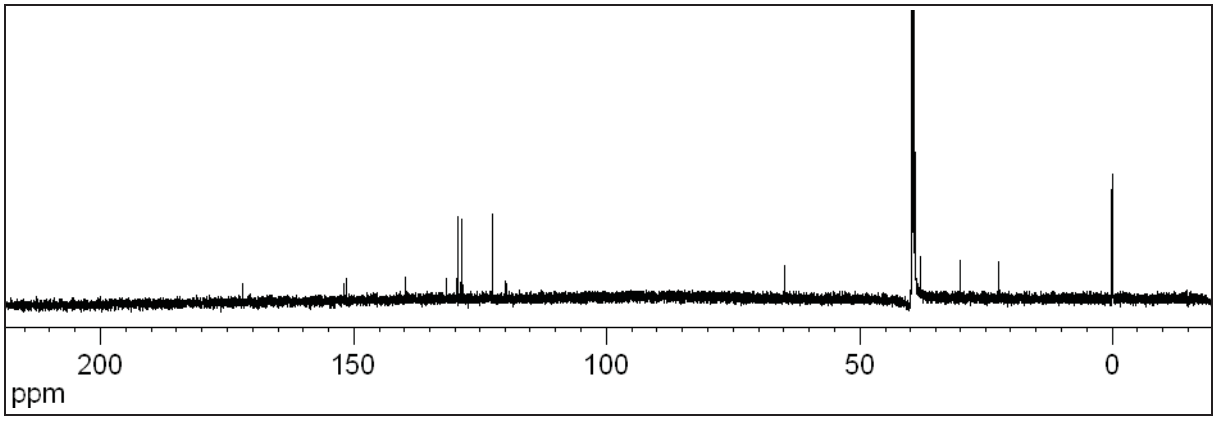


Abbildung 6.371: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB18-HCl** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

trans-4-(Phenyldiazenyl)benzyl 4-aminobutanoat (**AB18-HCl**):

δ =172.0 (s, C-f), 151.8 und 151.4 (2 s, C-1 und C-a), 139.5 (s, C-d), 131.6 (s, C-4), 129.4 (s, C-3), 128.7 (s, C-c), 122.5 und 122.5 (s, C-2), 122.5 (s, C-b), 64.9 (s, C-e), 37.9 (s, C-i), 30.2 (s, C-g), 22.3 (s, C-h) ppm.

cis-4-(Phenyldiazenyl)benzyl 4-aminobutanoat (**AB18-HCl**):

δ = 128.8 und 128.3 (2 s, C-3 und C-c), 120.0 und 119.7 (2 s, C-2 und C-b) ppm. (Intensität der übrigen Signale ist zu schwach, um im Spektrum erkannt zu werden.)

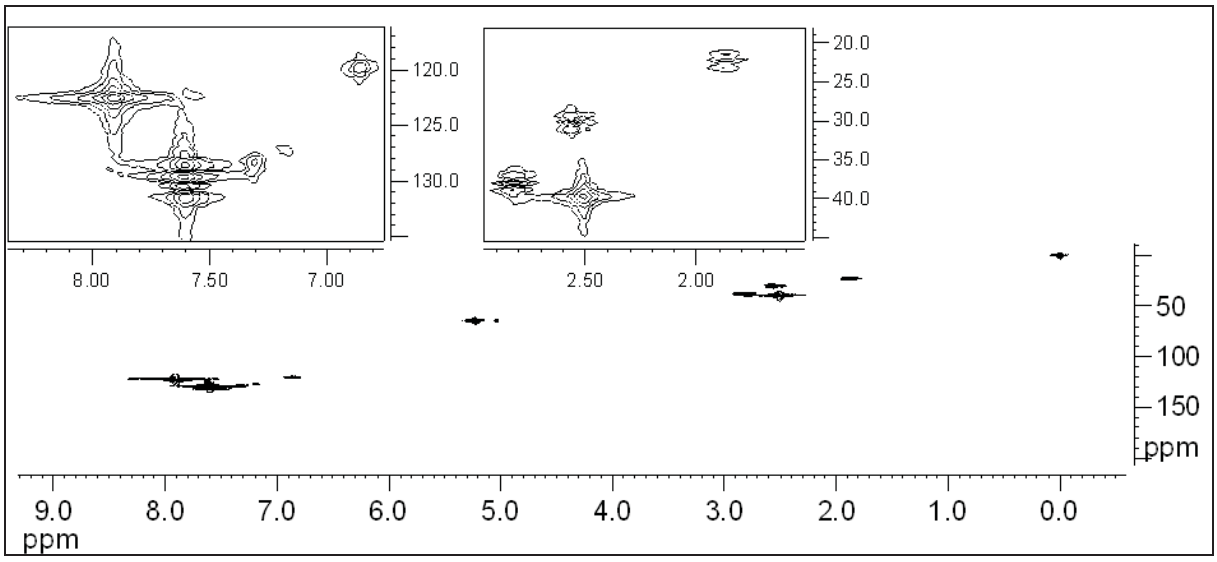


Abbildung 6.372: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB18-HCl**.

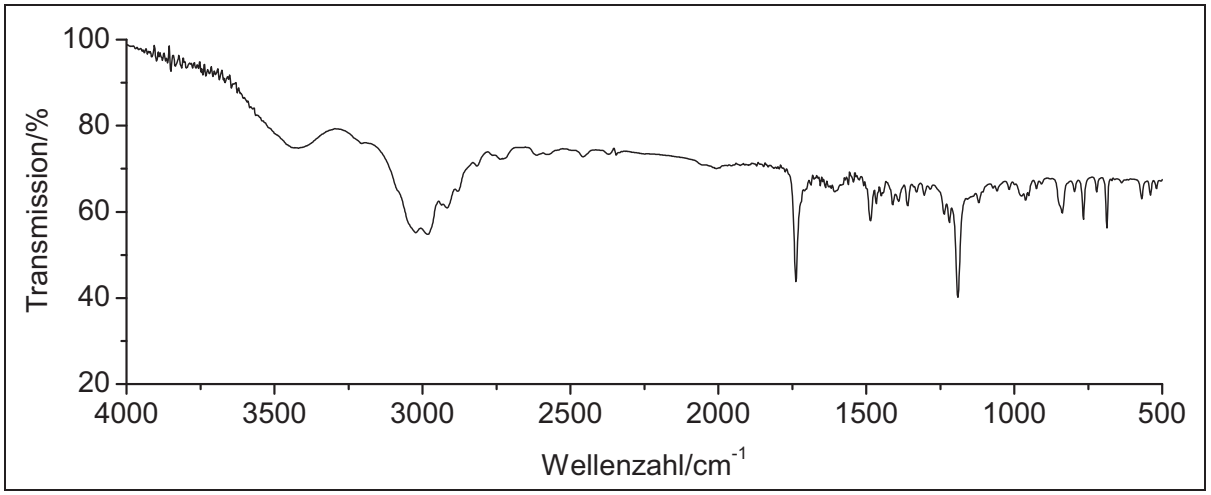
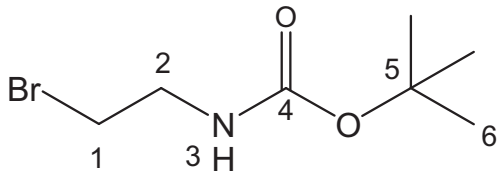


Abbildung 6.373: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB18-HCl**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3023 (C-H Valenzschwingung im Aromaten), 2982 (N-H Valenzschwingung), 2936 und 2916 (C-H Valenzschwingung), 1738 (C=O Valenzschwingung), 1607 (N-H Deformationsschwingung), 1486 und 1466 (C-H Deformationsschwingung), 1190 (C-O Valenzschwingung), 837 (zwei H eines 1,4-substitutierten Aromaten), 761 und 687 (fünf H eines monosubstituierten Aromaten), 721 (CH_2 rocking Schwingung) cm^{-1}.

Versuch 112: *tert*-Butyl-*N*-(2-bromethyl)carbamat (180)[133]#



180

Bei 13 °C werden zu 5.00 g (24.4 mmol) 2-Aminoethylbromid-hydrobromid (**179**) in 50 ml 1,4-Dioxan 5.85 g (26.8 mmol) Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) und 3.4 ml Triethylamin zugegeben. Man entfernt die Kühlung und lässt 2 Tage bei Raumtemperatur rühren.

Der Feststoff des Reaktionsgemischs wird abfiltriert und in 100 ml Methylenchlorid aufgenommen. Die organische Phase wird zweimal mit 50 ml destilliertem Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum einer Drehschieberpumpe entfernt. Dieses Rohprodukt **180** enthält noch Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) und wird ohne weitere Reinigungsschritte eingesetzt.

$C_7H_{14}BrNO_2$ (M = 224.10 g/mol)

Ausbeute: 2.35 g (10.5 mmol, max 43 %) **180** **Lit**: 97 %[133]

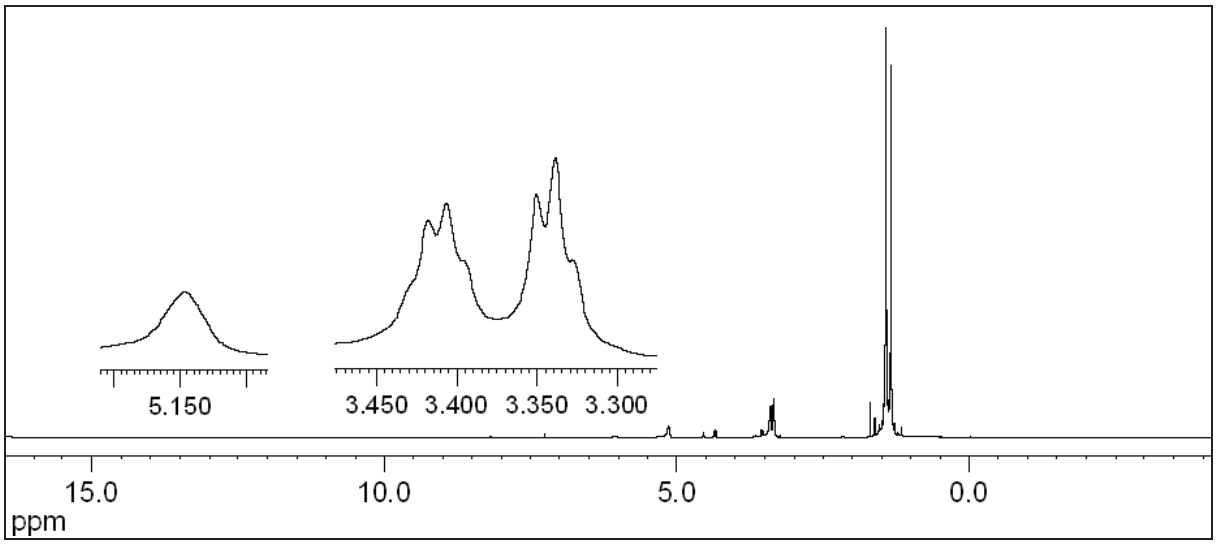
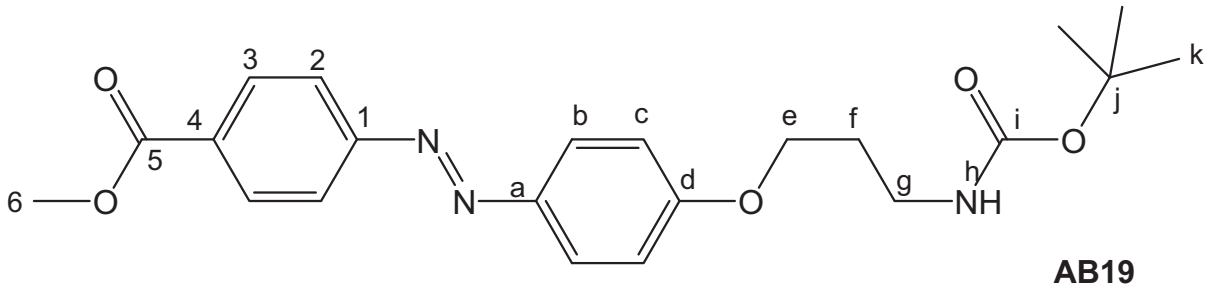


Abbildung 6.374: ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$), **180**.

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$):[133] *

δ = 5.15 (bs, 1 H, H-3), 3.41 (dt, 2 H, $^3J_{23}$ = 5.1 Hz, $^3J_{21}$ = 5.7 Hz, H-2), 3.34 (t, 2 H, $^3J_{12}$ = 5.6 Hz, H-1), 1.34 (s, 9 H, H-6) ppm.

Versuch 113: Methyl-4-({4-[3-(*tert*-butoxycarbonylamino)propoxy]-phenyl}diazenyl)-benzoat (AB19)



AB19

2.01 g (7.84 mmol) Methyl-4-[(4-hydroxyphenyl)diazenyl]-benzoat (**AB07**) und 409 mg (10.2 mmol) 60%iges Natriumhydrid werden in 30 ml abs. Tetrahydrofuran 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. 1.87 g (7.85 mmol) *tert*-Butyl-3-brompropylcarbamat (**157**) in 20 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst werden zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung vorsichtig mit 100 ml destilliertem Wasser versetzt. Dieser Ansatz wird dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfatgetrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Die Reinigung des Rohprodukts **AB19** erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Diethylether/Hexan 1/1 als Laufmittel. Das Produkt eluiert als dritte Fraktion nach dem Edukt und einem Nebenprodukt.

$C_{22}H_{27}N_3O_5$ (M = 413.47 g/mol)

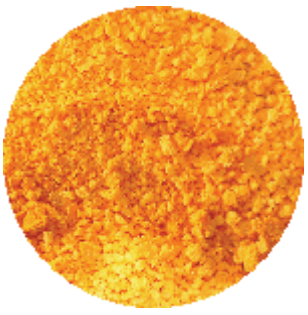


Abbildung 6.375: AB19 als gelber Feststoff.

Ausbeute: 208 mg (505 µmol, 6 %) **AB19**

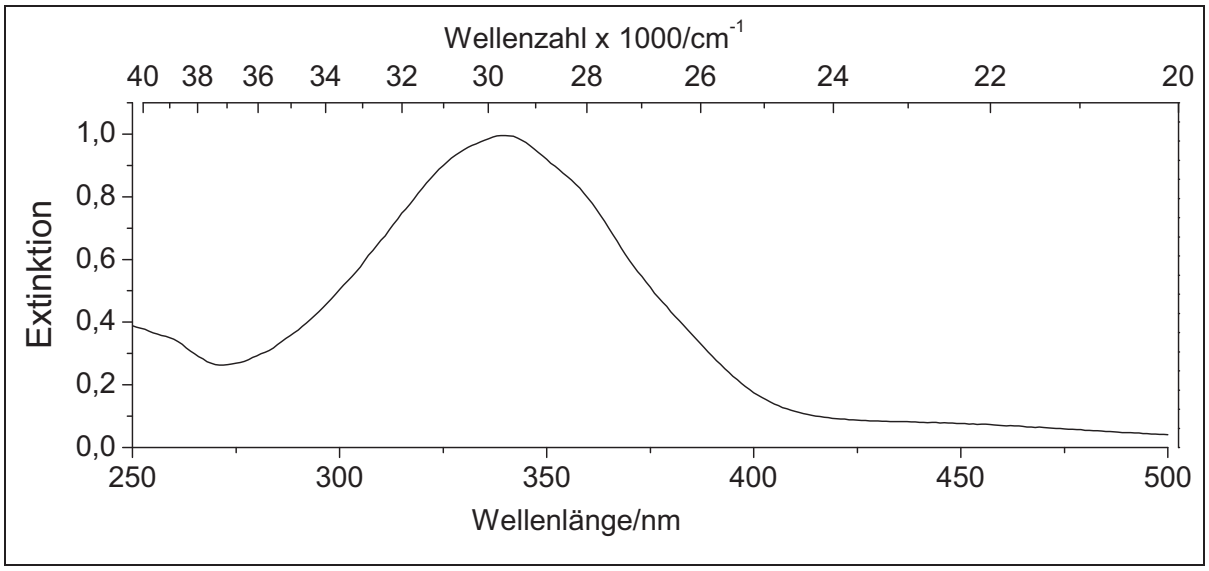


Abbildung 6.376: UV-Vis-Spektrum von **AB19** in Methanol (c = 513 µmol/l, d = 1 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 340 (19400 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

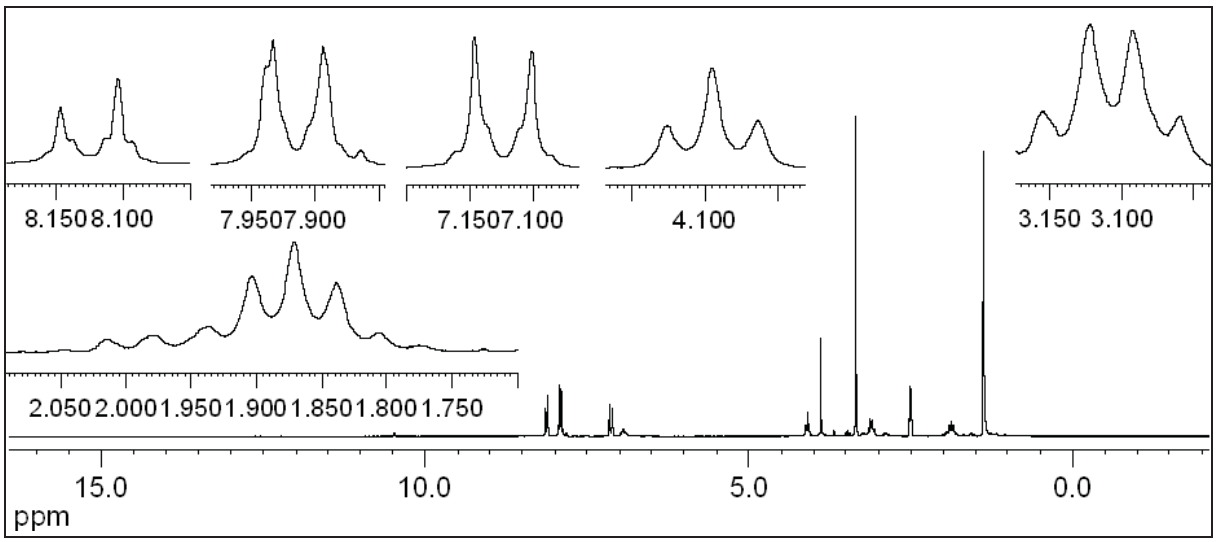


Abbildung 6.377: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6), **AB19**.

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

δ = 8.08-8.17 (m, 2 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3), 7.85-7.96 (m, 4 H, B-Teil eines [AB]$_2$-Systems und A-Teil eines [AB]$_2$-Systems, H-b und H-2), 7.07-7.18 (m, 2 H, A-Teil eines [AB]$_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 9.0 Hz, H-c), 6.69 (bs, 1 H, H-h), 4.09 (t, 2 H, $^{3}J_{ef}$ = 6.1 Hz, H-e), 3.88 (s, 3 H, H-6), 3.11 (dt, 2 H, $^{3}J_{gf}$ = 6.4 Hz, $^{3}J_{gh}$ = 6.0 Hz, H-g), 1.75-2.05 (m, 2 H, H-f), 1.37 (s, 9 H, H-k) ppm.

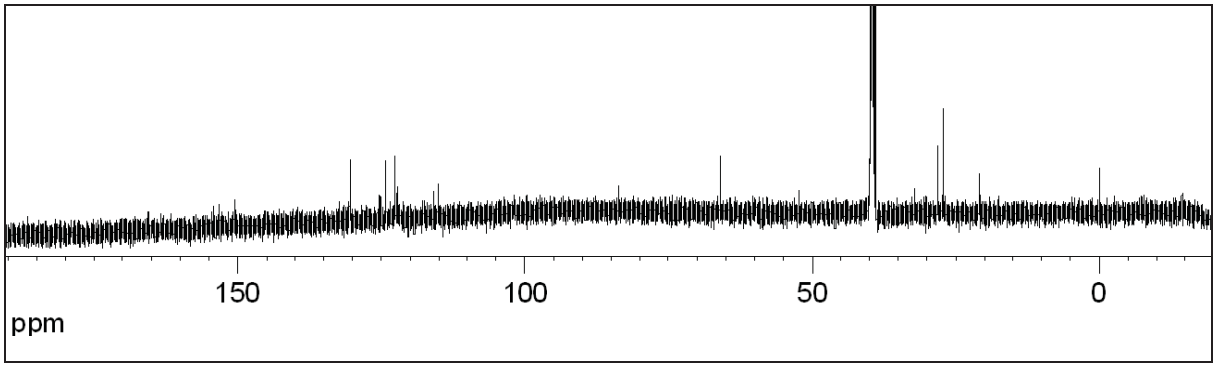


Abbildung 6.378: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6), **AB19**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

δ = 165.5 (s, C-5), 161.7 (s, C-d), 154.2 (s, C-1), 153.2 (s, C-i), 150.0 (s, C-a), 132.5 (s, C-4), 130.4 (s, C-3), 124.1 (s, C-b), 122.6 (s, C-2), 115.1 (s, C-c), 83.8 (s, C-j), 66.1 (s, C-e), 52.4 (s, C-6), 38.8 (s, C-g), 28.1 (s, C-f), 27.2 (s, C-k) ppm.

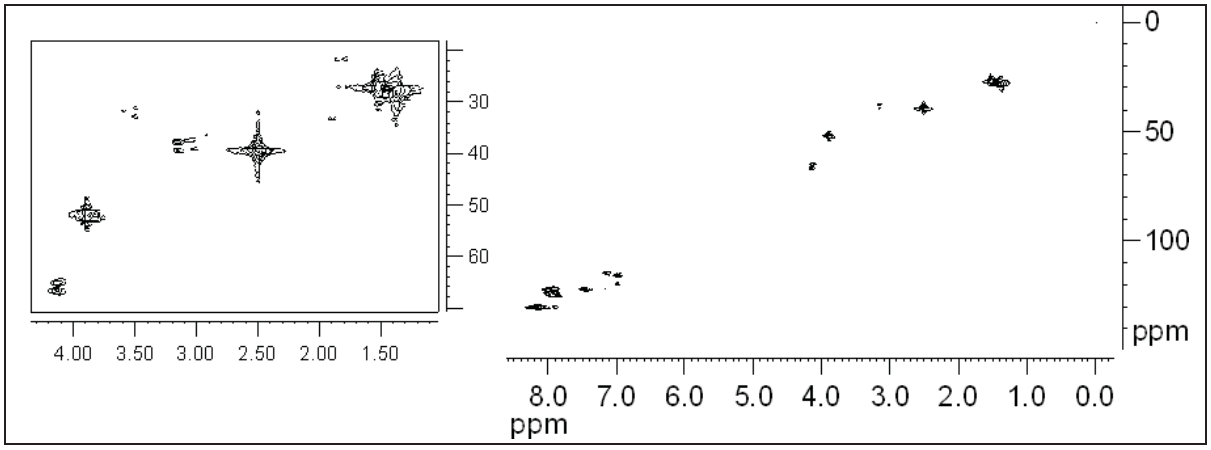


Abbildung 6.379: HMQC (^{1}H-^{13}C, 500 MHz, DMSO-d_6), **AB19**.

