

## Molekulare Schalter

DOI: 10.1002/ange.200602591

## Reversible rot fluoreszierende molekulare Schalter\*\*

Mariano Bossi, Vladimir Belov, Svetlana Polyakova  
und Stefan W. Hell\*

Materialien, deren chemische und physikalische Eigenschaften lichtinduziert moduliert werden können, kommen für Anwendungen in optischen Aufnahmesystemen, holographisch beschreibbaren Speichermedien, Biosensoren und

mikroskopischen Verfahren in Frage.<sup>[1]</sup> Insbesondere bieten sich photochrome Verbindungen an, die durch Licht zwischen zwei Zuständen mit unterschiedlichen spektroskopischen Eigenschaften umgewandelt werden können.<sup>[2]</sup> Dies kann genutzt werden, um sekundäre Funktionen auf der molekularen oder supramolekularen Ebene lichtinduziert zu modifizieren oder sogar umzuschalten.

Das reversible optische Schalten von Fluoreszenz bildet die Grundlage eines neuen physikalischen Konzepts der Fernfeldlichtmikroskopie, das die beugungsbedingte Auflösungsgrenze von etwa einer halben Lichtwellenlänge durchbricht.<sup>[3]</sup> Eine Auflösung von 16 nm, entsprechend 1/46 der Lichtwellenlänge, wurde bereits durch STED-Mikroskopie erreicht (STED = stimulated emission depletion; Abregung durch stimulierte Emission). Bei diesem Verfahren wird die Fluoreszenz molekularer Marker mit ultraschnellen Laserpulsen ein- und ausgeschaltet, wobei das Ausschalten mit einem intensiven Laserpuls erfolgt, der die Fluoreszenz des Markers durch stimulierte Emission löscht.<sup>[3a]</sup> Eine Verallgemeinerung des Konzepts – als RESOLFT (reversible saturable optical fluorescent transitions) bezeichnet<sup>[3b,c]</sup> – hat ergeben, dass der Einsatz intensiver ultraschneller Laserpulse vermieden werden kann, wenn zur Fluoreszenzumschaltung photochrome, fluoreszierende Marker verwendet werden.<sup>[3d]</sup> Dieses vielversprechende Verfahren ermöglicht Ortsauflösungen in der Fluoreszenzmikroskopie von einem Bruchteil der Lichtwellenlänge sowie das Schreiben von Nanostrukturen schon mit sehr niedrigen Lichtintensitäten. Allerdings erfüllt keine der bisher synthetisierten photochromen Substanzen alle Anforderungen an die optischen Eigenschaften – d.h. ausgeprägte Fluoreszenzmodulation, hohe Photostabilität und schnelle Schaltzeiten. Hohe Fluoreszenzquantenausbeuten ( $\Phi_F$ ) sind ebenso erwünscht, da sie kurze Bildaufnahmen und Empfindlichkeiten bis hinunter zu einzelnen Molekülen zulassen.

Eine Möglichkeit, die Fluoreszenzeigenschaften eines Farbstoffs zu modulieren,<sup>[4]</sup> besteht darin, eine photochrome Substanz<sup>[5]</sup> mit einem Fluorophor zu verknüpfen. Diese Einheiten können entweder direkt<sup>[6]</sup> oder über einen Linker<sup>[7]</sup> zusammengefügt werden. In diesem Fall wird die Fluoreszenzmodulation durch einen resonanten Energietransfer (RET) gesteuert,<sup>[8]</sup> der vom Fluorophor (RET-Donor) zu einem der Isomere des photochromen Schalters (RET-Acceptor) stattfindet. Um eine hohe RET-Ausbeute sicherzustellen, muss das Absorptionsband des RET-Acceptors mit dem Emissionsband des Donors überlappen.

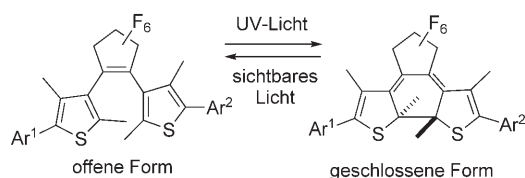
Dihetarylethene haben exzellente photochrome Eigenschaften, lassen sich oft schalten und sind chemisch und thermisch weitgehend stabil. Sie können durch Licht zwischen einer farblosen offenen Form (OF) und einer farbigen geschlossenen Form (CF)<sup>[5a]</sup> reversibel ineinander überführt werden. Die Hinreaktion wird mit UV-Licht ausgelöst, die Rückreaktion durch sichtbares Licht (Schema 1). Daher kann die Fluoreszenz eines Farbstoffes „ausgeschaltet“ werden, wenn dessen Emissionsbereich mit dem Absorptionsbereich der geschlossenen Form eines Dihetarylethens überlappt, das als RET-Acceptor fungiert.