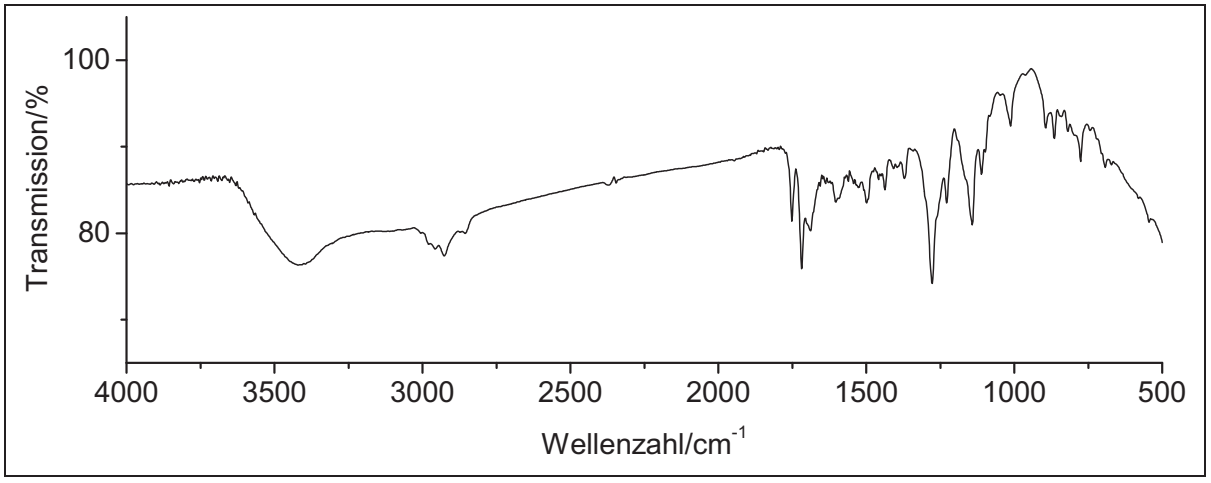
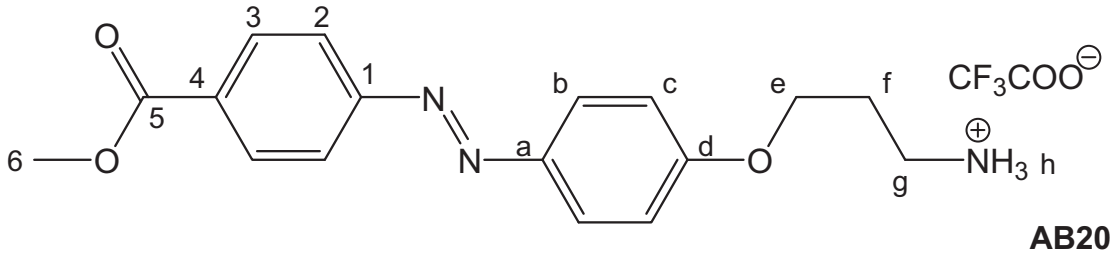


Abbildung 6.380: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB19**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3418 (N-H Valenzschwingung), 2926 (C-H Valenzschwingung), 2855 (O-**CH_3** Valenzschwingung), 1751 und 1718 (C=O Valenzschwingung), 1603, 1593 und 1499 (C=C Valenzschwingung im Aromaten), 1436 (C-H Deformationsschwingung), 1371 (**CH_3** Deformationsschwingung), 1278 und 1142 (C-O asym. Valenzschwingung), 837 und 820 (zwei H eines 1,4-substitutierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 114: (3-{4-[(4-Methoxycarbonyl)phenyldiazenyl]phenoxy}-propylammonium)-trifluoracetat (AB20)



AB20

Unter Feuchtigkeitsausschluss werden 68 mg (170 µmol) Methyl-4-({4-[3-(*tert*-butoxycarbonylamino)propoxy]phenyl}diazenyl)benzoat (**AB19**) in 2 ml Methylenchlorid zur Analyse gelöst. 6 Tropfen Trifluoressigsäure in 1 ml Methylenchlorid zur Analyse werden zugegeben. Die Lösung wird 1 d bei Raumtemperatur gerührt. Der Abnahme des Edukts wird mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60; Hexan/Diethylether 1/1) beobachtet (R_f= 0.3). Das entstehende Produkt **AB20** bleibt liegen (R_f= 0).

Nach vollständigem Umsatz des Edukts wird die Reaktionslösung auf 100 ml Diethylether gegeben. Ausfallender Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und unter vermindertem Druck getrocknet.

$C_{17}H_{19}N_3O_3 \cdot CF_3COOH$ (M = 427.37 g/mol)

Ausbeute: 52 mg (120 µmol, 72 %) **AB20**

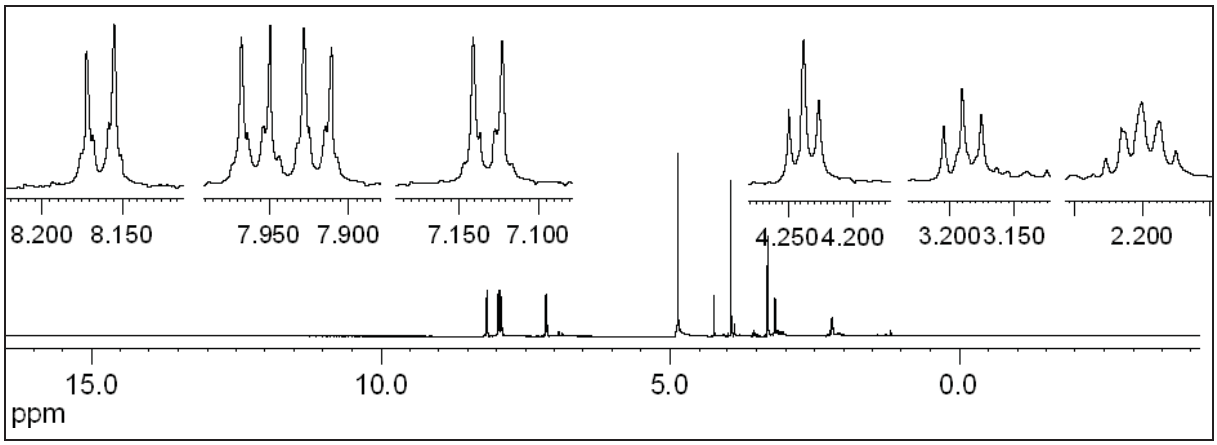
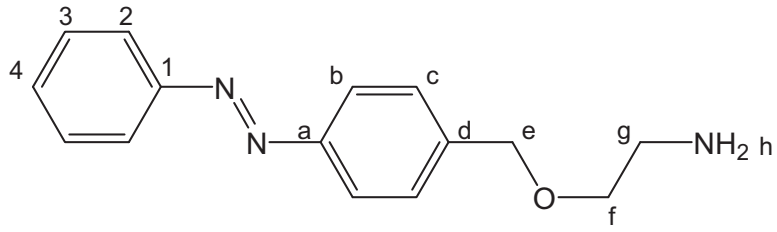


Abbildung 6.381: ^{1}H-NMR (500 MHz, Methanol-d_4), **AB20**.

^{1}H-NMR (500 MHz, Methanol-d_4):

δ = 8.14-8.18 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{32}$ = 8.6 Hz, H-3), 7.94-7.98 (m, 2 H, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 9.0 Hz, H-b), 7.90-7.94 (m, 2 H, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{23}$ = 8.6 Hz, H-2), 7.11-7.15 (m, 2 H, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 9.0 Hz, H-c),4.24 (t, 2 H, $^{3}J_{ef}$ = 5.8 Hz, H-e), 3.94 (s, 3 H, H-6), 3.19 (bt, 2 H, $^{3}J_{hg}$ = 7.3 Hz, H-h), 2.20 (tt, 2 H, $^{3}J_{gf}$ = 5.9 Hz, $^{3}J_{gh}$ = 7.2 Hz, H-g) ppm.

Versuch 115: 2-[4-(Phenyldiazenyl)benzyloxy]ethylamin (AB21)



AB21

61 mg (1.0 mmol) 2-Aminoethanol (**181**) und 43 mg (1.1 mmol) 60%iges Natriumhydrid in 2.5 ml abs. Tetrahydrofuran werden 45 min zu Rückfluss erhitzt. In 2 ml abs. Tetrahydrofuran werden 250 mg (0.91 mmol) 4-(Brommethyl)azobenzol (**AB15**) gelöst und zur Reaktionsmischung hinzu gegeben. Man erhitzt weitere 2 h zum Rückfluss.

Nach dem Abkühlen werden 2 Tropfen Wasser der Lösung zugesetzt, um noch vorhandenes Natriumhydrid zu hydrolysieren. Das Wasser wird anschließend durch Filtration der Reaktionslösung über Magnesiumsulfat entfernt. Die Lösung wird über Nacht bei 5 °C gelagert. Es fällt ein goldfarbener Feststoff aus, welcher abfiltriert wird.

$C_{152}H_{17}N_3O_1$ (M = 255.31 g/mol)

Ausbeute: 96 mg (380 µmol, 41 %) **AB21**

Das Produkt **AB21** wurde als *cis-/trans*-Isomerengemisch erhalten. Das Isomerenverhältnis wurde aus dem Verhältnis der ^{1}H-NMR Signalen von H-e bestimmt. Es setzt sich aus 72 % *trans*- und 28 % *cis*-Isomer zusammen.

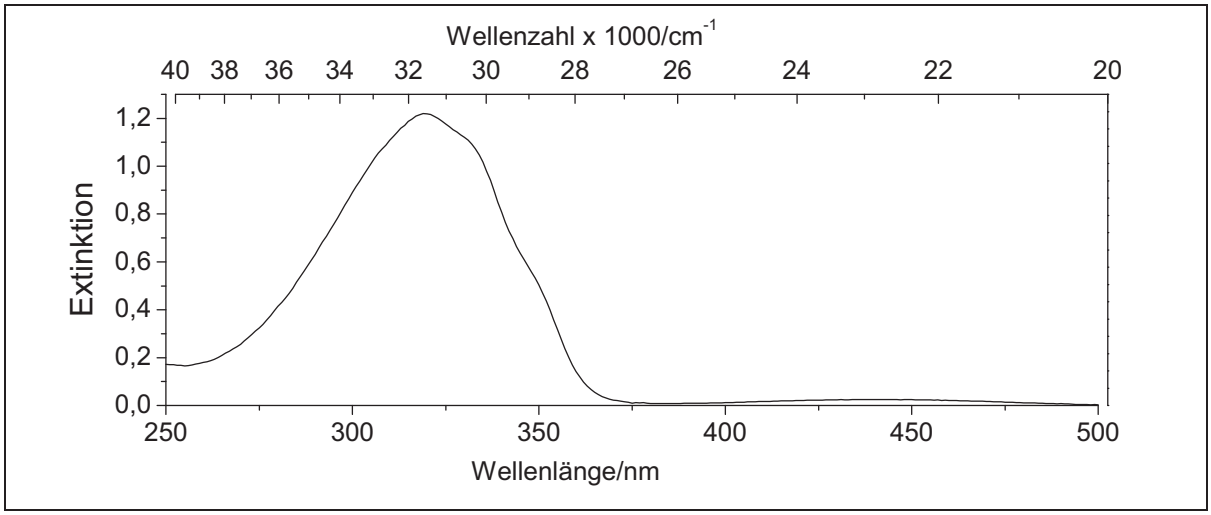


Abbildung 6.382: UV-Vis-Spektrum von **AB21** in Methanol (c = 81.5 µmol/l, d = 0.5 cm).

UV-Vis (Methanol):

λ_{max} (ε_{max}) = 319 (30000 (l/mol)*cm^{-1}) nm.

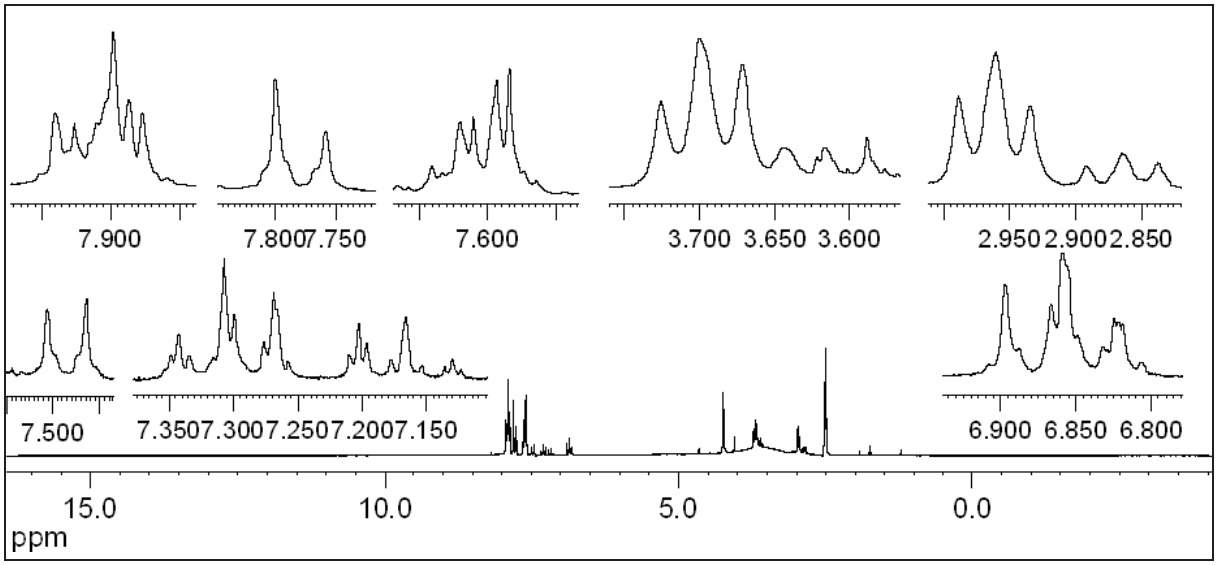


Abbildung 6.383: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6), **AB21** als Mischung des *cis*- und des *trans*-Isomers.

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6):

trans-2-[4-(Phenyldiazenyl)benzyloxy]ethanamin (**AB21**):

δ = 7.88-7.96 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.5 Hz, H-b), 7.84-7.94 (m, 2 H, C-Teil eines $[CB]_2A$-Systems, H-2), 7.74-7.82 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.5 Hz, H-c), 7.55-7.66 (m, 3 H, B- und A-Teil eines $[CB]_2A$-Systems, H-3 und H-4), 4.23 (s, 2 H, H-e), 3.70 (t, 2 H, $^3J_{fg}$ = 5.4 Hz, H-f), 2.96 (t, 2 H, $^3J_{gf}$ = 5.4 Hz, H-g) ppm.

cis-2-[4-(Phenyldiazenyl)benzyloxy]ethanamin (**AB21**):

δ = 7.44-7.52 (m, 2 H, B-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 8.5 Hz, H-b), 7.24-7.36 (m, 2 H, C-Teil eines $[CA]_2B$-Systems, H-2), 7.12-7.22 (m, 1 H, B-Teil eines $[CA]_2B$-Systems, H-4), 6.84-6.92 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 8.5 Hz, H-c), 6.79-6.87 (m, 2 H, A-Teil eines $[CA]_2B$-Systems, H-3), 4.05 (s, 2 H, H-e), 3.62 (t, 2 H, $^3J_{fg}$ = 5.5 Hz, H-f), 2.86 (t, 2 H, $^3J_{gf}$ = 5.4 Hz, H-g) ppm.

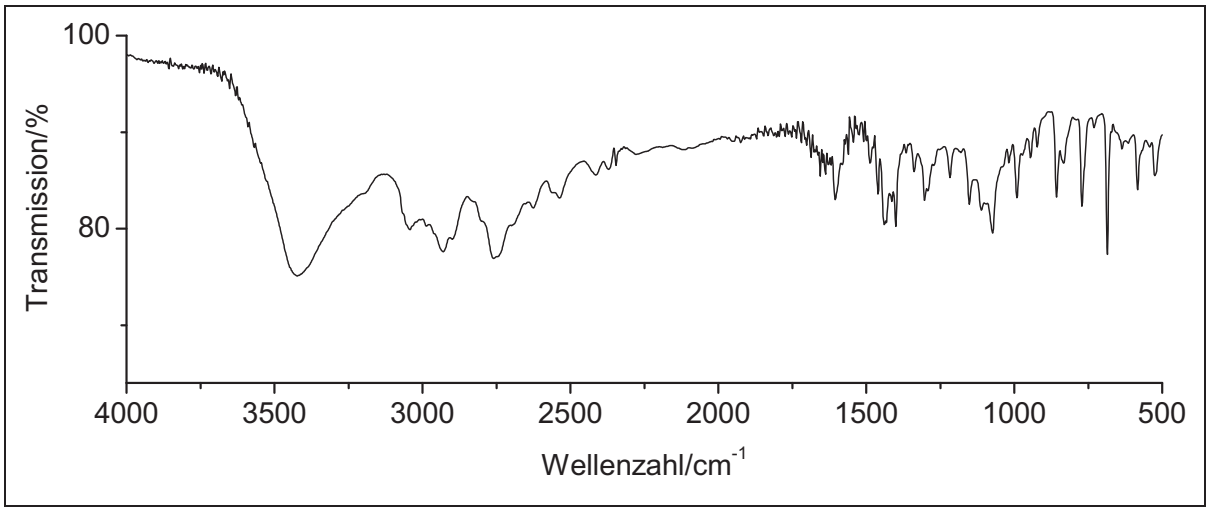
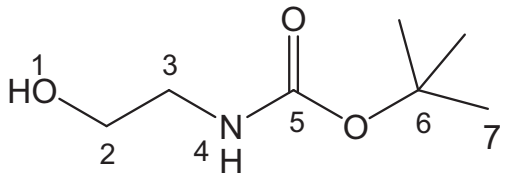


Abbildung 6.384: IR-Spektrum (KBr-Pressling**), AB21**.

IR (KBr):

ṽ = 3423 (N-H Valenzschwingung), 3042 (aromatische C-H Valenzschwingung), 2930 und 2899 (alkylische C-H Valenzschwingung), 2760 (NH_3^+ Valenzschwingung), 1605, 1544 und 1501 (aromatische C=C Valenzschwingung), 1460 und 1439 (C-H Deformationsschwingung), 1400 (symmetrische Deformationsschwingung CH_3), 1152 und 1073 (C-O Etherschwingung), 857 (zwei H eines 1,4-substituierten Aromaten), 771 und 685 (fünf H eines monosubstituierten Aromaten) cm^{-1}.

Versuch 116: *tert*-Butyl-*N*-(2-hydroxyethyl)carbamat (183)[135]#



183

Zu 5.02 g (82.2 mmol) 2-Aminoethanol (**181**) in 100 ml Methylenchlorid wird eine Lösung aus 18.0 g (82.5 mmol) Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) in 75 ml Methylenchlorid zugetropft.

Nach 15 h wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt **183** enthält noch 4 % Di-*tert*-butylcarbonat (**149**) und wurde nicht weiter aufgereinigt.

$C_7H_{15}BrNO_3$ (M = 161.20 g/mol)

Ausbeute: 12.9 g von 13.4 g (80.2 mmol, 98 %) **183** **Lit**: 92 %[135]

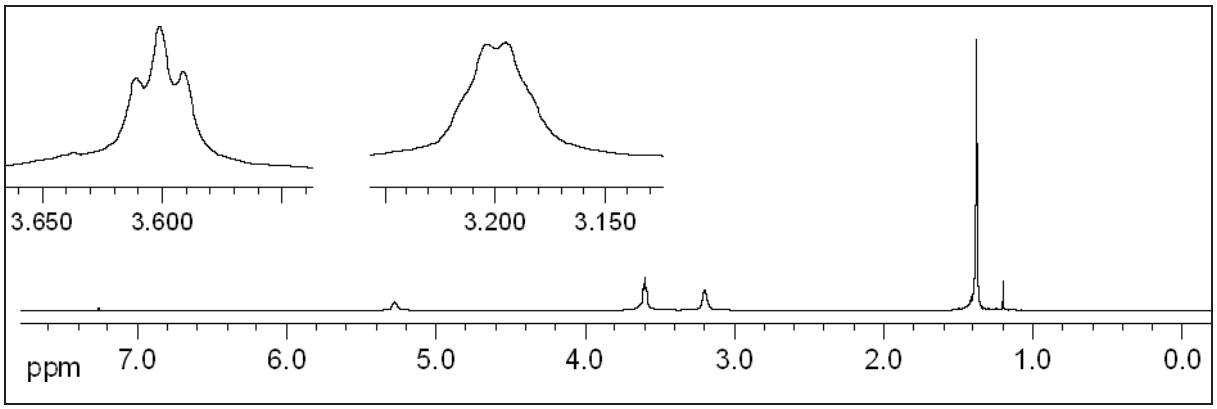


Abbildung 6.385: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **183**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):[135]*

δ = 5.28 (bs, 1 H, H-3), 3.60 (t, 2 H, $^3J_{12}$ = 4.9 Hz, H-1), 3.20 (m, 2 H, H-2), 1.38 (s, 9 H, H-6) ppm.

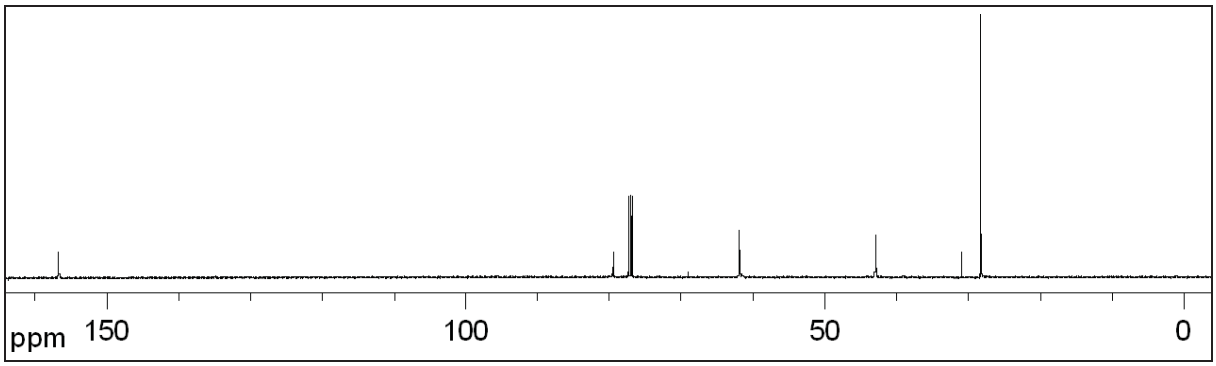
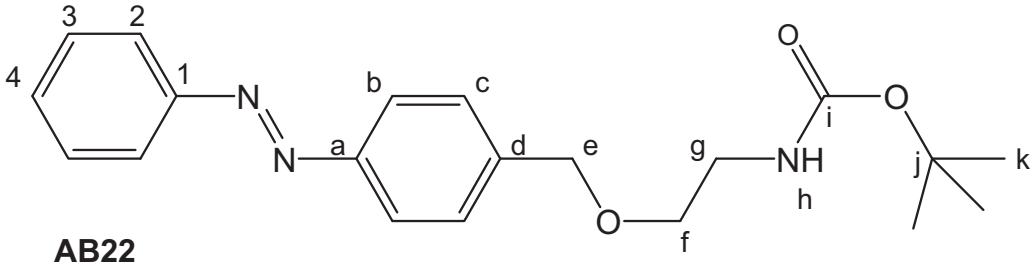


Abbildung 6.386: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), **183**.

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, $CDCl_3$):

δ = 156.7 (s, C-5), 79.4 (s, C-6), 61.9 (s, C-2), 42.9 (s, C-3), 28.3 (C-7) ppm.

Versuch 117: *tert*-Butyl-*N*-{2-[4-(phenyldiazenyl)phenylmethoxy]}-ethylcarbamat (AB22)



AB22

Zu 0.60 g (3.7 mmol) *tert*-Butyl-*N*-(2-hydroxyethyl)carbamat (**183**) in 10 ml Tetrahydrofuran zur Analyse werden 150 mg (3.8 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zugegeben. Nach 15 min werden 1.00 g (3.6 mmol) 4-Brommethylazobenzol (**AB15**) in 30 ml Tetrahydrofuran zur Analyse zugetropft. Man lässt 12 h bei Raumtemperatur rühren. Das Reaktionsgemisch wird mit 25 ml und 30 ml Diethylether versetzt. Die Phasen werden getrennt, und die wässrige Phase wird einmal mit 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.



Abbildung 6.387: AB22 als orangefarbener Feststoff.

Das Rohprodukt **AB22** wird säulenchromatographisch gereinigt. Als Laufmittel wird zunächst Hexan/Ethylacetat 95/5. Als erstes eluiert das Brommethylazobenzol **AB15**.

Ist dieses abgetrennt, so erhöht man den Ethylacetatanteil auf Hexan/Ethylacetat 4/1 und erhält das Azobenzol **AB22**.

$C_{20}H_{25}N_3O_3$ (M = 355.43 g/mol)

Ausbeute: 290 mg (820 µmol, 23 %) **AB22**

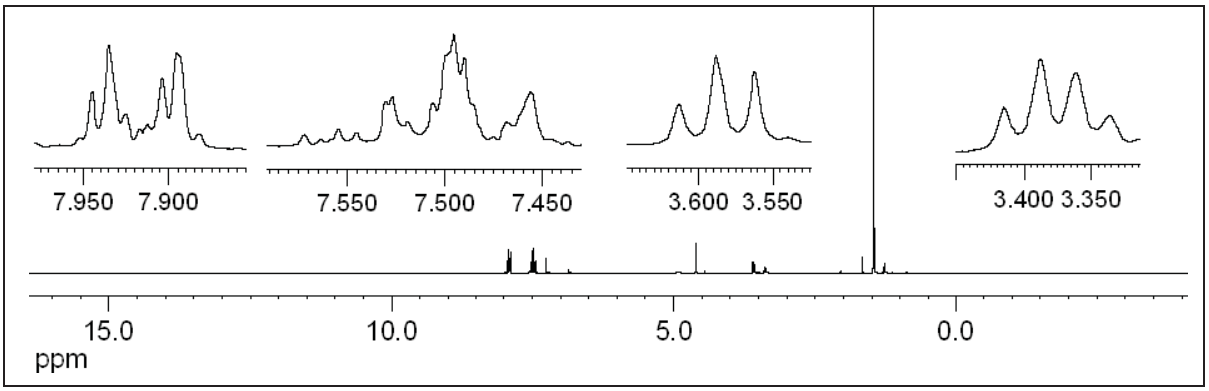


Abbildung 6.388: ^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$), **AB22**.

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$):
δ = 7.87-7.96 (m, 4 H, C-Teil des $[CB]_2$A-Systems, H-2, B-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{bc}$ = 7.9 Hz, H-b), 7.43-7.58 (m, 5 H, B- und A-Teil des $[CB]_2$A-Systems, H-3 und H-4, A-Teil des $[AB]_2$-Systems, $^{3+5}J_{cb}$ = 7.9 Hz, H-c), 4.92 (bs, 1 H, H-h), 4.60 (s, 2 H, H-e), 3.59 (t, 2 H, $^3J_{fg}$ = 5.1 Hz, H-f), 3.39 (dt, 2 H, $^3J_{gf}$ = 5.1 Hz, $^3J_{gh}$ = 5.5 Hz, H-g), 1.45 (s, 9 H, H-k) ppm.

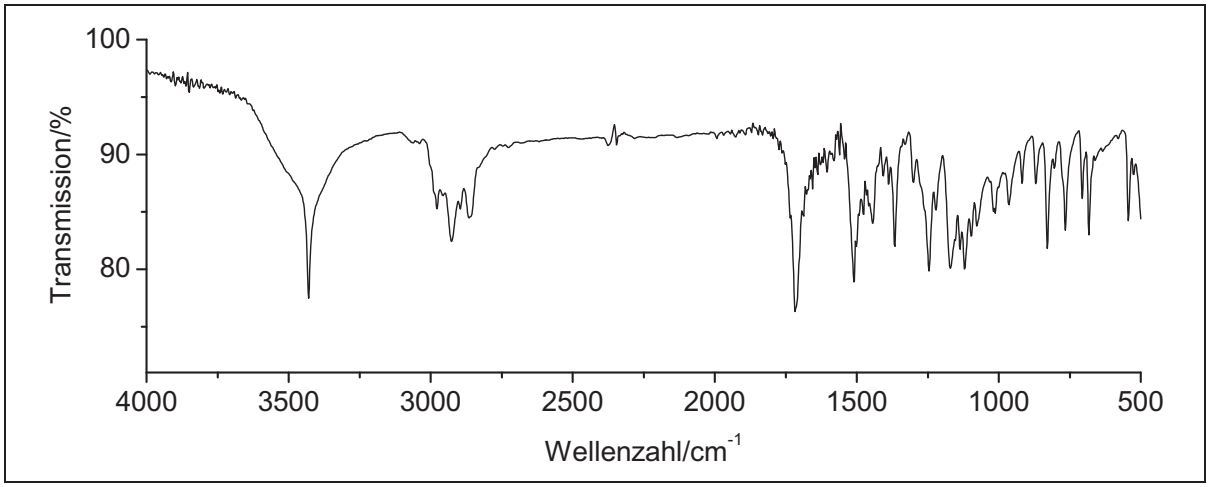


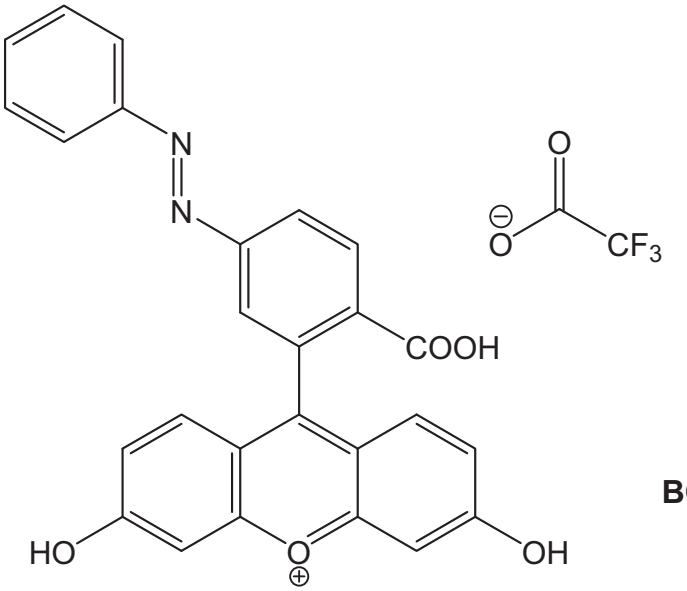
Abbildung 6.389: IR-Spektrum (KBr-Pressling), **AB22**.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3430 (N-H Valenzschwingung), 2978, 2926 und 2865 (C-H Valenzschwingung), 1717 (C=O Valenzschwingung), 1605, 1560 und 1509 (aromatische C=C Valenzschwingung), 1444 (C-H Deformationsschwingung), 1387 (symmetrische Deformationsschwingung CH_3), 1366 (spezielle CH-Absorption von –C-$(CH_3)_3$), 1246 und 1120 (C-O Etherschwingung), 1221 und 1170 (C-O δ_{asym} Esterschwingung), 829 (zwei H eines 1,4-substituierten Aromaten), 766 und 706 (fünf H eines mono-substituierten Aromaten) cm^{-1}.

6.3.2.7 Bichromophorsynthesen

Versuch 118: {9-[2-Carboxy-5-(phenyldiazenyl)phenyl]-3,6-dihydroxyxanthylium}-trifluoracetat (BC05)



BC05

498 mg (1.43 mmol) 6-Aminofluorescein (**187**) und 180 mg (1.68 mmol) Nitrosobenzol (**141**) werden in 25 ml Eisessig und 10 ml Methanol 4 h auf 80 °C erhitzt. Die Rohproduktlösung wird auf eine Filtersäule mit Kieselgel 60 (0.04 – 0.063 mm, Fluka) aufgetragen. Es wird mit viel Ethylacetat gewaschen, um den Eisessig und Teile des 6-Aminofluoresceins (**187**) zu entfernen. Anschließend wird das Rohprodukt **BC05** mit Methanol von der Filtersäule gespült. Die Lösung wird unter vermindertem Druck stark aufkonzentriert und säulenchromatographisch über YMC ODS-AQ-Kieselgel mit einer Mischung aus 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) als Laufmittel aufgereinigt. Die Zusammensetzung der so erhaltenen Fraktionen wird mittels HPLC bestimmt. Fraktionen in denen der Bichromophor **BC05** überwiegt werden vereinigt und abermals die Lösung aufkonzentriert.

Diese Lösung wird mittels HPLC aufgereinigt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben

überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 20 mm, 9-11 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm
Laufmittel	95 % Methanol, 5 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	5.0 ml/min
λ_{UV}	280, 320 und 420 nm
λ_{Flu}	Ex@360 nm, Em@550 nm
Injektionsvolumen	200 µl
Laufdauer	20.0 min
t_R (Fraktionen)	8.00-9.00 min bzw. 12.0-14.0 min

Das Lösungsmittel der vereinten Fraktionen wird unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **BC05** liegt als cis/trans-Isomerengemisch mit Retentionszeiten von 8.6 min bzw. 12.6 min vorliegt.

$C_{26}H_{17}N_2O_5^+$ CF_3COO^- (M = 550.44 g/mol)

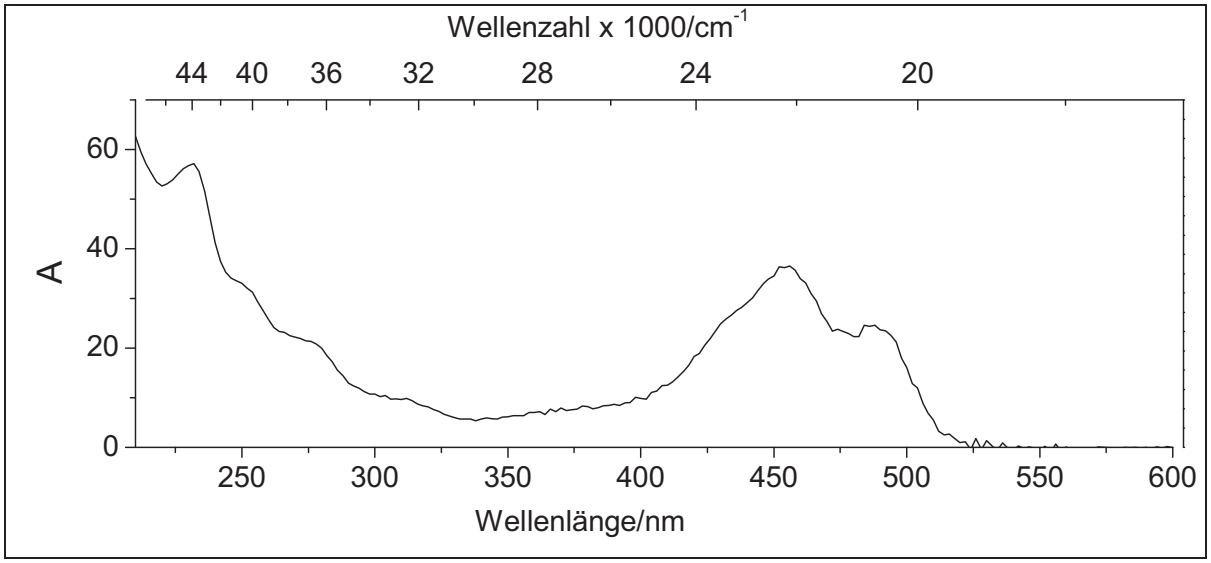


Abbildung 6.390: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; **t_R = 8.6 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

UV-Vis (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 232, 456, 484 nm.

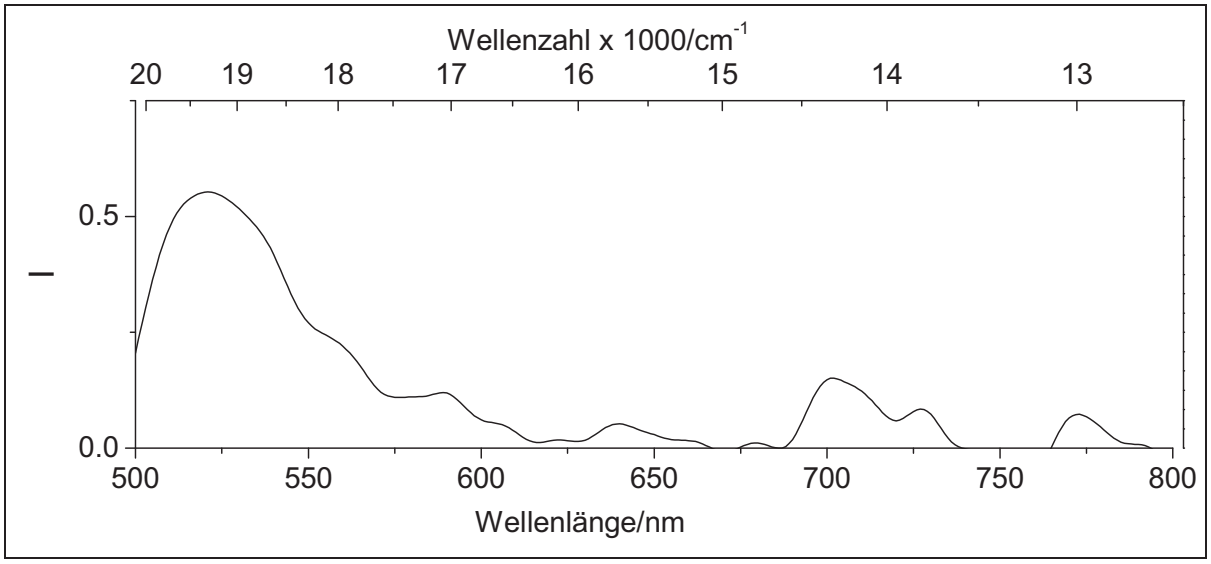


Abbildung 6.391: Fluoreszenzspektrum des *cis*-Isomers von **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; **t_R = 8.6 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 521 nm.

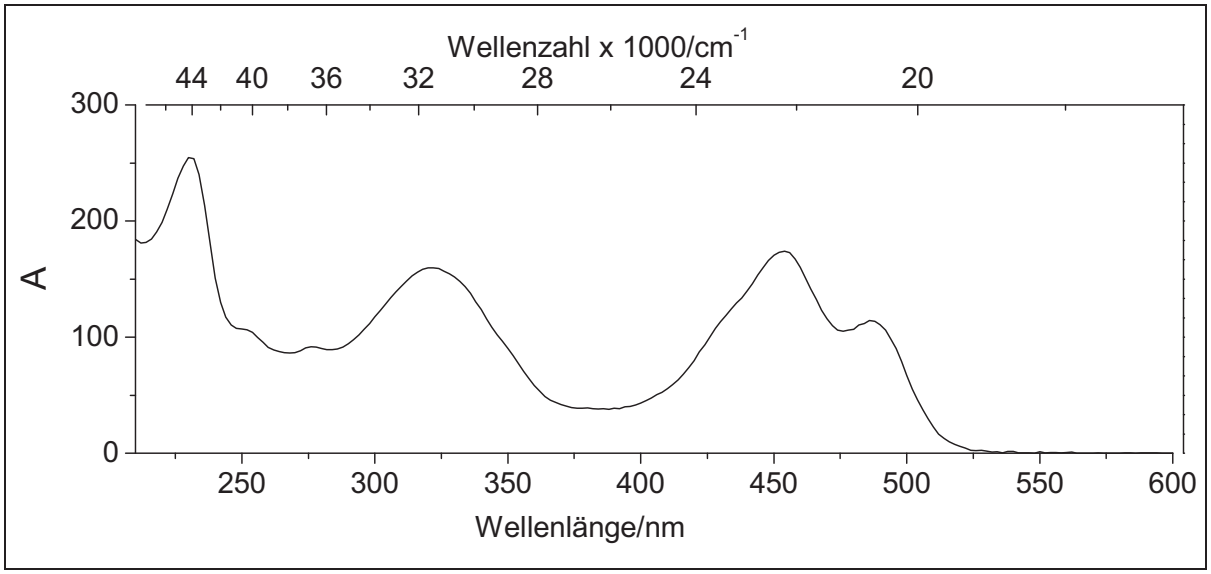


Abbildung 6.392: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; **t_R = 12.6 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

UV-Vis (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max}= 230, 320, 454, 486 nm.

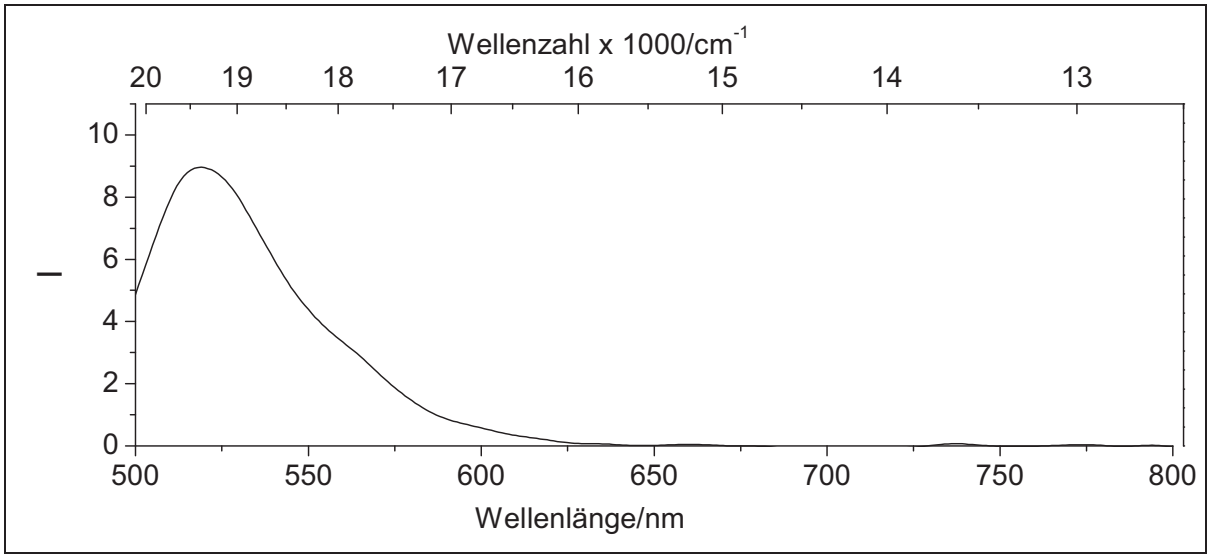
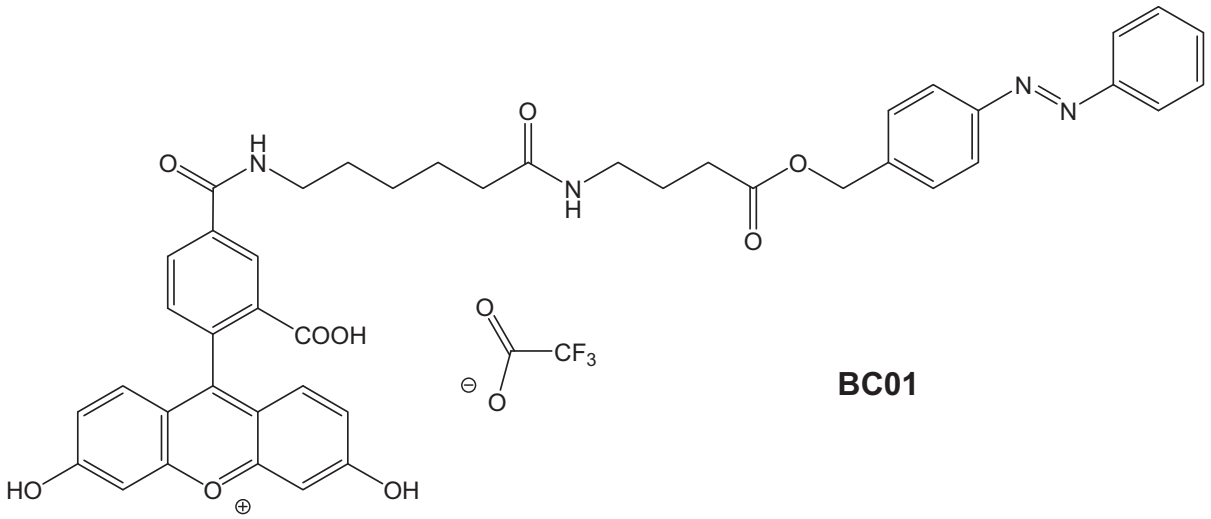


Abbildung 6.393: Fluoreszenzspektrum des t*rans*-Isomers von **BC05** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 5.0 ml/min; **t_R = 12.6 min**; YMC ODS-AQ (150 mm x 20 mm, 10 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 519 nm.

Versuch 119: {9-[2-Carboxy-4-(6-oxo-6-{4-oxo-4-[4-(phenyldiazenyl)benzyloxy]butylamino}hexylcarbamoyl)phenyl]-3,6-dihydroxyxanthylium}-trifluoracetat (BC01)



BC01

In einem 2.5 ml Fläschchen mit Septumdeckel und Rührfisch werden 20 mg (40 µmol) {4-Oxo-4-[4-(Phenyldiazenyl)phenylmethoxy]ammonium}-trifluoracetat (**AB18-TFA**) und 10 mg (20 µmol) (9-{2-Carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}-3,6-dihydroxyxanthylium)-chlorid (DY495-X5-NHS-Ester von Dyomics, **143**) in 1 ml aminfreiem Dimethylformamid gelöst. 30 µl (20 mg, 20 µmol) Diisopropylethylamin werden zugegeben und die Lösung eine Woche bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionsmischung wird zunächst über YMC ODS-AQ Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 95 % Methanol und 5 % mit Trifluoressigsäure auf pH = 3 angesäuertes Wasser filtriert, da HPLC-Voruntersuchungen des Rohprodukts gezeigt haben, dass hier **BC01** die kürzeste Rententionszeit aufwies. Dabei werden alle fluoreszierenden Fraktionen vereint und das Lösungsmittel im Vakuum einer Membranpumpe auf 1.5 ml eingeengt.

Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wird mittels HPLC aufgereinigt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm
Laufmittel	80 % Methanol, 20 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	2.4 ml/min
λ_{UV}	254, 320 und 450 nm
λ_{Flu}	Ex@400 nm, Em@500 nm
Injektionsvolumen	50 µl
Laufdauer	20.0 min
t_R (Fraktionen)	10.1-10.8 min

Das Lösungsmittel der vereinigten Fraktionen wird unter vermindertem Druck entfernt.