Um die photochromen Reaktionen und besonders die Fluorophoraktivierung zu steuern, wird eine deutliche Tren-

[\*] Dr. M. Bossi, Dr. V. Belov, S. Polyakova, Prof. Dr. S. W. Hell  
Abteilung Nanobiophotonik  
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie  
Am Fassberg 11, 37077 Göttingen (Deutschland)  
Fax: (+49) 551-201-2505  
E-Mail: shell@gwdg.de

[\*\*] Wir danken R. Machinek und Mitarbeitern sowie Dr. H. Frauendorf, G. Udvarnoki, G. Krökel und F. Hambloch für die am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Universität Göttingen durchgeführten Analysen. L. Kastrup, C. Eggeling und J. Jethwa danken wir für das kritische Lesen des Manuskripts. M.B. und S.W.H. bedanken sich bei der Europäischen Union für ein Marie-Curie-Stipendium bzw. für Förderung im Rahmen des SPOTLITE-Projekts (NEST-Adventure).

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



**Schema 1.** Photochromes Verhalten von 1,2-Bis(thiophen-3-yl)cyclopenten.

nung der drei Absorptionsbereiche der offenen und geschlossenen Form sowie der Fluoreszenzanregung angestrebt. Allerdings erfüllen die meisten der bisher beschriebenen Schalter diese Bedingung nicht.<sup>[9]</sup> Die meisten Verbindungen mit hoher Fluoreszenzmodulation (FM) haben nur mittlere oder niedrige  $\Phi_{\text{F}}$ -Werte;<sup>[6d-f,h,j,n]</sup> in einigen Fällen wurden diese Werte nicht mitgeteilt.<sup>[6a-c,i,k,l,7a,b,d]</sup> Andere Verbindungen haben eine relativ niedrige Fluoreszenzmodulation, besonders wenn die Ringschlussreaktion nicht bei kurzen Wellenlängen (254 nm oder 313 nm) ausgelöst wird.<sup>[6c,d,7b]</sup> Ihr Einsatz in der biologischen Mikroskopie ist wegen des hohen Autofluoreszenzhintergrundes und der zu erwartenden Photozerstörung fraglich. Außerdem sind Mikroskopobjektive mit hoher numerischer Apertur (1.35–1.45) nur für Wellenlängen über 360 nm optisch gut korrigierbar. Unser Ziel war daher die Synthese von optisch schaltbaren fluoreszierenden Verbindungen mit bedeutend verbesserten Eigenschaften im sichtbaren und nahen UV-Bereich. Besonderer Wert wurde auf hohe Fluoreszenzmodulationen bei längeren Schaltwellenlängen und zugleich hohen  $\Phi_{\text{F}}$ -Werten gelegt. Zu diesem Zweck mussten wir eine stabile photochrome Einheit und einen chemo- und photostabilen Fluorophor finden und beide Einheiten mit einem Linker verknüpfen, der einen effektiven RET zwischen Donor und Acceptor ermöglicht.

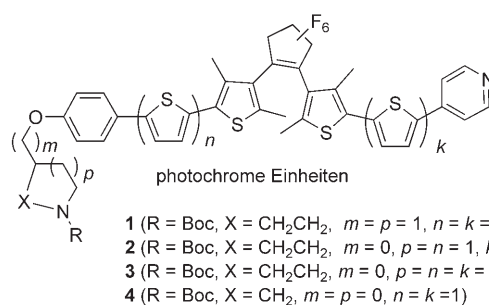
Rhodamin-Farbstoffe sind gute Fluorophore mit hoher Absorption und Fluoreszenzquantenausbeute und zeichnen sich außerdem durch hohe Photostabilität und niedrige Triplettübergangsgeschwindigkeiten aus. Sie werden in biologischen Anwendungen häufig eingesetzt, da ihr Anregungsbereich von 550–600 nm verglichen mit einer Anregung im blauen oder UV-Bereich nur wenig Autofluoreszenz verursacht. Wegen seines hohen Substitutionsgrades ist das flache Molekül Rhodamin 101 (Rh 101) eine der stabilsten fluoreszierenden Verbindungen mit  $\Phi_{\text{F}} \approx 1$ .<sup>[10a]</sup> Seine Carboxygruppe ist sterisch abgeschirmt, weshalb Additionsreaktionen mit Aminen eine besondere Aktivierung erfordern (die Amino-Gruppe ist eine gängige funktionelle Gruppe des Linkers zur Kupplung an den Farbstoff).<sup>[10b]</sup> Die Acylierung von Piperidin (ausgewählt als Linker-Prototyp) mit Rh 101 unter Bildung von Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> resultiert in einer Rotverschiebung des Absorptionsmaximums von 560 nach 583 nm und des Emissionsmaximums von 589 nach 604 nm ohne bedeutende Veränderung von  $\Phi_{\text{F}}$  (Tabelle 1). Diese Verbindung wurde hergestellt, um den Einfluss der Amidierung zu untersuchen und um die Fluoreszenz von Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> in Abwesenheit eines RET abschätzen zu können. Der Emissionsbereich von Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> erfordert ein photochromes System mit einem Absorptionsmaximum der geschlossenen Form von 620–640 nm.