Man erhält den Bichromophor **BC01** als *cis/trans*-Isomerengemisch; t_R(*cis*-Isomer) = 5.0 min, t_R(*trans*-Isomer) 10.0 min.

$C_{44}H_{41}N_4O_9^+ \cdot CF_3COO^-$ (M = 882.83 g/mol)

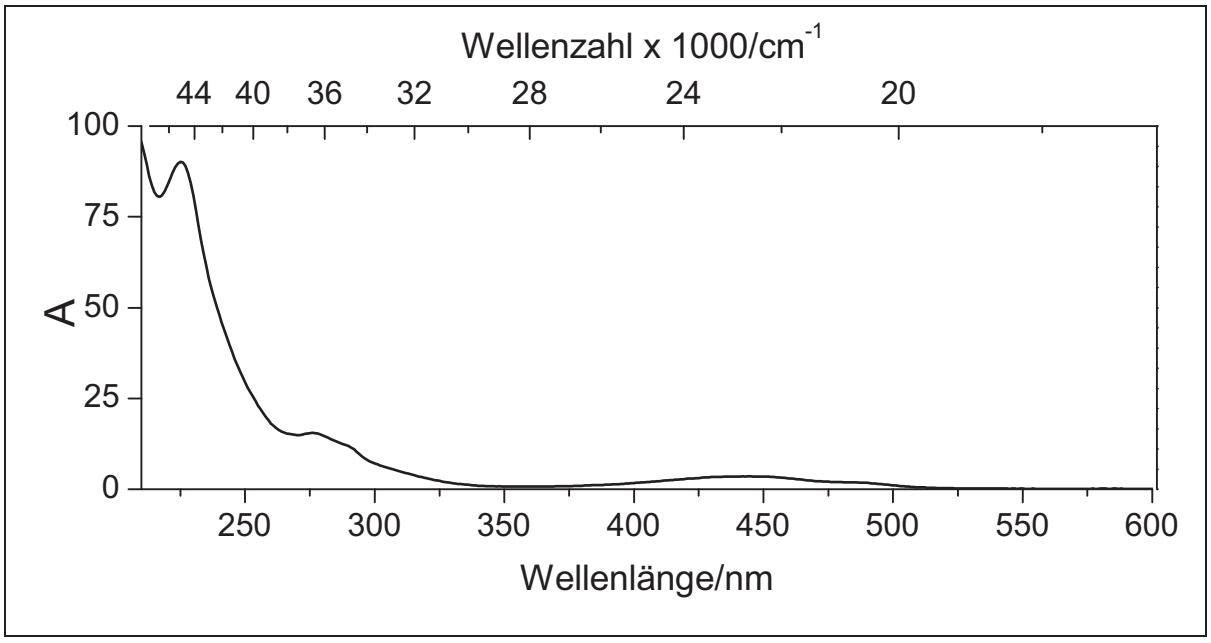


Abbildung 6.394: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 225, 276, 444 nm.

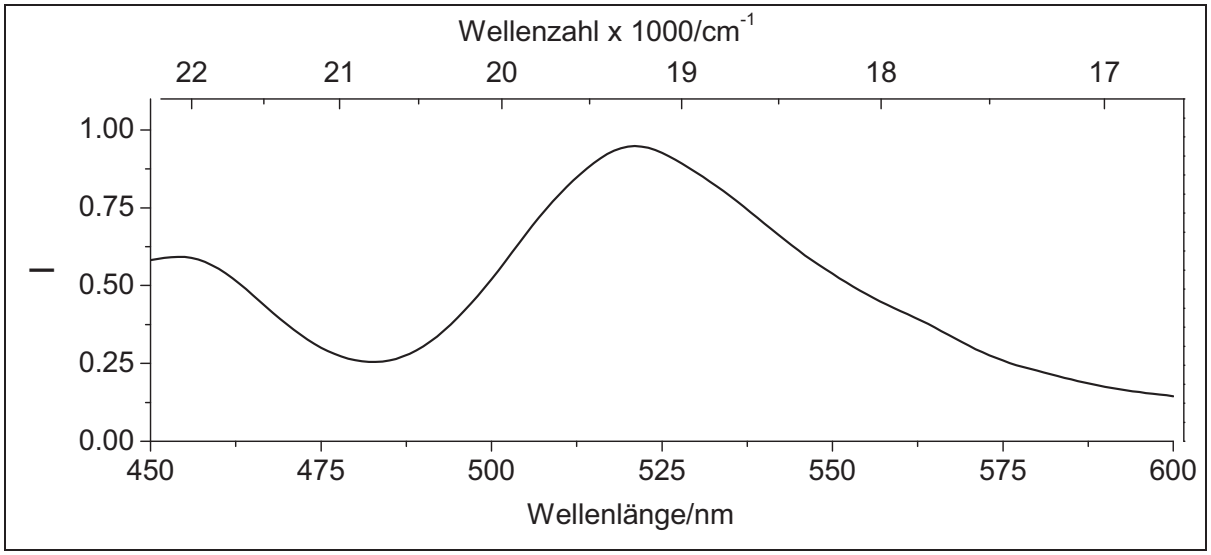


Abbildung 6.395: Fluoreszenzspektrum des *cis*-Isomers von **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 5.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@400 nm) = 521 nm.

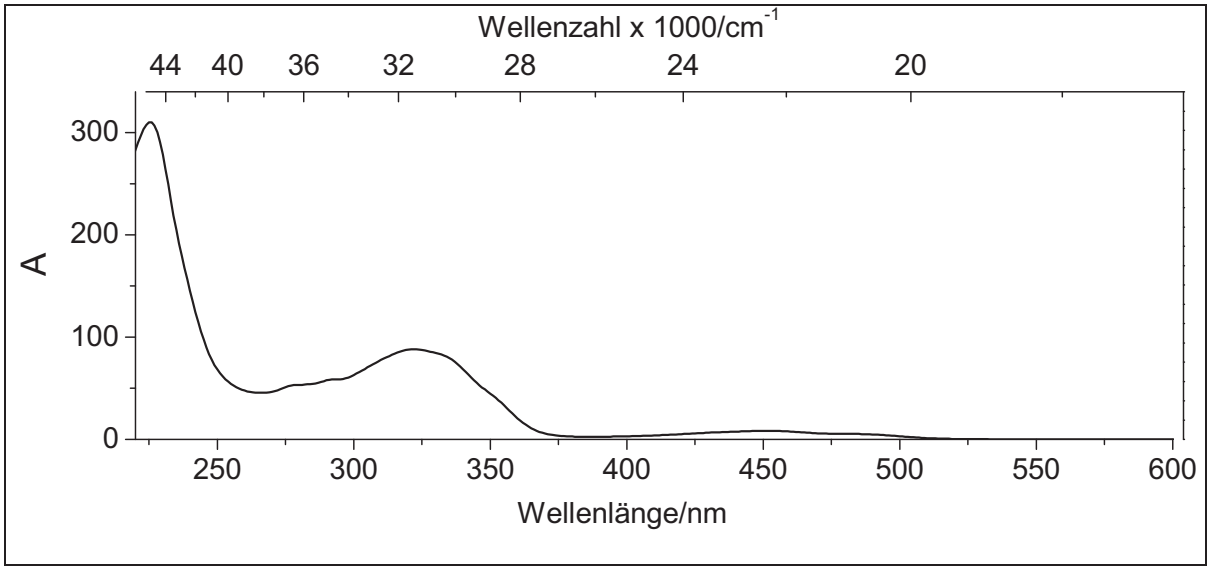


Abbildung 6.396: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 10.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 225, 322, 451 nm.

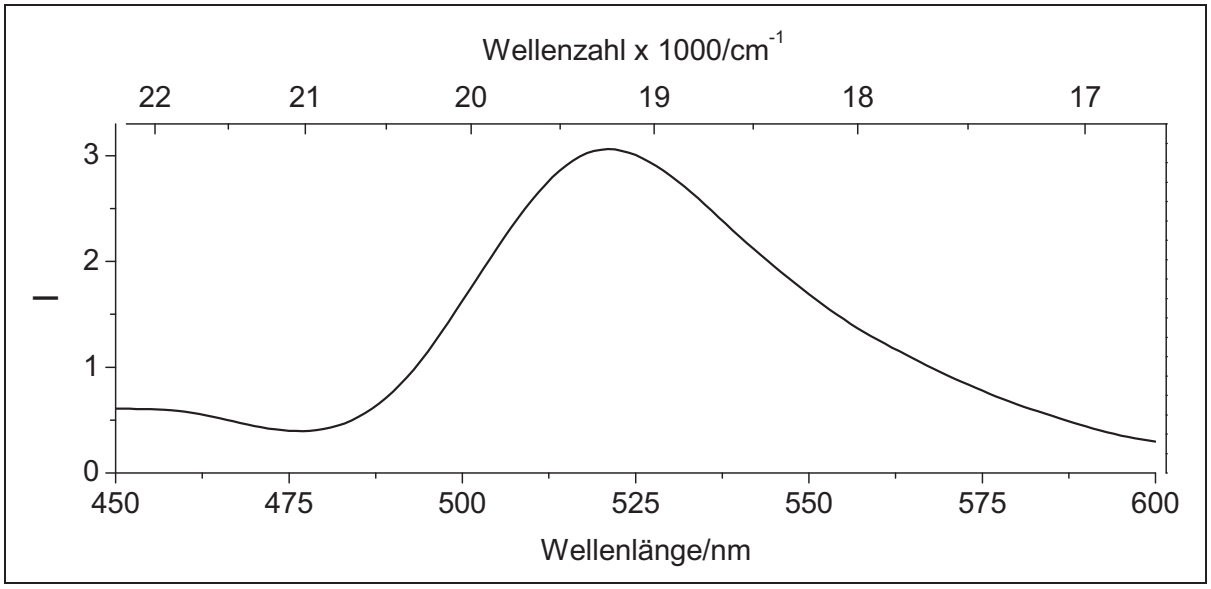
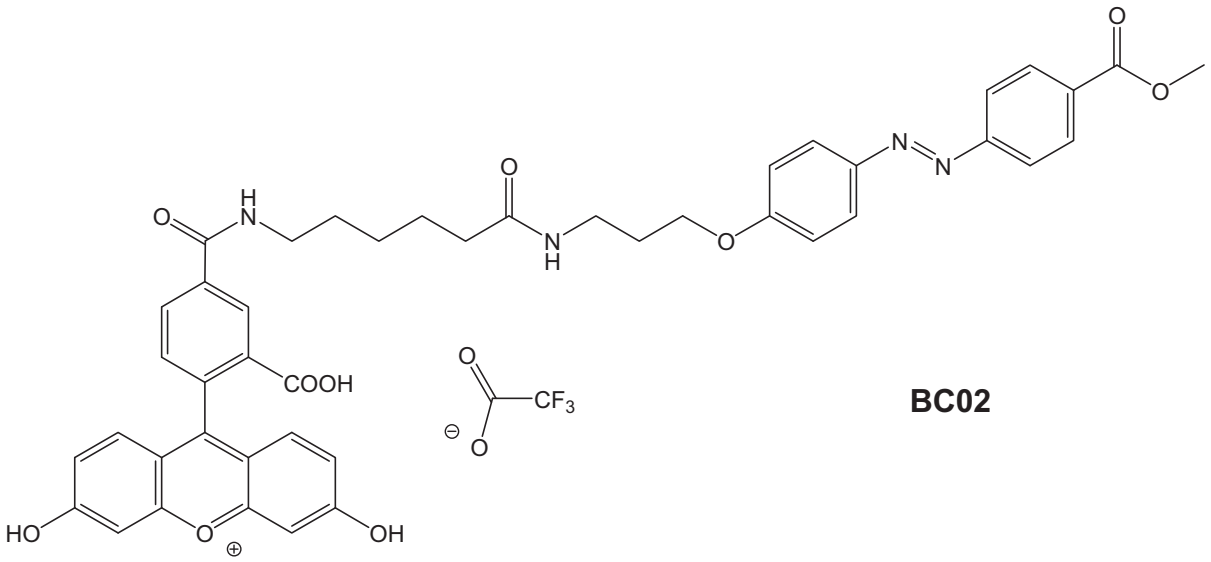


Abbildung 6.397: Fluoreszenzspektrum des *trans*-Isomers von **BC01** in 80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 10.0 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@400 nm) = 521 nm.

Versuch 120: [9-(2-Carboxy-4-{6-[3-(4-{[4-(methoxycarbonyl)-phenyl]diazenyl}phenoxy)propylamino]-6-oxohexylcarbamoyl}-phenyl)-3,6-dihydroxyxanthylium]-trifluoracetat (BC02)



BC02

In einem 2.5 ml Fläschchen mit Septumdeckel und Rührfisch werden einige Krümel (3-{4-[(4-Methoxycarbonyl)phenyldiazenyl]phenoxy}propylammonium)-trifluoracetat (**AB20**), 5 Tropfen Diisopropylethylamin und einige Kristalle (9-{2-Carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}-3,6-dihydroxyxanthylium)-chlorid (DY495-X5-NHS-Ester von Dyomics, **143**) in 1 ml aminfreiem Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels HPLC und dem Vergleich mit Referenzproben der Edukte. Die Reaktionsmischung wird zunächst säulenchromatisch über YMC ODS-AQ Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 95 % Methanol und 5 % mit Trifluoressigsäure auf pH = 3 angesäuertes Wasser vorgereinigt. Die Fraktion mit der höchsten Bichromophorkonzentration wird zur weiteren Reinigung ausgewählt.

Die vorgereinigte Rohproduktfraktion wird mittels HPLC aufgereinigt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm
Laufmittel	80 % Methanol, 20 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	2.4 ml/min
λ_{UV}	280, 320 und 450 nm
λ_{Flu}	Ex@360 nm, Em@550 nm
Injektionsvolumen	20 µl
Laufdauer	6.0 min
t_R (Fraktionen)	4.30-4.60 min

Das Lösungsmittel der vereinigten gesammelten Fraktionen wird unter vermindertem Druck entfernt.

Ein erneutes auftragen auf die HPLC zeigt, dass man den Bichromophor **BC02** als cis/trans-Isomerengemisch erhält; t_R(cis-Isomer) = 3.6 min, t_R(trans-Isomer) = 4.4 min. Die Menge des Rückstands ist für weitere spektroskopische Untersuchungen zu gering.

$C_{44}H_{41}N_4O_{10}^{+}\cdot CF_3COO^{-}$ (M = 898.83 g/mol)

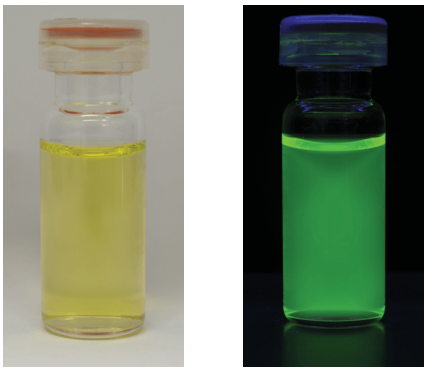


Abbildung 6.398: Methanolische Lösung von **BC02**.

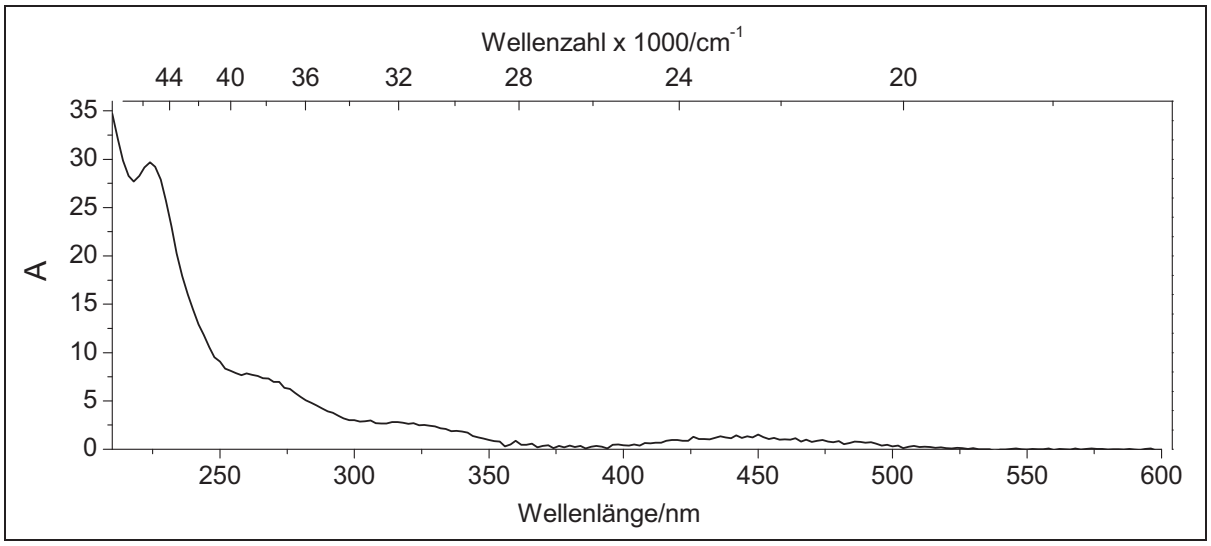


Abbildung 6.399: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC02** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 3.6 min**; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

UV-Vis (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 224, 260, 314, 450 nm.

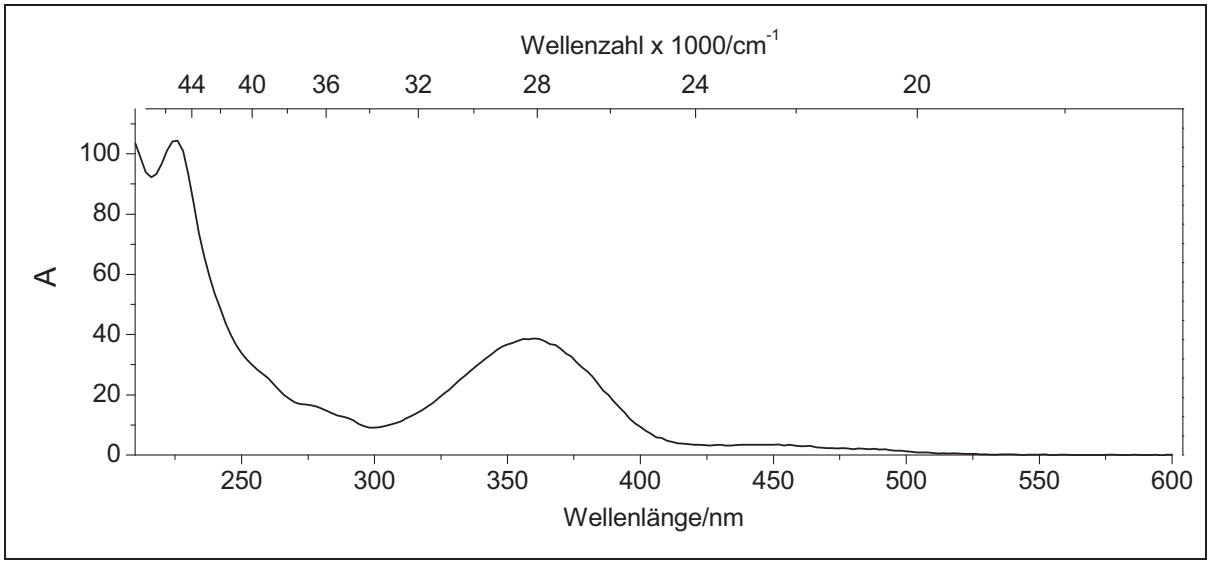
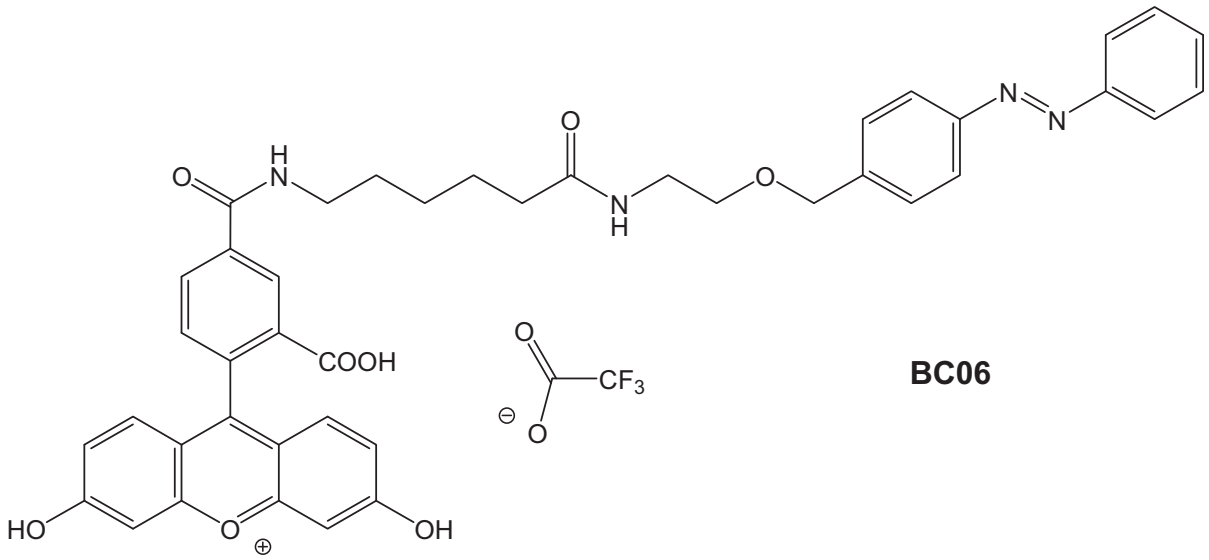


Abbildung 6.400: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC02** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.4 min**; ; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

UV-Vis (80 % Methanol und 20 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 226, 360, 457 nm.

Versuch 121: {9-[2-Carboxy-4-(6-oxo-6-{2-[4-(phenyldiazenyl)benzyloxy]ethylamino}hexylcarbamoyl)phenyl]-3,6-dihydroxyxanthylium}-trifluoracetat (BC06)



BC06

In einem 10 ml Rundkolben mit Septum und Rührfisch werden einige Kristalle 2-[4-(Phenyldiazenyl)benzyloxy]ethylamin (**AB21**), 3 Tropfen Diisopropylethylamin und einige Kristalle (9-{2-Carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}-3,6-dihydroxyxanthylium)-chlorid (DY495-X5-NHS-Ester von Dyomics, **143**) in 5 ml aminfreiem Dimethylformamid gelöst. Das Azobenzol **AB21** wird dabei im Überschuss eingesetzt. Die Lösung wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels HPLC und dem Vergleich mit Referenzproben der Edukte.

Die Reaktionsmischung wird zunächst säulenchromatisch über YMC ODS-AQ Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 90 % Methanol und 10 % mit Trifluoressigsäure auf pH = 3 angesäuertes Wasser vorgereinigt.

Fluoreszierende Fraktionen werden mittels HPLC untersucht. Die Fraktionen mit der höchsten Bichromophorkonzentration werden zur weiteren Reinigung ausgewählt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm
Laufmittel	90 % Methanol, 10 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	2.4 ml/min
λ_{UV}	280, 320 und 450 nm
λ_{Flu}	Ex@360 nm, Em@550 nm
Injektionsvolumen	50 µl
Laufdauer	7.0 min
t_R (Fraktionen)	4.20-5.40 min

Das Lösungsmittel der gesammelten vereinigten Bichromophorfraktionen wird unter vermindertem Druck entfernt.
Die Menge des Rückstands ist für weitere spektroskopische Untersuchungen zu gering.

$C_{42}H_{39}N_4O_8^+ \cdot CF_3COO^-$ (M = 840.80 g/mol)

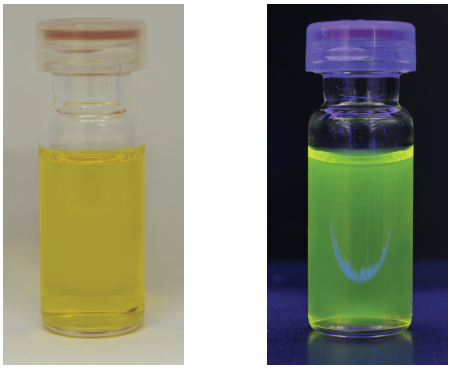


Abbildung 6.401: Methanolische Lösung von **BC06**.

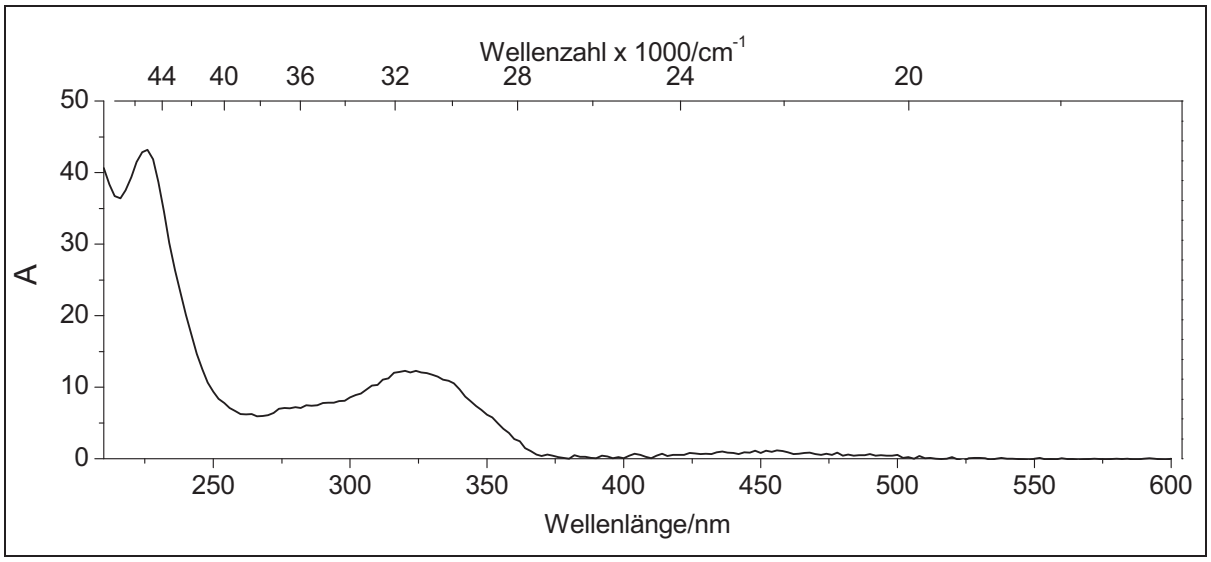


Abbildung 6.402: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.6 min**; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

UV-Vis (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 226, 320 nm.

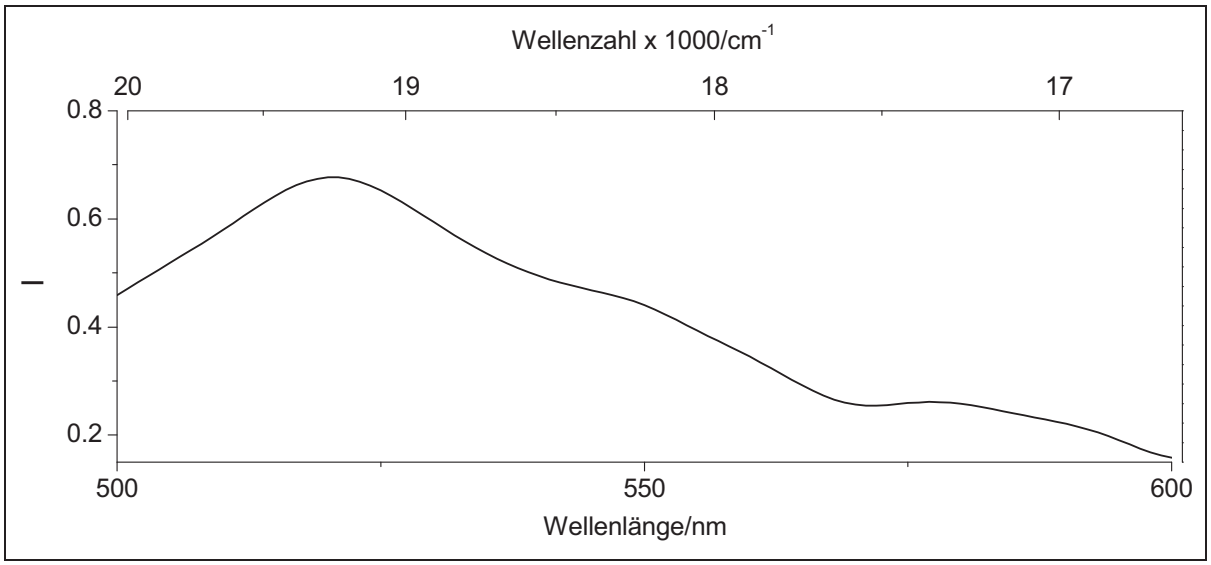


Abbildung 6.403: Fluoreszenzspektrum des *cis*-Isomers von **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 4.6 min**; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

Fluoreszenz (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 520 nm.

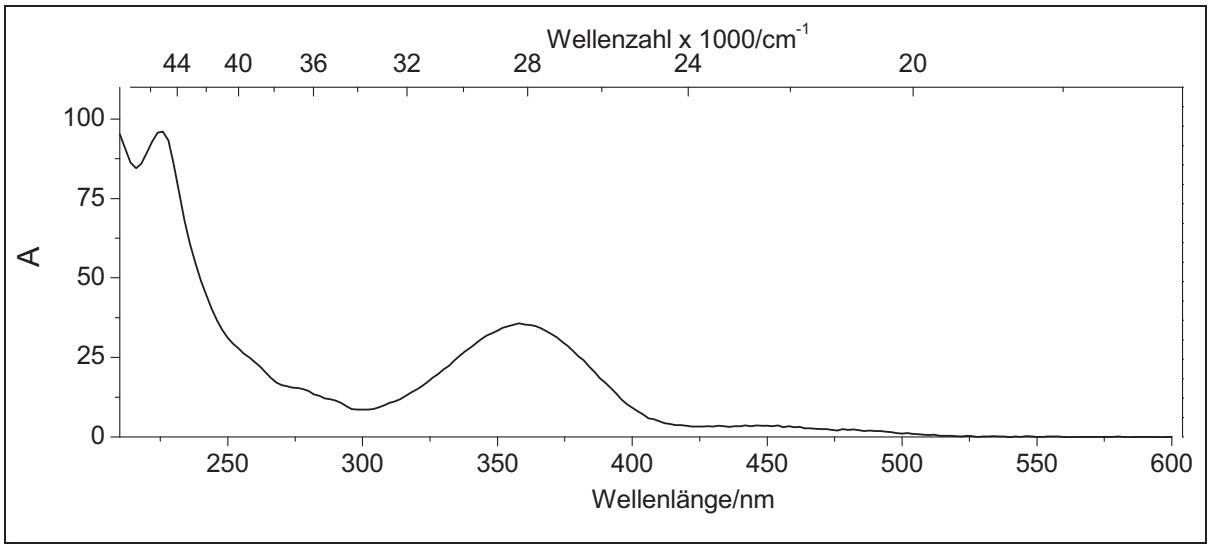


Abbildung 6.404: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

UV-Vis (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 226, 358 nm.

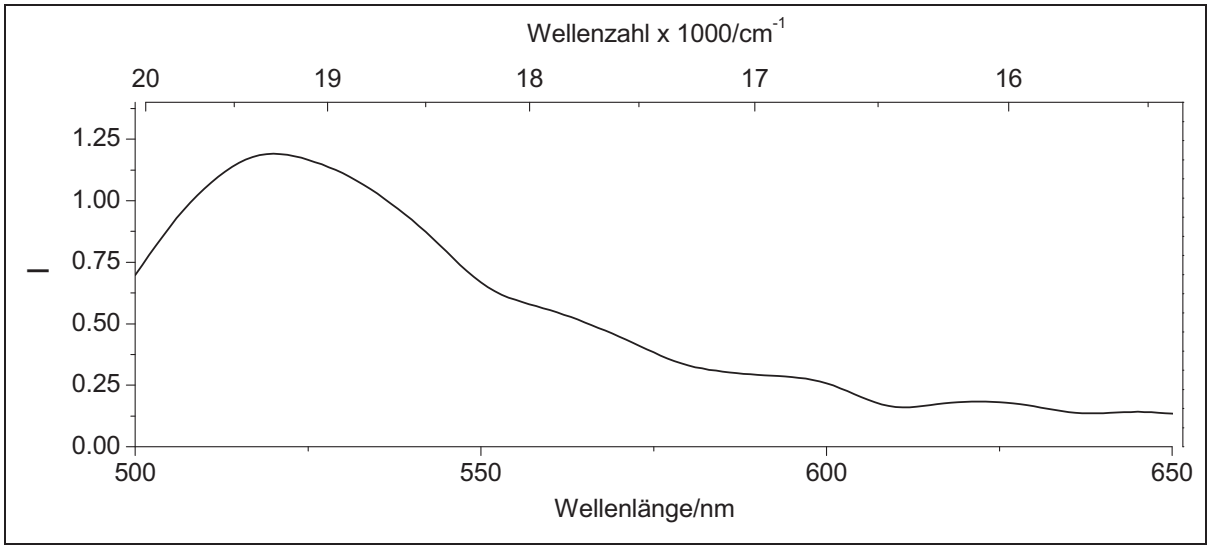
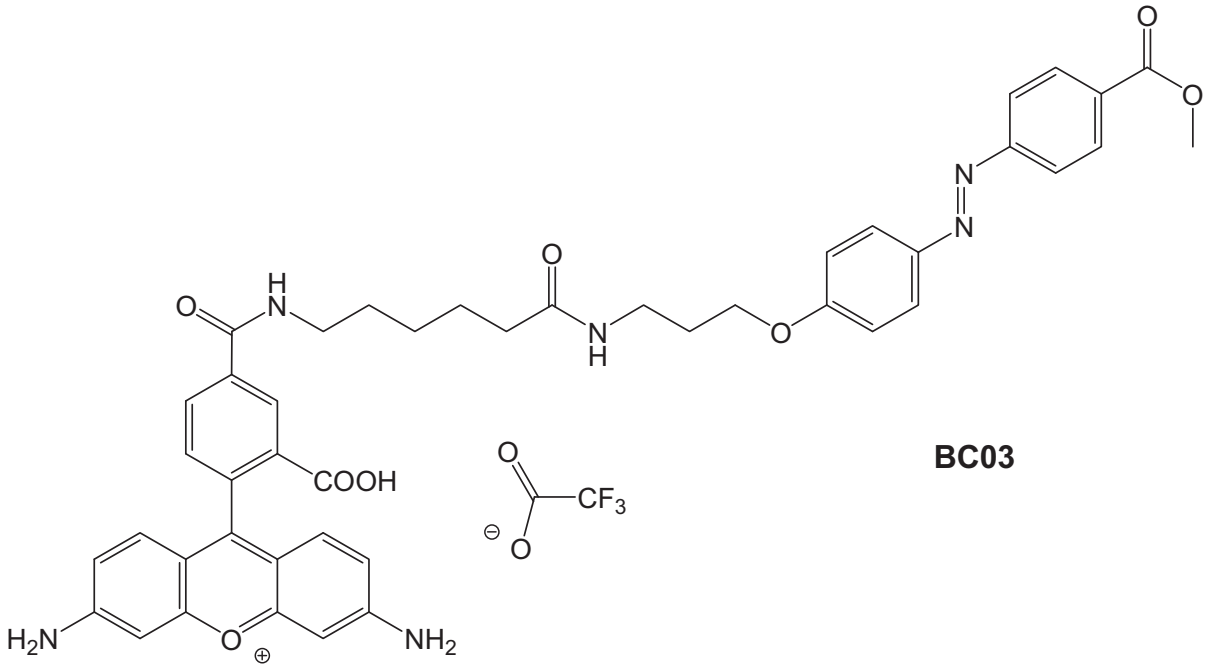


Abbildung 6.405: Fluoreszenzspektrum des *trans*-Isomers von **BC06** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.4 ml/min; **t_R = 5.0 min**; YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm.

Fluoreszenz (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 520 nm.

Versuch 122: [3,6-Diamino-9-(2-carboxy-4-{6-[3-(4-{[4-(methoxy-carbonyl)phenyl]diazenyl}phenoxy)propylamino]-6-oxohexyl-carbamoyl}phenyl)xanthylium]-trifluoracetat (BC03)



BC03

In einem 5 ml Rundkolben mit Septum werden einige Kristalle (3-{4-[(4-Methoxy-carbonyl)phenyldiazenyl]phenoxy}propylammonium)-trifluoracetat (**AB20**), 3 Tropfen Diisopropylethylamin und einige Kristalle (3,6-Diamino-9-{2-carboxy-4-[6-(2,5-dioxo-pyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}xanthylium)-chlorid (DY505-X5-NHS-Ester von Dyomics, **144**) in 1 ml Dimethylformamid gelöst. Das Azobenzol **AB20** wird dabei im Überschuss eingesetzt. Die Lösung wird 7 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels HPLC und dem Vergleich mit Referenzproben der Edukte.

Die Reaktionsmischung wird zunächst säulenchromatisch über YMC ODS-AQ Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3) vorgereinigt. Fluoreszierende Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt **BC03** wird in einem Gemisch aus 50 % Methanol und 50 % Wasser/TFA (pH = 3) gelöst und über YMC ODS-AQ Kieselgel filtriert. Es wird so lange Laufmittel extrahiert bis die austretende Lösung farblos ist. Anschließend wird Die erwünschte Rohproduktfraktion mit Methanol heruntergewaschen. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck auf 1.5 ml aufkonzentriert.

Die vorgereinigte Rohproduktlösung wird mittels HPLC aufgereinigt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm
Laufmittel	75 % Methanol, 25 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	2.0 ml/min
λ_{UV}	280, 350 und 510 nm
λ_{Flu}	Ex@240 nm, Em@536 nm
Injektionsvolumen	50 µl
Laufdauer	8.0 min
t_R (Fraktionen)	5.80-6.30 min

Die gesammelten Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck eingeengt.

Eine Reinheitskontrolle bei einem Laufmittelgemisch von 95 % Methanol, 5 % Wasser/TFA (pH = 3) und einer Flussrate von 2.5 ml zeigt, dass das Produkt **BC03** als cis/trans-Isomerengemisch mit Retentionszeiten von 1.8 min bzw. 2.1 min vorliegt.

$C_{44}H_{43}N_6O_8^+ \cdot CF_3COO^-$ (M = 896.86 g/mol)

MS (ESI):

m/z = 783.8 (M^+-CF_3COO^-, 100 %), 784.8 (M^++1-CF_3COO^-, 57 %), 785.7 (M^++2-CF_3COO^-, 17 %).



Abbildung 6.406: Methanolische Lösung von **BC03**.

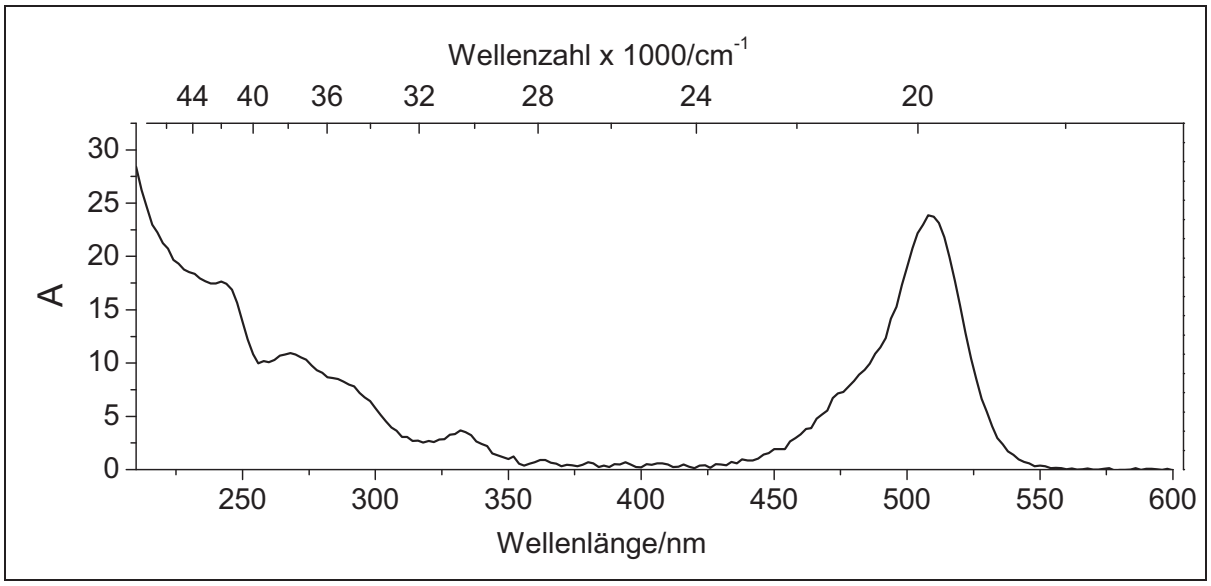


Abbildung 6.407: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC03** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 1.8 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 242, 268, 332, 508 nm.

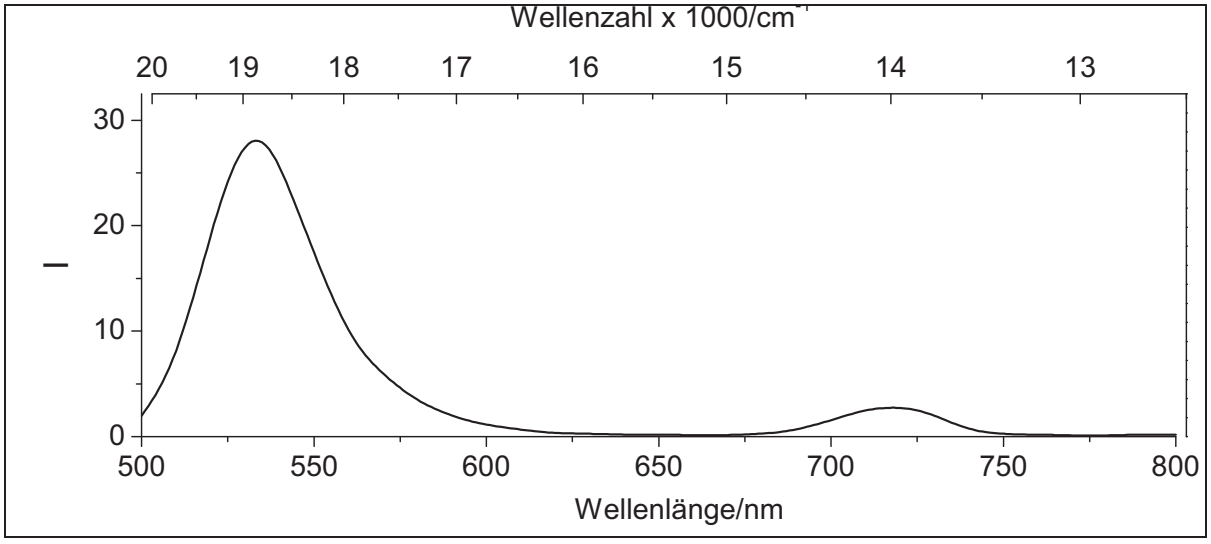


Abbildung 6.408: Fluoreszenzspektrum des *cis*-Isomers von **BC03** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 1.8 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 533 nm.

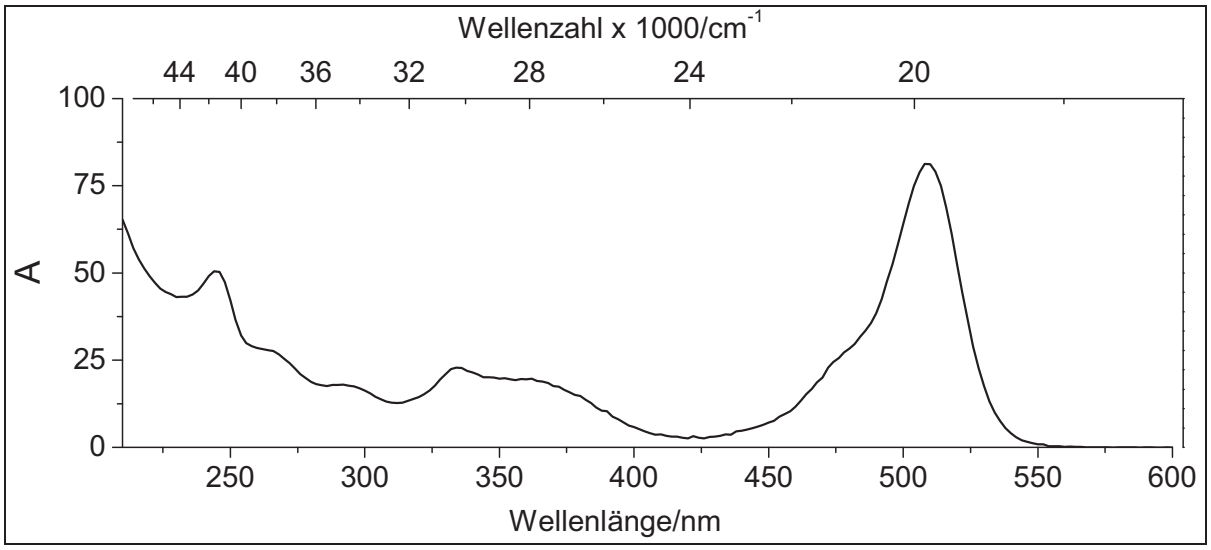


Abbildung 6.409: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC03** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 2.1 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 244, 334, 362, 508 nm.