**Tabelle 1:** Photochemische und photophysikalische Eigenschaften der Bausteine 1–3 und von Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>.<sup>[a]</sup>

Verb.	$\lambda^{\text{max}}/\epsilon \times 10^{-4}$ <sup>[b]</sup>		$\alpha_{\text{ps}}$ <sup>[c]</sup>	$\Phi$		$R_0$ [Å]
	OF	CF		OF → CF <sup>[c]</sup>	CF → OF	
1	277/3.0	578/1.4	0.88	0.28	$8.2 \times 10^{-3}$ <sup>[d]</sup>	44
2	342/2.4	605/1.5	0.95	0.065	$7.3 \times 10^{-4}$ <sup>[d]</sup>	49
3	308/2.3	640/1.9	0.96	0.10	$2.5 \times 10^{-4}$ <sup>[e]</sup>	51
Rh-NC <sub>5</sub> H <sub>10</sub>	583/10	(Emissionsmaximum: 604)				

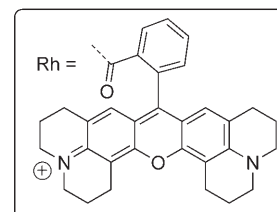
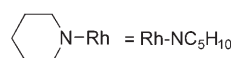
[a] Absorptionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) wurden der Abbildung 1 entnommen, der Umwandlungsgrad im photostationären Zustand ( $\alpha_{\text{ps}}$ ) wurde durch HPLC gemessen, und die Quantenausbeuten der photochromen Reaktionen ( $\Phi_{\text{OF} \rightarrow \text{CF}}$  und  $\Phi_{\text{CF} \rightarrow \text{OF}}$ ) wurden aus den Beleuchtungsexperimenten berechnet.<sup>[14]</sup> Die Förster-Radii ( $R_0$ ) für den RET zwischen den geschlossenen Formen und der Fluoreszenzeinheit Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> wurden aus den spektroskopischen Eigenschaften der Komponenten berechnet (siehe Abbildung 1).<sup>[16]</sup> Die Fehler betragen 10% für die Quantenausbeuten und die Absorptionskoeffizienten und 2% für die Konvertierung im photostationären Zustand. [b]  $\lambda$  in nm,  $\epsilon$  in  $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . [c] Bestrahlungslicht: 313 nm. [d] Bestrahlungslicht: 577 nm. [e] Bestrahlungslicht: 610 nm.

Als Ausgangspunkt haben wir eine von Lehn und Mitarbeitern<sup>[11]</sup> beschriebene Verbindung gewählt. Dieses besteht aus 1,2-Bis(2-methyl-3-thienyl)perfluorocyclopenten als Kernstruktur mit einer 4-Hydroxyphenylgruppe in Position 5 eines der Thiophenringe und einem 4-Pyridylsubstituenten in Position 5' des anderen Thiophenrings. In Benzol absorbieren die offene und geschlossene Form bei 296 bzw. 602 nm. Der Umwandlungsgrad zur geschlossenen Form im photostationären Zustand ( $\alpha_{\text{ps}}$ ) wurde mit >98% angegeben (in Benzol). Um die photochemische Stabilität zu erhöhen, blockierten wir alle unsubstituierten Thiophenpositionen mit einer Methylgruppe<sup>[12]</sup> und synthetisierten so die photochrome Verbindung **1** (Schema 2). Die wichtigsten Absorptionsmaxima der offenen und geschlossenen Form liegen bei 277 und 578 nm (in EtOH). Um die Absorption der geschlossenen Form zu längeren Wellenlängen zu verschieben, fügten wir einen Thiophenring zwischen dem Pyridinring oder der



Addukte mit Rh 101

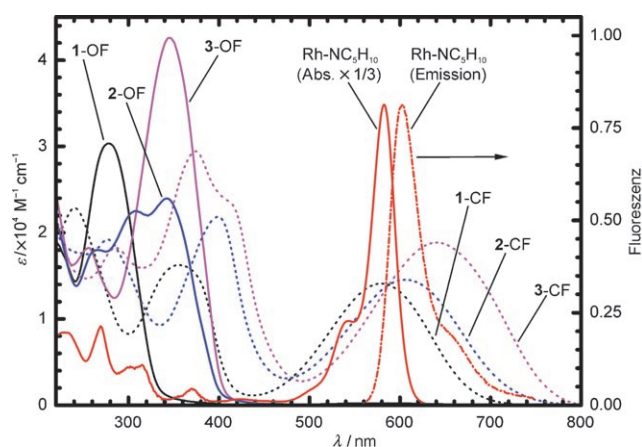
- 5 (R = Rh, X = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, m = 0, p = n = 1, k = 0)  
 6 (R = Rh, X = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, m = 0, p = n = k = 1)  
 7 (R = Rh, X = CH<sub>2</sub>, m = p = 0, n = k = 1)