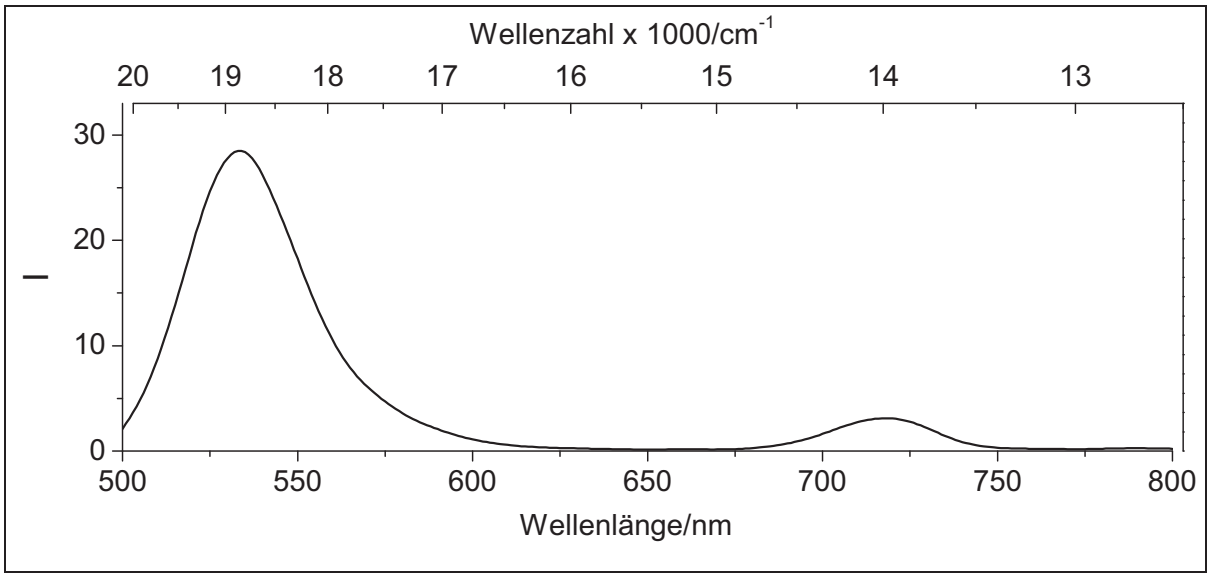
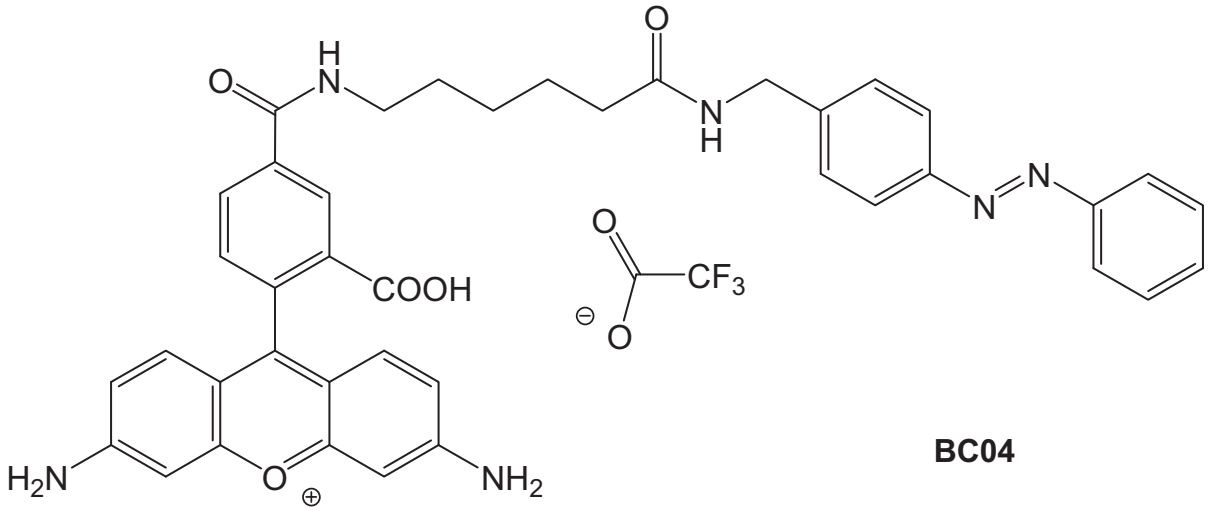


Abbildung 6.410: Fluoreszenzspektrum des *trans*-Isomers von **BC03** in 95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3); 2.5 ml/min; **t_R = 2.1 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (95 % Methanol und 5 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 534 nm.

Versuch 123: [3,6-Diamino-9-(2-carboxy-4-{6-oxo-6-[4-(phenyldiazenyl)benzylamino]hexylcarbamoyl}phenyl)xanthylium]-trifluoracetat (BC04)



BC04

In einem 10 ml Rundkolben mit Septum werden einige Kristalle 4-(Phenyldiazenyl)-benzylamin (**AB11**), 0.5 ml Diisopropylethylamin und einige Kristalle (3,6-Diamino-9-{2-carboxy-4-[6-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yloxy)-6-oxohexylcarbamoyl]phenyl}-xanthylium)-chlorid (DY505-X5-NHS-Ester von Dyomics, **144**) in 4 ml Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird 21 d bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktionslösung wird zunächst über YMC ODS-AQ Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus 85 % Methanol und 15 % Wasser/TFA (pH = 3) filtriert. Fluoreszierende Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Die vorgereinigte Rohproduktlösung wird mittels HPLC aufgereinigt. Die Trennung erfolgt automatisiert. Die Probeninjektion verläuft über einen Autosampler und die abzutrennenden Bichromophorfraktionen wurden mit dem Fraktionssammler in einen Rundkolben überführt. Der Fraktionssammler wurde so programmiert, dass er mit den unten angegebenen Retentionszeiten gesammelt hat.

HPLC-Einstellungen

Vorsäule	YMC ODS-AQ, 10 mm x 4.0 mm, 3 µm, 12 nm
Säule	YMC ODS-AQ, 150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm
Laufmittel	70 % Methanol, 30 % Wasser/TFA (pH = 3)
Flussrate	1.5 ml/min
λ_{UV}	320 nm
λ_{Flu}	Ex@360 nm, Em@550 nm
Injektionsvolumen	10 µl
Laufdauer	10.0 min
t_R (Fraktionen)	7.50-8.40 min

Die Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck eingeengt.

Eine Reinheitskontrolle bei einem Laufmittelgemisch von 90 % Methanol, 10 % WasserTFA (pH = 3) und einer Flussrate von 1.0 ml zeigt, dass der Bichromophor **BC04** als cis/trans-Isomerengemisch mit Retentionszeiten von 8.5 min bzw. 10.4 min vorliegt.

$C_{40}H_{37}N_6O_5^+ \cdot CF_3COO^-$ (M = 794.77 g/mol)

MS (ESI):

m/z = 681.3 (M^+-CF_3COO^-,, ~1200 a. u. ≡ 100 %), 682.3 (M^++1-CF_3COO^-, ~500 a. u. ≡ 42 %), 683.3 (M^++2-CF_3COO^-,, ~150 a. u. ≡ 12 %).



Abbildung 6.411: Methanolische Lösung von **BC04**.

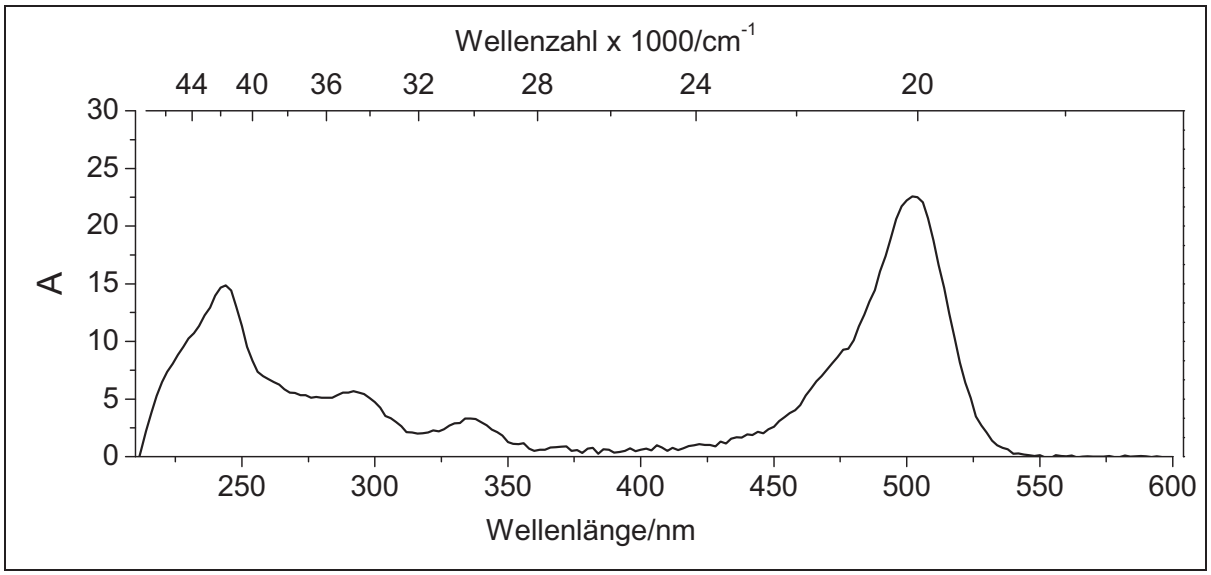


Abbildung 6.412: UV-Vis-Spektrum des *cis*-Isomers von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 8.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 244, 292, 334, 502 nm.

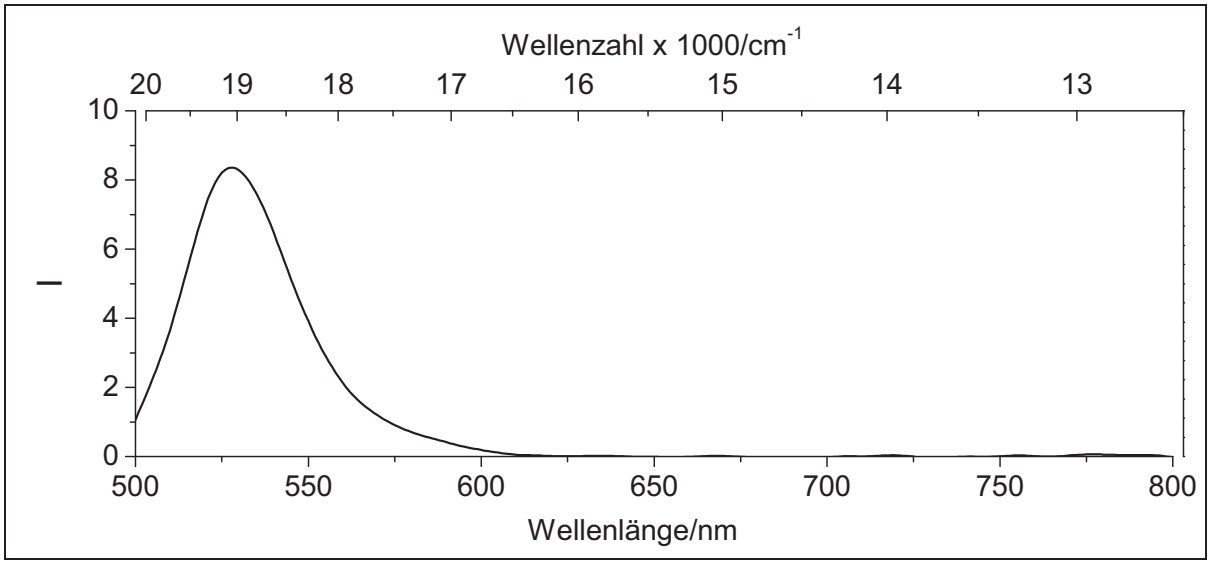


Abbildung 6.413: Fluoreszenzspektrum des *cis*-Isomers von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; $\mathbf{t_R}$ **= 8.5 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 528 nm.

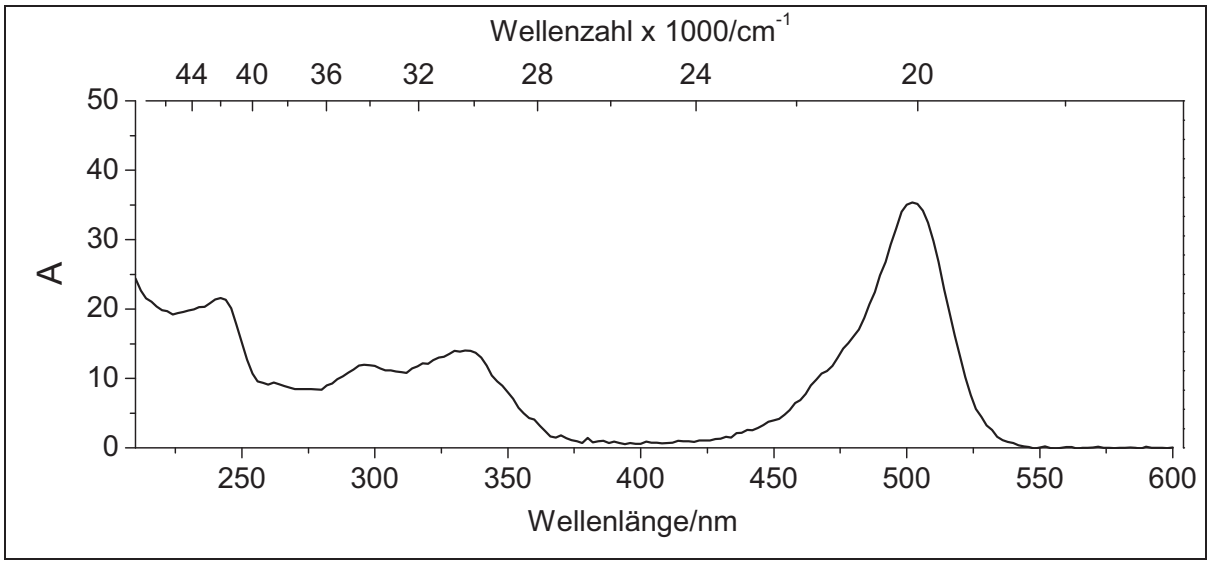


Abbildung 6.414: UV-Vis-Spektrum des *trans*-Isomers von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; **t_R = 10.4 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

UV-Vis (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} = 242, 296, 334, 502 nm.

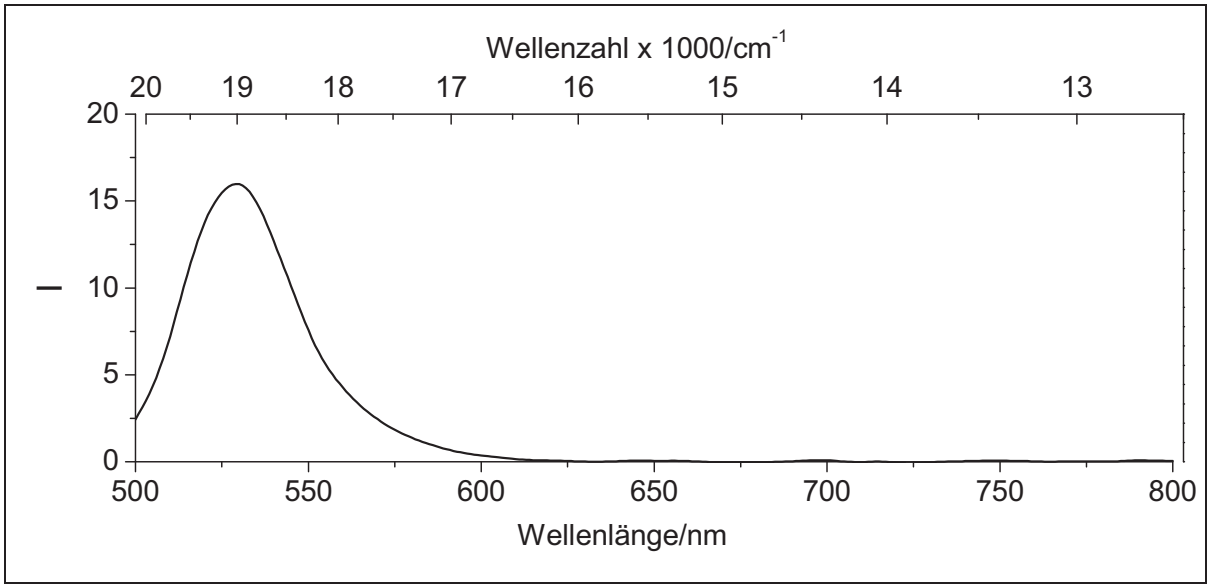


Abbildung 6.415: Fluoreszenzspektrum des *trans* -Isomers von **BC04** in 90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3); 1.0 ml/min; **t_R = 10.4 min**; YMC ODS-AQ Säule (150 mm x 4.6 mm, 5 µm, 12 nm).

Fluoreszenz (90 % Methanol und 10 % Wasser/TFA (pH = 3)):

λ_{max} (Ex@360 nm) = 529 nm.

7 Literaturverzeichnis

Dieser Versuch wurde in Anlehnung an eine Versuchsbeschreibung in der zitierten Literatur durchgeführt.

* Die aufgeführten spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der zitierten Literatur überein.

▲ Die Protonen der DPH-Polyenkette sind Teil eines $[ABC]_2$-Spinsystems. Es handelt sich um ein Spinsystem höhere Ordnung, welches in erster Näherung als Spinsystem erster Ordnung betrachtet werden kann und so interpretiert wurde.

[1] D. Pfiffi, B. A. Bier, C. M. Marian, K. Schaper, C. A. M. Seidel, Diphenylhexatrienes as photoprotective agents for ultrasensitive fluorescence detection, *J. Phys. Chem A* **2010**, *114*, 4099-4108.

[2] A. P. Pelliccioli, J. Wirz, Photoremovable Protecting Groups: Reaction Mechanisms and Applications, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 441-458.

[3] G. Mayer, A. Heckel, Biologically Active Molecules with a "Light Switch", *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4900-4921.

[4] J. A. Baltrup, P. J. Plant, P. Schofield, Photosensitive protective groups, *Chem. Commun.* **1966**, 822-823.

[5] A. Patchornik, B. Amit, R. B. Woodward, Photosensitive protecing groups, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 6333-6335.

[6] J. A. Baltrup, P. Schofield, Photosensitive protective groups, *Tetrahedron Lett.* **1962**, *697-699*.

[7] J. Engels, E. J. Schläger, Synthesis, Structure and Reactivity of Adenosine 3',5'-phosphate benzyl triesters, *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 907-911.

[8] J. H. Kaplan, B. J. Forbusch III, F. Hoffman, Rapid photolytic release of adenosine 5'-triphosphate from a protectted analogue-Utilization by Na-K pump of human red blood-cell ghosts., *Biochemistry* **1978**, *17*, 1929-1935.

[9] K. Schaper, *Bathochromic Absorbing Caged Compounds: Synthesis and Photochemistry,* (Toledo, Spain), **2009**.

[10] K. Schaper, M. Etinski, T. Fleig, Theoretical Investigation of the Excited States of 2-Nitrobezyl and 4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl Caging Groups, *Photochem. Photobiol.* **2009**, *85*, 1075-1081.

[11] T. Schmierer, K. Schaper, P. Gilch, The Early Processes in the Photochemistry of ortho-Nitrbenzylacetate, **2011**.

[12] F. Bley, K. Schaper, H. Görner, Photoprocesses of Molecules with 2-Nitrobenzyl Protecting Groups and Caged Organic Acids, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84*, 162-171.

[13] K. Schaper, S. Madani, P. Doro, D. Maydt, The α,5-Dicarboxy-2-nitrobenzyl Caging Group, a Tool for Biophysical Applications with Improved Hydrophilicity: Synthesis, Photochemical Properties and Biological Characterization, *Photochem. Photobiol.* **2010**.

[14] K. Schaper, S. Madani, C. Grewer, Synthesis and Photophysical Characterization of a New, Highly Hydrophilic Caging Group, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1037-1046.

[15] T. T. Milburn, N. Matsubara , A. P. Billington, J. B. Udgaonkar, J. W. Walker, B. K. Carpenter, W. W. Webb, J. Marque, W. Denk, J. A. McCray, G. P. Hess, Synthesis, Photochemistry, and Biological-Activity of a Caged Photolabile Acetylcholine-Receptor Ligand, *Biochemistry* **1989**, *28*, 49.

[16] K. R. Gee, L. Niu, K. Schaper, G. P. Hess, Caged Bioactive Carboxylates - Synthesis, Photolysis Studies, and Biological Characterization of a New Caged N-Methyl-D-Aspartic Acid, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4260.

[17] K. R. Gee, L. Niu, K. Schaper, V. Jayaraman, G. Hess, Synthesis and Photochemistry of a Photolabile Precursor of N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) that is Photolysed in the Microsecond Time Region and is Suitable for Chemical Kinetic Investigations of the NMDA Receptor, *Biochemistry* **1999**, *38*, 3140-3147.

[18] C. T. Grewer, S. A. Madani Mobarekeh, N. Watzke, T. Rauen, K. Schaper, Glutamate Transporter Pre-Steady-State Kinetics Studied by Laser-Pulse Photolysis of Caged D-aspartic Acid, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 71.

[19] C. T. Grewer, S. A. Madani Mobarekeh, N. Watzke, T. Rauen, K. Schaper, Substrate Translocation Kinetics of Excitatory Amino Acid Carrier 1 Probed with Laser-Pulse Photolysis of a New Photolabile Precursor of D-aspartic Acid, *Biochemistry* **2001**, *40*, 232.

[20] H. Kauffmann, W. Franck, Der Vertheilungssatz der Auxochrome, *Chem. Ber.* **1906**, *39*, 2722-2726.

[21] H. Kauffmann, W. Kugel, Verteilungssatz der Auxochrome bei Azoverbindungen, *Chem. Ber.* **1911**, *44*, 2386-2389.

[22] H. Zollinger, *Color Chemistry, Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1987**.

[23] F. Bley, *Design, Synthese und Untersuchung von o-Nitrobenzylsystemen mit gesteigerter Bathochromie und Hydrophilie,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2005**.

[24] Persönliche Mitteilung von H. Tüllmann: **2010**.

[25] J. M. Nerbonne, *Design and Application of Photolabile Intracellular Probes, Vol. 40*, John Wiley and Sons, **1986**.

[26] D. Maydt, *Photochemie und Photophysik ausgewählter Modellverbindungen: Synthese und Charakterisierung,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2009**.

[27] M. Kasha, Characterization of Electronic Transitions in Complex Molecules, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14-19.

[28] N. T. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., **1978**.

[29] E. V. Anslyn, D. A. Dougherty, *Modern Physical Organic Chemistry*, University Science Books, Sausalito, CA, **2006**.

[30] M. Mori, M. Inoue, T. Nunozawa, T. Miyahara, H. Kozuka, Preparation of Some Acetylated, Reduced and Oxidized Derivates of 2,4-Diaminotoluene and 2,6-Dinitrotoluene, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 4859-4861.

[31] R. T. Cummings, G. A. Krafft, Photoactivable Fluorophores. 1. Synthesis and Photoactivation of o-Nitrobenzyl-Quenched Fluorescent Carbamates, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 65-68.

[32] C. B. Ranu, S. S. Dey, A. Hajra, Highly Efficient Acylation of Alcohols, Amines and Thiols under Solvent-Free and Catalyst-Free Conditions, *Green Chem.* **2003**, *1*, 44-46.

[33] T. Meier, *Palladium-katalysierte Allylsubstitution mit nichtstabilisierten Ketonenolaten:Diastereoselektivität, Enantioselektivität und stereochemischer Verlauf,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2006**.
[34] P. Doro, *Beiträge zur Untersuchung der Photochemie der ortho-Nitrobenzylschutzgruppe,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2006**.
[35] OriginLab, Corporation, *OriginPro 8 SR2,* v8.0891 (B891) ed., Northhampton, MA 01060 USA, **1991-2008**.
[36] *http://www.atlas-photonics.com/*, **2010**.
[37] J. Vogelsang, R. Kasper, C. Steinhauser, B. Person, M. Heilemann, M. Sauer, P. Tinnefeld, A Reducing and Oxidizing System Minimizes Photobleaching and Blinking
of Fluorescent Dyes, *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 5465-5469.
[38] Persönliche Mitteilung von C. A. Seidel: **2009**.
[39] T. Förster, Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz, *AdP* **1948**, *2*, 55-77.
[40] D. L. Dexter, A Theory of Sensitized Luminescence in Solids, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836-850.
[41] R. F. Kubin, A. N. Fletcher, Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes, *J. Luminescence* **1982**, *27*, 455-462.
[42] M. Heupel, I. Gregor, S. Becker, E. Thiel, *Int. J. Photoenergy* **1999**, *1*, 165.
[43] R. Menzel, R. Bornemann, E. Thiel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 2435.
[44] D. Pfiffi, *Maximizing the Fluorescence Signal and Photostability of Fluorophors by Quenching Triplet and Radical States,* Unpublished Paper, **2010**.
[45] P. Taureg, *Synthese und Charakterisierung vonTriplettlöschern zur Steigerung der Signalstärke und der Photostabilität bei der Einzelmolekülspektroskopie,* Dissertation, Heinrich-Heine Universität (Düsseldorf), **2008**.
[46] Persönliche Mitteilung von S. Felenkyan, C. A. M. Seidel: *Voruntersuchungen A8*, **2008**.
[47] S. L. Murov, I. Carmichael, L. H. Gordon, *Handbook of Photochemistry*, 2. Auflage ed., CRC Press, **1993**.
[48] H. R. Christen, F. Vögtle, *Grundlagen der organischen Chemie,* , 2. Auflage ed., Salle+Sauerländer, Frankfurt, **1998**.
[49] W. Reppe, O. Schlichting, K. Klager, T. Toepel, Cyclisierende Polymerisation von Acetylen I. Über Cyclooctatetraen, *Liebigs Ann. Chem.* **1948**, *560*, 1-92.
[50] A.-R. Song, L.-C. Hwang, K. Ha, *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online* **2007**, *63 Part 10*.
[51] A. Streitwieser, Mueller-Westhoff, Bis(cyclooctatetraenyl)uranium (Uranocen). A new class of sandwich complexes that utilize atomic f orbitals, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 7364.
[52] E. F. Bernstein, *Triplet Quencher for Use in Lasers, Vol. US007792175B2*, Unites States, **2010**, p. 3.
[53] T.-N. Das, K. I. Priyadarsini, Triplet of Cyclooctatetraene : Reactivity and Properties, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1994**, *90*, 963-968.
[54] R. Pappalardo, H. Samelson, A. Lempicki, Long Pulse Laser Emission From Rhodamine 6G Using Cyclooctetraene, *Appl. Phys. Lett.* **1970**, *16*, 267-269.
[55] R. J. Cogdell, Carotenoids in Photosynthesis, *Philos. Trans. R. Soc. London, B* **1978**, *284*, 569-579.
[56] J. C. Goedheer, Energytransfer between Carotenoids and Bacteriochlorophylls in Chromatophores of Purple Bacteria, *Biochim. biophys. Acta* **1959**, *35*, 1-8.

[57] S. Beutner, G. Broszeit, F. Diepenbrock, D. Kersting, B. Klesczewski, C. Köpsel, M. Peters, K. Schaper, F. Stenhorst, H. D. Martin, H. Bettermann, J. Heinze, H. Sies, H. H. Streblow, Carotenoids and Related Dyes: Synthesis, Properties, Chemical and Biological Functions, *Colorchem.* **1996**, 14-17.
[58] G. S. Hartley, The Cis-form of Azobenzene, *Nature* **1937**, *140*, 281.
[59] C. R. Crecca, A. E. Roitberg, Theoretical Study of the Isomerization Mechanism of Azobenzene and Disubstituted Azobenzene Derivatives, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 8188-8203.
[60] V. Parasuk, *Photoisomerization of Azobenzene,* (Walailak University, Thailand), **2002**.
[61] L. Gagliardi, G. Orlandi, F. Bernardi, A. Cembran, M. Garavelli, A theoretical study of the lowest electronic states of azobenzene: the role of torsion coordinate in the cis-trans photoisomerisation, *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *111*, 363 - 372.
[62] S. Monti, E. Gardini, P. Bortolus, The Triplet State of Azobenzene, *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *77*, 115 - 119.
[63] H. Rau, *Photochromism: Molecules and Systems*, Elsevier, Amsterdam, **1990**.
[64] T. Todorov, L. Nikolova, N. Tomova, Polarization holography. 1: A new high-efficiency organic material with reversible photoinduced birefringence, *Applied Optics* **1984**, *23*, 4309 - 4312.
[65] H. Berneth, T. Bieringer, R. Hagen, S. Kostromine, *Wiederbeschreibbares optisches Aufzeichnungsmaterial mit guter Löslichkeit, Vol. WO/2003/029311*, Deutschland, **2002**.
[66] M. Irie, Photochromism: Memories and Switches-Introduction, *Chemical Reviews* **2000**, *100*, 1683 - 1684.
[67] C. Ruslim, K. Ichimura, Photoswitching in chiral nematic liquid crystals: interaction-selective
helical twist inversion by a single chiral dopant, *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 3377 - 3379.
[68] Y. Hirose, H. Yui, T. Sawada, Effect of Potential Energy Gap between the n-π* and the π-π* State on Ultrafast Photoisomerization Dynamics of an Azobenzene Derivative, *J. Phys. Chem A* **2002**, *106*, 3067 - 3071.
[69] C. Cope, M. Burg, Cyclic Polyolefins. XIX. Chloro- and Bromocyclooctatetraenes, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 168-172.
[70] J. Gasteiger, G. E. Gream, R. Huisgen, W. E. Konz, U. Schnegg, Chlor-, Brom- und Jod-cyclooctatetraen: Darstellung und einige Reaktionen, *Chem. Ber.* **1971**, *104*, 2412 - 2419.
[71] C. Cope, M. Burg, S. W. Fenton, Cyclic Polyolefins. XX. Cyclooctatetraenecarboxylic Acid, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 173-175.
[72] C. E. Keller, R. Pettit, The Protonation of Cyclooctatetraene, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 604 - 606.
[73] G. Schröder, G. Kirsch, J. F. M. Oth, Monosubstituierte [16]Annulene, *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 460 - 476.
[74] J. F. M. Oth, R. Merenyi, T. Martini, G. Schröder, Synthese und Eigenschaften einiger Monosubstituierter Cyclooctatetraene, *Tetrahedron Lett.* **1966**, *27*, 3087 - 3093.
[75] M. Ludwig, *Beiträge zur Synthese von Polyenen als Triplettlöscher,* Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2007**.
[76] R. Willstätter, E. Waser, Über Cyclooctatetraen, *Chem. Ber.* **1911**, *44*, 3423 - 3445.

[77] C. Wang, Z. Xi, Metal mediated synthesis of substituted cyclooctatetraenes, *Chem. Commun.* **2007**, 5119 - 5133.
[78] D. Bryce-Smith, J. E. Lodge, Liquid-phase Photolysis. Part VI. Preparation of Cyclo-octatetraenes by the Photoaddition of Acetylene to 1-Phenylazulene and 1-Phenylnaphthalene, *J. Med. Chem.* **1963**, *19*, 10-16.
[79] H. J. F. Angus, D. Bryce-Smith, Addition of Maleic Anhydride to Benzene, *Proc. Chem. Soc.* **1959**, 326-327.
[80] E. Grovenstein Jr., D. V. Rao, J. W. Taylor, The Structure and Stereochemistry of the Photochemical Adduct of Benzene with Maleic Anhydride, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1705 - 1711.
[81] H. J. F. Angus, D. Bryce-Smith, Liquid-phase Photolysis. Part I V.* A Stable Adduct of Benzene and Maleic Anhydride., *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 4791-4795.
[82] E. Grovenstein Jr., D. V. Rao, Photochemical Reaction of Benzene with Dimethyl Acetylenedicarboxylate, *Tetrahedron Lett.* **1961**, *2*, 148 - 150.
[83] G. L. Grunewald, J. M. Grindel, Importance of the Aromatic Ring in Adrenergic Amines. 2. Synthesis and Adrenergic Activity of Some Nonaromatic Six- and Eight-Membered Ring Analogs of β-Phenylethanolamine, *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 10 - 16.
[84] L. Eberson, K. Nyberg, Studies on Electrolytic Substitution Reactions. I. Anodic Acetoxylation, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1686- 1691.
[85] *Applications of Physical Methods to Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, **2007**.
[86] R. P. Frueholz, A. Kuppermann, Electronic spectroscopy of 1,3,5,7-cyclooctatetraene by lowenergy, variable-angle electron impact, *J. Chem. Phys.* **1978**, *69*, 3614-3621.
[87] Persönliche Mitteilung von C. M. Marian: **2010**.
[88] B. A. Bier, *Synthese und Charakterisierung von Mini-Carotinoiden,* Diplomarbeit, Heinrich-Heine Universität (Düsseldorf), **2006**.
[89] A. Smie, J. Heinze, Reversible Dimerisierung von Diphenylpolyen-Radikalkationen: eine Alternative zum Bipolaron-Modell, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 375 - 379.
[90] A. Smie, J. Heinze, Reversible Dimerization of Diphenylpolyene Radical Cations: An Alternative to the Bipolaron Model, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 363 - 367.
[91] Z.-L. Zhou, J. F. W. Keana, A Practical Synthesis of 4-(Substituted-benzyl)piperidines and (±)-3-(Substituted-benzyl)pyrrolidines via a Wittig Reaction, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3763 - 3766.
[92] M. Kummer, *Synthese und Struktur-Farbe-Beziehung von Violerythrin-Modellen und verwandten Polycarbonylen,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **1986**.
[93] O. Fahr, *Synthesen in der Rhodoxanthin-Reihe,* Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **1988**.
[94] M. Murjahn, *Beiträge zur Synthese von potentiellen Triplett-Quenchern,* Diplom, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2008**.
[95] S. Kock, *Synthese, Charakterisierung, antioxidative Eigenschaften und Anwendungen von aromatischen Carotinoiden,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2007**.
[96] R. Scherrers, *Carotinoide und Sauerstoff: Antioxidative Eigenschaften von aromatischen und nicht aromatischen Xanthophyllen,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2005**.

[97] H. D. Martin, S. Kock, R. Scherrers, K. Lutter, T. Wagener, C. Hundsdorfer, S. Frixel, K. Schaper, H. Ernst, W. Schrader, H. Görner, W. Stahl, 3,3 '-Dihydroxyisorenieratene, a Natural Carotenoid with Superior Antioxidant and Photoprotective Properties, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2009**, *48*, 400-403.

[98] M. Berg, S. Essl, M. Hugentobler, *Verfahren zur Herstellung von Astaxanthin*, Deutschland, **2009**.

[99] Z.-P. Zhuang, M.-P. Kung, H. F. Kung, Synthesis of Biphenyltrienes as Probes for β-Amyloid Plaques, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2841-2844.

[100] Persönliche Mitteilung von D. Pfiffi: *UV-Spektrum von BB161*, **2009**.

[101] A. Hussain, J. Truelove, Effect of Hydroxyl Group Substituents on Pyran Ring on Hydrolysis Rate of Benzoates: 2-Tetrahydropyranyl Benzoate, *J. Pharm. Sci.* **1979**, *68*, 235 - 236.

[102] Persönliche Mitteilung von D. Pfiffi: *Übersicht CV-Messungen Caros 080502*, **2009**.

[103] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, A Survey of Hammett Substituent Constants and Resonance and Field Parameters, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165 - 195.

[104] N. B. Chapman, J. Shorter, *Correlation Analysis in Chemistry. Recent Advances.*, Plenum Press, New York, **1978**.

[105] D. Pfiffi, *Steigerung der Signalstärke und der Photostabilität von Fluorophoren in der Einzelmolekülspektroskopie,* Dissertation, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2010**.

[106] X.-M. Liu, B. Yang, Y.-L. Wang, J.-Y. Wang, New Nanoscale Pulsatile Drug Delivery System, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 2792 - 2795.

[107] J. Gao, Y. He, F. Liu, X. Zhang, Z. Wang, X. Wang, Azobenzene-Containing Supramolecular Side-Chain Polymer Films for Laser-Induced Surface Relief Gratings, *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 3877-3881.

[108] F. Vera, R. M. Tejedor, P. Romero, J. Barbera, M. Blanca Ros, J. L. Serrano, T. Sierra, Light-Driven Supramolecular Chirality in Propeller-Like Hydrogen-Bonded Complexes That Show Columnar Mesomorphism, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2007**, *46*, 1873-1877.

[109] S. Monti, S. Dellonte, P. Bortolus, The Lowest Triplet State of Substituted Azobenzenes: an Energy Transfer Investigation, *J. Photochem.* **1983**, *23*, 249 - 256.

[110] P.-O. Astrand, P. S. Ramanujam, S. Hvilsted, K. L. Bak, S. P. A. Sauer, Ab Initio Calculation of the Electronic Spectrum of Azobenzene Dyes and Its Impact on the Design of Optical Data Storage Materials, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3482-3487.

[111] CambridgeSoft, *ChemDraw,* 9.0 ed., **1986-2004**.

[112] C. M. Armstrong, F. Bezanilla, Currents related to movement of the gating particles of the sodium channels, *Nature* **1973**, *242*, 459-461.

[113] M. Alterman, H. Sjöbom, P. Säfsten, P.-O. Markgren, U. H. Danielson, M. Hämäläinen, S. Löfas, J. Hulten, B. Classon, B. Samuelsson, A. Hallberg, P1/P1' modified HIV protease inhibitors as tools in two new sensitive surface plasmon resonance biosensor screening assays, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *13*, 203-212.

[114] Z. Zhang, Z. Yin, N. A. Meanwell, J. F. Kadow, T. Wang, Selective Monoacylation of Symmetrical Diamines via Prior Complexation with Boron, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3399 - 3402.

[115] C. Douat-Casassus, N. Marchand-Geneste, E. Diez, N. Gervois, F. Jotereau, S. Quideau, Synthetic Anticancer Vaccine Candidates: Rational Design of

Antigenic Peptide Mimetics That Activate Tumor-Specific T-Cells, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1598-1609.

[116] A. Boeijen, J. van Ameijde, R. M. J. Liskamp, Solid-Phase Synthesis of Oligourea Peptidomimetics Employing the Fmoc Protection Strategy, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8454-8462.

[117] H. E. Carter, R. L. Frank, H. W. Johnston, Carbobenzoxy Chloride And Derivatives, *Org. Synth.* **1955**, *3*.

[118] G. H. Kuo, C. Prouty, W. V. Murray, V. Pulito, L. Joliffe, P. Cheung, S. Varga, M. Evangelisto, C. Shaw, Design and Synthesis and Biological Evaluation of Pyridine-Phenylpiperazines: A Novel Series of Potent and Selective alpha 1a-Adrenergic Receptor Antagonist, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2263 - 2275.

[119] S. N. Georgiades, J. Clardy, Total Synthesis of Psammaplysenes A and B, Naturally Occuring Inhibitors of FOXO1a Nuclear Export, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4091 - 4094.

[120] A. J. Brouwer, S. J. E. Mulders, R. M. J. Liskamp, Convergent Synthesis and Diversity of Amino Acid Based Dendrimers, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1903-1915.

[121] C. Garbay-Jaureguiberry, I. McCort-Tranchepain, B. Barbe, D. Ficheux, B. P. Roques, Improved Synthesis of [*p*-Phosphono and *p*-Sulfo]methylphenylalanine. Resolution of [*p*-Phosphono-, *p*-Sulfo-, *p*-Carboxy- and *p*-*N*-Hydroxycarboxamido-]methylphenylalanine., *Tetrahedron Assymmetry* **1992**, *3*, 637 - 650.

[122] R. Ramage, G. J. Griffiths, F. E. Shutt, Dioxolanones as Synthetic Intermediates. Part 1. Synthesis of α-Keto Acids, α-Keto Aldehydes, and α-Ketols, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1984**, 1531 - 1537.

[123] Persönliche Mitteilung von R. Scherrers: **2005**.

[124] G. Sabitha, K. Sudhakar, J. S. Yadav, A Simple and Efficient Total Synthesis of a Styryllactone, 7-*epi*-Goniodiol, *Synthesis* **2007**, *3*, 385 - 388.

[125] A. H. G. Siebum, W. S. Woo, J. Lugtenburg, Preparation and Characterization of [5-^{13}C]-(2*S*,4*R*)-Leucine and [4-^{13}C]-(2*S*,3*S*)-Valine - Establishing Synthetic Schemes to Prepare Any Site-Directed Isotomer of L-Leucine, L-Isoleucine and L-Valine, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4664 - 4678.

[126] M. Wantabe, G. R. Morais, S. Mataka, K. Ideta, T. Thiemann, Two Variations of Solvent-Reduced Wittig Olefination Reactions - Comparison of Solventless Wittig Reactions to Wittig Reactions under Ultrasonication with Minimal Work-up, *Z. Naturforsch.* **2005**, *60b*, 909 - 915.

[127] C. Freudenreich, J.-P. Samana, J.-F. Biellmann, Design of Inhibitors from the Three-Dimensional Structure of Alcohol Dehydrogenase. Chemical Synthesis and Enzymatic Properties, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3344 - 3353.

[128] G. Wittig, R. Kethur, Ein neuer Weg zum Aufbau von Polyenketten; Darstelung einiger ungesättigter Aldehyde., *Chem. Ber.* **1936**, *69*, 2078 - 2087.

[129] H. Stephen, CCLII.-A New Synthesis of Aldehydes., *J. Chem. Soc., Trans.* **1925**, *127*, 1874 - 1877.

[130] S. K. Maji, R. Banerjee, D. Velmurugan, A. Razak, H. K. Fun, A. Banerjee, Peptide Design Using ω-Amino Acids: Unusual Turn Structures Nucleated by an N-Terminal Single γ-Aminobutyric Acid Residue in Short Model Peptides, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 633 - 639.

[131] L. Guetzoyan, F. Ramiandrasoa, H. Dorizon, C. Desprez, A. Bridoux, C. Rogier, B. Pradines, M. Perree-Fauvet, In vitro efficiency of a new acridyl derivaives against *Plasmodium falciparum*, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3278 - 3289.

[132] N. Ono, T. Yamada, T. Saito, K. Tanaka, A. Kaji, A Convenient Procedure for Esterification of Carboxylic Acids, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1978**, *51*, 2401 - 2404.
[133] A. Shoji, M. Kuwahara, H. Ozaki, H. Sawai, Modified DNA Aptamer That Binds the (R)-Isomer of a Thalidomide Derivative with High Enantioselectivity, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1456-1464.
[134] B.-B. Zeng, J. Huang, M. W. Wright, S. B. King, Nitroxyl (HNO) release from new functionalized *N*-hydroxyurea-derived acyl nitroso-9,10-dimethyl-anthracene cycloadducts, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5565 - 5568.
[135] P. G. Mattingly, Mono-Protected Diamines. N^{α}-*tert*-Butoxycarbonyl α,ω–Alkanediamine Hydrochlorides from Amino alcohols., *Synthesis* **1990**, *4*, 366 - 368.
[136] J. Griffiths, II. Photochemistry of Azobenzene and its Derivatives, *Chem. Soc. Rev.* **1972**, 481-496.
[137] D. T. Sawyer, *Oxygen Chemistry*, Oxford University Press, **1991**.
[138] M. Heilemann, S. van de Linde, A. Mukherjee, M. Sauer, Hochauflösende Mikroskopie mit kleinen organischen Farbstoffen, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7036 - 7041.
[139] *Dyomics - Fluorescent Dyes for Bioanalytical and Hightec Applications 5th Edition autumn 2007,* 5 ed., Color-Druck Zwickau GmbH & Co. KG, Jena, **2007**.
[140] *ATTO-TEC Fluorescent Labels and Dyes catalogue 2011/2013*, ATTO-TEC, Siegen, **2011**.
[141] C. Bier, *Hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie mit kleinen organischen Farbstoffen,* Diplomarbeit, Friedrich-Wilhelms-Universität (Bonn), **2011**.
[142] Persönliche Mitteilung von A. Bettermann: *Die Messungen wurden von T. Grethe und A. Reichelt aus dem Institut der Physikalischen Chemie, Arbeitsgruppe für Flüssigphasen-Laserspektroskopie von Prof. H. Bettermann durchgeführt*, **2010**.
[143] Persönliche Mitteilung von A. Photonics: *Emmisionsspektren der LUMOS 43*, **2010**.
[144] H. G. O. Becker, *Einführung in die Photochemie*, 3. ed., Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1991**.
[145] H. J. Kuhn, S. E. Braslavsky, R. Schmidt, Chemical Actinometry (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry* **2004**, *76*, 2105-2146.
[146] H. G. Heller, J. R. Langan, Photochromic Heterocyclic Fulgides. Part 3.' The Use of (E)-a-(2.5-Dimethyl-3-f urylethylidene) (isopropylidene)succinic Anhydride as a Simple Convenient Chemical Actinometer, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1981**, 341-343.
[147] G. Gauglitz, S. Hubig, Chemical Actinometry in the UV by Azobenzene Concentrated Solution: a Convenient Method, *J. Photochem.* **1985**, *30*, 121-125.
[148] C. A. Discher, P. F. Smith, I. Lippman, R. Turse, A Reevaluation of the Quantum Efficency of the Uranyl Oxalate, *Journal of physical Chemistry B* **1963**, *67*, 2501.
[149] H. D. Brauer, W. Drews, R. Schmidt, Heterocoerdianthrone: A New Actinometer for the Visible (400-580 nm) Range, *J. Photochem.* **1982**, *20*, 335-350.
[150] H.-D. Brauer, R. Schmidt, Self-Sensitized Photo-Oxidation of Aromatic Compounds and Photocycloreversion of Endoperoxides: Applications in Chemical Actinometry, *J. Photochem.* **1984**, *25*, 489-499.
[151] C. A. Parker, A New Sensetive Chemical Actinometer; I. Some Trials with Potassium Ferrioxalate, *Proc. R. Soc. London, A* **1953**, *220*, 104-116.

[152] C. G. Hatchard, C. A. Parker, A New Sensitive Chemical Actinometer, II. Potassium Ferrioxalate as a Standard Chemical Actinometer, *Proc. R. Soc. London, A* **1956**, *235*, 518-536.
[153] E. W. Vitz, E. Boschmann, The Ferrioxalate Actinometer: A Lecture Demonstration, *Tested Demonstrations* **1981**, *58*, 655.
[154] W. D. Bowman, J. N. Demas, Ferrioxalate Actinometry. A Warning on its Correct Use, *J. Phys. Chem.* **1976**, *80*, 2434-2435.
[155] J. H. Baxendale, N. K. Bridge, The Photoreduction of some Ferric Compounds in Aqueous Solution, *J. Phys. Chem.* **1955**, *59*, 783-788.
[156] J. Lee, H. H. Seliger, Quantum Yield of the Ferrioxalate Actinometer, *J. Chem. Phys.* **1964**, *40*, 519-523.
[157] H. G. O. Becker, *Organikum - Organisch-chemisches Grundpraktikum, Vol. 20. Auflage*, Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg-Leipzig, **1996**.
[158] L. Gavara, T. Boisse, J.-P. Henichart, B. Rigo, P. Gautret, A. Daich, Toward new camptothecins. Part 6: Synthesis of crucial ketones and their use in Friedländer reaction, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 7544 - 7561.
[159] G. H. McGall, A. D. Barone, M. Diggelmann, S. P. A. Fodor, E. Gentalen, N. Ngo, The Efficiency of Light-Directed Synthesis of DNA Arrays on Glass Substrates, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5081 - 5090.
[160] H. Hagiwara, K. Morohashi, H. Sakai, T. Suzuki, M. Ando, Acetylation and Formylation of Alcohols with Triphenylphosphine and Carbon Tetrabromide in Ethyl Acetate or Ethyl Formate, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5845 - 5852.
[161] I. M. Takakis, P. M. Hadjimihalakis, Influence of the heterocyclic side ring on orientation during nitrations of 1,2-alkylenedioxy-annelated benzenes and their mononitro derivatives, *J. Heterocycl. Chem.* **1991**, *28*, 625 - 634.
[162] O. Mendoza, L. Ghosez, G. Rossey, Trialkylsilyl triflimides as easily tunable organocatalysts for allylation and benzylation of silyl carbon nucleophiles with non-genotoxic reagents, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2571 - 2675.
[163] T. Hashimoto, M. Tori, Y. Asakawa, Three Dihydrocoumarin Glucosides from Hydrangea Macrophylla Subsp. Serrata*, *Phytochem.* **1987**, *26*, 3323 - 3330.
[164] J. A. Pincock, P. J. Wedge, The Photochemistry of Methoxy-Substituted Benzyl Acetates and Benzyl Pivalates: Homolytic vs Heterolytic Cleavage, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5587 - 5595.
[165] C. Salome, H. Kohn, Triphenylphosphine dibromide: a simple one-pot esterification reagent, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 456 - 460.
[166] O. Crandall, Spectral Solvent Shifts. Substituent Effects, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 2088-2089.
[167] Y. B. Kiran, R. Ikeda, N. Sakai, T. Konakahara, Single-Step Conversion of Electron-Deficient Aldehydes into the Corresponding Esters in Aqueous Alcohols in the Presence of Iodine and Sodium Nitrite, *Synthesis* **2010**, *2*, 276 - 282.
[168] J. Stapersma, I. D. C. Rood, G. W. Klumpp, Synthesis of Tetracyclo-[3.3.0.$0^{2,4}$.$0^{3,6}$]oct-7-ene and some of its Derivatives, *Tetrahedron* **1981**, *38*, 191 - 199.
[169] W. Kitching, K. A. Henzel, L. A. Paquette, Neighboring Group Properties of Cyclooctaterane. Hydrolysis Rate and Mechanism of Ring Contraction of the Chloromethyl Derivative, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4643 - 4648.
[170] C. Imrie, A. Modro, E. R. Rohwer, C. C. P. Wagener, Photolysis of (arylmethyl)triphenylphosphonium salts. Substituent, counterion, and solvent effects on reaction products, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5643 - 5649.

[171] Z. Xie, B. Yang, L. Liu, M. Li, D. Lin, Y. Ma, G. Cheng, S. Liu, Experimental and theoretical studies of 2,5-diphenyl-1,4-distyrylbenzenes with all-*cis* and all-*trans* double bonds: chemival structure determination and optical properties, *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, *18*, 962 - 973.

[172] J. J. Kiddle, Microwave irradiation in organophosphorus chemistry. Part 2: Synthesis of phosphonium salts, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1339 - 1342.

[173] M. Müller, M. Albrecht, J. Sackmann, A. Hoffmann, F. Dierkes, A. Valkonen, K. Rissanen, CH-Anion versus anion-π interactions in the crystal and in solution of pentafluorobenzyl phosphonium salts, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2010**, *39*, 11329 - 11334.

[174] G. Bucholski, *Synthese von Polyenen und Carotinoiden für antioxidative Untersuchungen,* Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2000**.

[175] M. Sturzenegger, N. Prokopuk, C. N. Kenyon, W. J. Royea, N. S. Lewis, Reactions of Etched, Single Crystal (111)B-Oriented InP To Produce Functionalized Surfaces with Low Electrical Defect Densities, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10838 - 10849.

[176] J. M. Kauffmann, G. Moyna, Diarylamino Groups as Photostable Auxofluors in 2-Benzoxazolylfluorene, 2,5-Diphenyloxazoles, 1,3,5-Hexatrienes, 1,4-Distyrylbenzenes, and 2,7-Distyrylfluorenes, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 839 - 853.

[177] Y. Sonoda, Y. Kawanishi, T. Ikeda, M. Goto, S. Hayashi, Y. Yoshida, N. Tanigaki, K. Yase, Fluorescence Spectra for the Microcrystals and Thin Films of trans,trans,trans-1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatrienes, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 3376 - 3383.

[178] M. T. Allen, D. G. Whitten, The Photophysics and Photochemistry of α,ω-Diphenylpolyene Singlet States, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1691-1702.

[179] B. R. Lentz, Membrane "fluidity" as detected by diphenylhexatriene probes, *Chem. Phys. Lipids* **1989**, *50*, 171 - 190.

[180] R. Baati, C. Mioskowski, D. Barma, R. Kache, J. R. Falck, Reductive Olefination of Aldehydes via Chromium Brook Rearrangement, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2949-2951.

[181] V. E. Trepanier, E. Fillion, Amphilic Vinylcarbenoid Reactivity of (α-(Tributyl-stannyl)-π-allyl)palladium(II) Species, *Organometallics* **2007**, *26*, 30-32.

[182] M. Rumi, G. Zerbi, Progression of combination bands in the infrared spectra of polyenes, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, *242*, 639-643.

[183] P. C. Alford, T. F. Palmer, Photophysics of Derivatives of all-*trans*-1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH), *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1983**, *79*, 433-447.

[184] Y. Sonoda, W. M. Kwok, Z. Petrasek, R. Ostler, P. Matousek, M. Towrie, A. W. Parker, D. Philips, Solvent effects on the photophysical and photochemical properties of (E,E,E)-1,6-bis(4-nitrophenyl)hexa-1,3,5-triene *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, 308-314.

[185] C. C. Lenzoff, R. J. Hayward, Photocyclization of Aryl Polyenes - V. Photochemical Synthesis of Substituted Chrysenes, *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 528-533.

[186] Y. Sonoda, S. Tsuzuki, M. Goto, N. Tohani, M. Yoshida, Fluorescence Spectroscopic Properties of Nitro-Substituted Diphenylpolyenes: Effects of Intramolecular Planarization and Intermolecular Interactions in Crystals, *J. Phys. Chem A* **2010**, *114*, 172-182.

[187] T. M. Gilbert, F. J. Hadley, M. D. Simmons, C. B. Bauer, R. D. Rogers, Syntheses and structures of bis(tricarbonylchromium)-substituted α,ω-diphenylhexatriene complexes, *J. Organomet. Chem.* **1996**, *510*, 83-92.

[188] K. Friedrich, W. Hartmann, Über die Darstellung aromatischer Polyhydroxyverbindungen und Polyhydroxycarbonsäuren, VIII. Über die Darstellung kernsubstituierter Zimtaldehyde, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 838-839.

[189] C. W. Spangler, R. K. McCoy, A. A. Dembek, L. S. Sapochak, B. D. Gates, Preparation of *p,p'*-Disubstituted-α,ω-Diphenyl Polyenes, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1989**, 151-154.

[190] P. C. Alford, T. F. Palmer, Fluorescence of DPH Derivatives. Evidence for Emission from S_2 and S_1 Excited States, *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *86*, 248- 253.

[191] P. Villiers, N. Vicart, Y. Ramondenc, G. Ple, 1,6-Dibromohexa-1,3,5-triene − Stereocontrolled Synthesis of Monosubstituted and Disubstituted Hexatrienes by Palladium-Catalysed Cross-Coupling Reactions, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001*, 561-574.

[192] G. Puccetti, M. Balnchard-Desce, I. Ledoux, J.-M. Lehn, J. Zyss, Chain-Length Dependence of the Third-Order Polarizability of Disubstituted Polyenes. Effects of End Groups and Conjugation Length, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 9385-9391.

[193] L. Porres, V. Alain, L. Thouin, P. Hapiot, M. Blanchard-Desce, Optical and electrochemical properties of soluble donor-π-donor compounds as potential molecular wires and electrochemically-triggered optical switches, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 4576-4582.

[194] P. Carsky, S. Hünig, I. Stemmler, D. Scheutzow, Vinyloge Bipyridyle und Bichinolyle; Synthese und UV/VIS-Spektren, *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, 291-304.

[195] I. D. Johnson, E. W. Thomas, R. B. Cundall, Effects of Protonation on the Photophysical Properties of Pyridyl- and Dimethylamino-diphenylhexatriene Derivatives, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1988**, *84*, 643-653.

[196] R. B. Cundall, I. Johnson, M. W. Jones, E. W. Thomas, I. H. Munro, Photophysical properties of DPH derivatives, *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *64*, 39-42.

[197] G. Märkl, R. Ehrl, H. Sauer, P. Kreitmeier, T. Burgemeister, Konfigurations und konformationsisomere paratrope, rotationsdynamische Tetrepoxy[32]-annulene(6.2.6.2) und diatrope Tetraoxa[30]porphyrin(6.2.6.2)-Dikationen: Nachweis eines Tetraepoxy[31]annulen(6.2.6.2)-Radikalkations, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 59-84.

[198] S. R. Bayly, E. R. Humphrey, H. de Chair, C. G. Paredes, Z. R. Bell, J. C. Jeffery, J. A. McCleverty, M. D. Ward, F. Totti, D. Gatteschi, S. Courric, B. R. Steele, C. G. Screttas, Electronic and magnetic metal–metal interactions in dinuclear oxomolybdenum(V) complexes across bis-phenolate bridging ligands with different spacers between the phenolate termini: ligand-centred vs. metal-centred redox activity *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, *9*, 1401-1414.

[199] C. Gennari, S. Ceccarelli, U. Piarulli, K. Aboutayab, M. Donghi, I. Paterson, Stereocontrolled synthesis of polyketide libraries: Boron-mediated aldol reactions with aldehydes on solid support, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 14999-15016.

[200] D. Pez, I. Leal, F. Zucotto, C. Boussard, R. Brun, S. L. Croft, V. Yardley, L. M. Ruiz Perez, D. Gonzalez Pacanowska, I. H. Gilbert, 2,4-Diaminopyrimidines as inhibitors of Leishmanial and Trypanosomal dihydrofolate reductase, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4693-4711.

[201] H. Konno, S. Aoyama, K. Nosaka, K. Akaji, Synthesis of All Stereoisomers of β-Methoxy Tyrosine Derivatives and Identification of the Absolute Configration in Callipeltin E, *Synthesis* **2007**, *23*, 3666-3672.
[202] I. K. Sebhat, Y.-L. Tana, D. A. Widdowsona, R. W. Andrew, J. P. Whiteb, D. J. Williams., Directed Lithiation in Arenetricarbonylchromium(0) Complexes: Assessment of Some Directing Group Specificities and of Electrophilic Quench Efficacies, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6121-6134.
[203] P. L. McGrier, K. M. Solntsev, J. Schonhaber, S. Brombosz, L. M. Tolbert, U. H. F. Bunz, Hydroxycruciforms, *Chem. Commun.* **2007**, *21*, 2127-2129.
[204] K. M. Solntsev, P. L. McGrier, C. J. Fahrni, L. M. Tolbert, U. H. F. Bunz, Anomalous Photophysics of Bis(hydroxystyryl)benzenes: A Twist on the Para/Meta Dichotomy., *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2429-2432.
[205] A. W. Fort, Preparation and Acid-Catalyzed Solvolysis of 6-Tosyloxyisophorone, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 332-334.
[206] G.-J. M. Gruter, O. S. Akkerman, F. Bickelhaupt, Nuclear versus Side-Chain Bromination of Methyl-Substituted Anisoles by N-Bromosuccinimide, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4473-4481.
[207] Z. Andriamialisoa, A. Valla, D. Cartier, R. Labia, A New Stereoselective Synthesis of Acitretin (=Soriatane®, Neotigason®), *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 2926-2929.
[208] H. J. Bestmann, P. Ermann, Retinoide und Carotinoide, II Synthese von (13Z)-Retinoidsäuren, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, *1984*, 1740-1745.
[209] O. Garcia, E. Nicolas, F. Alberico, *o*-Formylation of electron-rich phenols with dichloromethyl methyl ether and $TiCl_4$, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4961-4963.
[210] H. Hu, J. S. Mendoza, C. T. Lowden, L. M. Ballas, W. P. Janzen, Synthesis and Protein Kinase C Inhibitory Activities of Balanol Analogues with Modification of 4-Hydroxybenzamido Moiety, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1873 - 1882.
[211] D. W. J. McCallien, P. L. Burn, H. L. Anderson, Chelation of diamine ligands to zinc porphyrin monolayers amidelinked to glass, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 2581 - 2586.
[212] J. Auernheimer, C. Dahmen, U. Hersel, A. Bausch, H. Kessler, Photoswitched Cell Adhesion on Surfaces with RGD Peptides, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16107-16110.
[213] A. Kanaya, Y. Takashima, A. Harada, Double-Threaded Dimer and Supramolecular Oligomer Formed by Stilbene Modified Cyclodextrin: Effect of Acyl Migration and Photostimuli, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 492-499.
[214] R. K. Arvela, N. E. Leadbeater, M. S. Sangi, V. A. Williams, P. Granados, R. D. Singer, A Reassessment of the Transition-Metal Free Suzuki-Type Coupling Methodology, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 161-168.
[215] T. E. Barder, S. D. Walker, J. R. Martinelli, S. L. Buchwald, Catalysts for Suzuki−Miyaura Coupling Processes: Scope and Studies of the Effect of Ligand Structure, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4685-4696.
[216] Z. Du, W. Zhou, L. Bai, F. Wang, J.-X. Wang, In Situ Generation of Palladium Nanoparticles: Reusable, Ligand-Free Heck Reaction in PEG-400 Assisted by Focused Microwave Irradiation, *Synlett* **2011**, *3*, 369-372.
[217] B. Clement, M. Weide, D. M. Ziegler, Inhibition of Purified and Membrane-Bound Flavin-Containing Monooxygenase 1 by (N,N-Dimethylamino)stilbene Carboxylates, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 599-604.

[218] A. Saipa, M. A. Osipov, K. W. Lanham, C. H. Chang, D. M. Walba, F. Giesselmann, The intrinsic photoferroelectric effect in the smetic C* phase of a chiral azobenzene, *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 4170-4177.
[219] J. Burns, H. McCombie, H. Archibald, CCCLXXXV.—Some substitution products of azobenzene, *J. Chem. Soc.* **1928**, 2928-2936.
[220] C. Mills, XCIII.-Some new azo-compounds, *J. Chem. Soc., Trans.* **1895**, *67*, 925-933.
[221] H. Bisle, M. Römer, H. Rau, Der Einfluß der Kopplung von 1(n,π*)- und 1(π, π*)-Zuständen auf die Fluoreszenzfähigkeit von Azobenzolen, *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.* **1976**, *80*, 301-305.
[222] K. Spagou, E. Malamidou-Xenikaki, S. Spyroudis, A Survey on the Reactivity of Phenyliodonium Ylide of 2-Hydroxy-1,4-NAphthoquinone with Amino Compounds, *Molecules* **2005**, *10*, 226-237.
[223] D. Christoforou, D. A. R. Happer, The application of the Hammett equation to 13C N.M.R. spectrometry. VI. Remote ring effects in azobenzenes and stilbenes, *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 2083-2094.
[224] E. Redchenko, Photoelectron spectroscopy: Study of the electronic structure of azobenzene and several of its derivatives *J. Appl. Spec.* **1978**, *29*, 858-860.
[225] S. Oshita, A. Matsumoto, Intercalation and Photochemical Behavior of Azobenzene Derivatives with Layered Polymer Crystals as the Organic Host, *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 712-713.
[226] K. Krageloh, G. H. Anderson, P. J. Stang, Ylide vs. 1,4-cycloaddition in the interaction of an alkylidenecarbene with azoarenes and the formation of 2H-indazoles and tetrahydrotetrazoles, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6015-6021.
[227] V. Gutmann, A. Steiniger, Komplexbildung vontrans-Azobenzol und seinen Derivaten mit Akzeptorhalogeniden in Acetonitril *Monatsh. Chem.* **1965**, *96*, 1173-1181.
[228] C. B. Grant, A. Streitwieser Jr., Reaction of uranocenes with nitro compounds, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2433-2440.
[229] H. D. Anspon, *p*-Phenylazobenzoic Acid, *Org. Synth.* **1945**, *25*, 86.
[230] L. Gattermann, H. Wieland, *Die Praxis der organischen Chemie*, 43. ed., de Gruyter, Berlin, New York, **1982**.
[231] W. S. Reich, A method for the seperation of sugars by the chromatographic adsorption of their coloured esters Seperation of glucose and fructose, *Biochem. J.* **1939**, *33*, 1000-1001.
[232] K. Kakiage, M. Yamamura, E. Fujimura, T. Kyomen, M. Unno, M. Hanaya, High Performance of Si–O–Ti Bonds for Anchoring Sensitizing Dyes on TiO2 Electrodes in Dye-sensitized Solar Cells Evidenced by Using Alkoxysilylazobenzenes, *Chem. Lett.* **2010**, *39*, 260-262.
[233] C. Laurence, M. Berthelot, Substituent effects in infrared spectroscopy. Part 5. Carbonyl stretching frequency in meta- and para-substituted aromatic carbonyl compounds, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1979**, 98-102.
[234] H. Kagechika, T. Himi, E. Kawachi, Retinobenzoic acids. 4. Conformation of aromatic amides with retinoidal activity. Importance of trans-amide structure for the activity, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2292-2296.
[235] W. H. Nutting, R. A. Jewell, H. Rapoport, 4-(4-Nitrophenylazo)benzoic acid. Improved synthesis of its acid chloride and spectroscopic properties of its esters, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 505-508.
[236] D. Hamilton, J. H. Wu, G. Batist, Structure-Based Identification of Novel Human γ-Glutamylcysteine Synthetase Inhibitors, *Mol. Pharmacol.* **2007**, *71*, 1140-1147.

[237] M. Budesinsky, O. Exner, Correlation of carbon-13 substituent-induced chemical shifts revisited: Meta- and para-substituted benzonitriles, *Magn. Reson. Chem.* **1989**, *27*, 27-36.
[238] C. J. Byrne, D. A. C. Happer, M. P. Hartshorn, H. K. J. Powell, The Electronic Effect of the Phenylazo and t-Butylazo Groups, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1987**, 1649-1653.
[239] H. Wieland, Zur Frage nach dem intermediären Auftreten freier Radikale bei chemischen Reaktionen. Der Zerfall aromatischer Hydrazoverbindungen, *Chem. Ber.* **1915**, *48*, 1098-1112.
[240] N. Baggett, A. B. Foster, A. H. Haines, S. M., 707. Some alkyl p-phenylazobenzoates and ferrocenecarboxylates, *J. Chem. Soc.* **1960**, 3528-3531.
[241] R. D. Guthrie, 486. Periodate oxidation. Part VI. Infrared spectra of some hemialdal esters *J. Chem. Soc.* **1960**, 2525-2528.
[242] P. Ceroni, I. Laghi, M. Maestri, V. Balzani, S. Gestermann, M. Gorka, F. Vögtle, Photochemical, photophysical and electrochemical properties of six dansyl-based dyads, *New J. Chem.* **2002**, *26*, 66-75.
[243] J. Huuskonen, J. Schulz, E. Kolehmainen, K. Rissanen, Photoresponsive Piperazine Macrocycles, *Chem. Ber.* **1994**, *127*, 2267-2272.
[244] H. Muxfeldt, W. Rogalski, G. Klauenberg, Reduktion von Acylmalonestern mit Natriumborhydrid, *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 3040-3044.
[245] K. Kreger, P. Wolfer, H. Aoudorf, L. Kador, N. Stingelin-Stutzmann, P. Smith, H.-W. Schmidt, Stable Holographic Gratings with Small-Molecular Trisazobenzene Derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 509-516.
[246] H. H. Bosshard, R. Mory, M. Schmid, H. Zollinger, Eine Methode zur katalysierten Herstellung von Carbonsäure- und Sulfosäure-chloriden mit Thionylchlorid, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1653-1658.
[247] R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1986**.
[248] M. Adamczyk, J. Grote, A Practical Method for the Synthesis of N-Fluorenylmethoxycarbonyl Diamines, *Org. Prep. Proced. Int.* **1995**, *27*, 239-242.
[249] E. Nudelman, R. Engel, Isosteres of Natural Phosphates. Methylene and Hydroxymethylene Analogues of Tyrosine *O*-Phosphates, *Main Group Chem.* **1996**, *111*, 162.
[250] T. Yokomatsu, T. Minowa, T. Murano, S. Shibuya, Enzymatic desymmetrization of prochiral 2-benzyl-1,3-propanediol derivatives: A practical chemoenzymatic synthesis of novel phosphorylated tyrosine analogues, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 9341-9356.
[251] C. R. Mayer, M. Herve, H. Lavanant, F. Secheresse, Synthesis of monophosphonic acid ligands with a phenanthroline core, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7805-7807.
[252] M. W. Rathke, M. Nowak, The Horner-Wadsworth-Emmons modification of the Wittig reaction using triethylamine and lithium or magnesium salts, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2624-2626.
[253] P. W. Davies, A. Cremonsi, N. Martin, Site-specific introduction of gold-carbenoids by intermolecular oxidation of ynamides or ynol ethers *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 379-381.
[254] R. N. Lacey, 629. Derivatives of acetoacetic acid. Part X. The condensation of acetylenic alcohols with α-acyl derivatives of ethyl acetoacetate and diethyl malonate, *J. Chem. Soc.* **1960**, 5153-5160.
[255] Z.-Z. Huang, Y. Tang, Unexpected Catalyst for Wittig-Type and Dehalogenation Reactions, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5320 - 5326.

[256] X.-P. Cao, Stereoselective Synthesis of Substituted all-*trans* 1,3,5,7-Octatetraenes by a Modified Ramberg-Bäcklund Reaction, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1301-1307.
[257] H. Tamiaki, M. Kouraba, Synthesis of chlorophyll-a homologs by Wittig and Knoevenagel reactions with methyl pyropheophorbide-d, *Tetrahedron* **1998**, *53*, 10677-10688.
[258] X. M. Zhang, F. G. Bordwell, Equilibrium acidities and homolytic bond dissociation energies of the acidic carbon-hydrogen bonds in P-substituted triphenylphosphonium cations, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 968-972.
[259] R. A. Abramovitch, B. J. W. C., Ring contraction of 2-azidoquinoline and quinoxaline 1-oxides, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 5316-5319.
[260] C. Peppe, P. de Azevedo Mello, R. Pavao das Chagas, Indium(I) bromide-mediated coupling of dibromoacetonitrile with aldehydes followed by Boord elimination of bromine and oxygen of β-bromo alkoxides for preparation of 3-organyl-2-alkenenitriles, *J. Organomet. Chem.* **2006**, *69*, 2335 - 2339.
[261] C. Qin, N. Jiao, Iron-Facilitated Direct Oxidative C-H Transformation of Allylarenes or Alkenes to Alkenyl Nitriles, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15893 - 15895.
[262] F. Fang, Y. Li, S.-K. Tian, Stereoselective Olefination of N-Sulfonyl Imines with Stabilized Phosphonium Ylides for the Synthesis of Electron-Deficient Alkenes, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 1084 - 1091.