**Schema 2.** Photochrome Bausteine 1–4 und ihre Addukte mit Rhodamin 101 (5–7). Boc = Butoxycarbonyl.

Phenoxygruppe und dem Hauptkern ein und gelangten damit zu den Verbindungen **2** bzw. **3** mit einem verlängerten  $\pi$ -System. Ein verlängertes  $\pi$ -System erhöht gewöhnlich den  $\varepsilon$ -Wert des geschlossenen Isomers sowie den Umwandlungsgrad zur geschlossenen Form, was auf einen Rückgang in der Quantenausbeute der Ringöffnungsreaktion zurückzuführen ist.<sup>[13]</sup> Die Linker wurden durch Mitsunobu-Reaktion verfügbarer *N*-Boc-4-(hydroxymethyl)piperidine mit 4-Iodphenol synthetisiert.<sup>[14]</sup> Der Vorläufer mit einer kürzeren Bindung wurde aus 2-Phenoxyethylamin erhalten.<sup>[14]</sup> Die Carboxygruppe von Rh101 wurde mit dem Peptidkuppelungsreagens HATU aktiviert, und die Addukte **5–7** wurden in guter Ausbeute isoliert. Falls erforderlich, wurden die Endprodukte zusätzlich durch HPLC gereinigt.

Die spektroskopischen und photochromen Eigenschaften der molekularen Schalter **5–7** und der Bausteine **1–4** sowie von Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> wurden durch Belichten verdünnter Lösungen (ca. 10<sup>−5</sup> M) mit Licht unterschiedlicher Wellenlängen in Ethanol untersucht.<sup>[14]</sup> Die Eigenschaften der Bausteine sind in Abbildung 1 und Tabelle 1 zusammengefasst.



**Abbildung 1.** Absorptionsspektren (linke Achse) der photochromen Verbindungen **1–3**; geschlossene Formen (CF) sind mit gepunkteten Linien, offene Formen (OF) mit durchgehenden Linien dargestellt (**1**: schwarz, **2**: blau, **3**: violett). Ebenfalls gezeigt sind das Absorptionsspektrum (durchgehende rote Linie) und die Fluoreszenzemission (rote gepunktete Linie, rechte Achse) für den fluoreszierenden Baustein Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>.

Bei der photochromen Stammverbindung **1** bleibt die Umwandlung unvollständig ( $\alpha_{\text{PS}} = 88\%$  bei 311 nm), was von großem Nachteil ist, da die maximal erreichbare Fluoreszenzmodulation vom Umsatz der Photoreaktion abhängt. Wir definieren die Fluoreszenzmodulation als  $1 - F_{\text{PS}}/F_0$ , wobei  $F_0$  und  $F_{\text{PS}}$  die Fluoreszenzsignale des Anfangszustands bzw. des photostationären Zustands (PS) sind. Das Einfügen eines oder mehrerer Thiophenringe erhöht  $\alpha_{\text{PS}}$  auf fast 100%. Die Photocyclisierung (OF  $\rightarrow$  CF) wurde mit Licht der Wellenlängen 313, 366 und 375 nm untersucht, wobei keine Wellenlängenabhängig-

keit der  $\alpha_{\text{PS}}$ -Werte festgestellt wurde. Die Zahl der Thiophenringe beeinflusst die Absorptionsspektren der geschlossenen Form, wobei mit steigender Zahl eine Rotverschiebung sowie ein leichter Anstieg des Absorptionskoeffizienten beobachtet wird. Bei der offenen Form führt das Einfügen eines Thiophenrings zu einer spektralen Aufspaltung in zwei Absorptionsbanden (**2**), die gegenüber dem Spektrum von **1** beide rotverschoben sind. Verbindung **3** hat nur eine Hauptbande bei ungefähr der gleichen Wellenlänge wie die Nebenbande von **2** (345 nm). Das Einfügen von Thiopheneinheiten verringerte erwartungsgemäß die Quanteneffizienz der Ringöffnungsreaktion ( $\Phi_{\text{CF} \rightarrow \text{OF}}$ ), während bei der Photocyclisierung kein klarer Trend zu erkennen war. Die spektroskopischen und photochromen Eigenschaften der Verbindungen **3** und **4** waren trotz der unterschiedlichen Linker gleich; daher wurde die Verbindung **4** in Tabelle 1 und Abbildung 1 nicht aufgenommen.

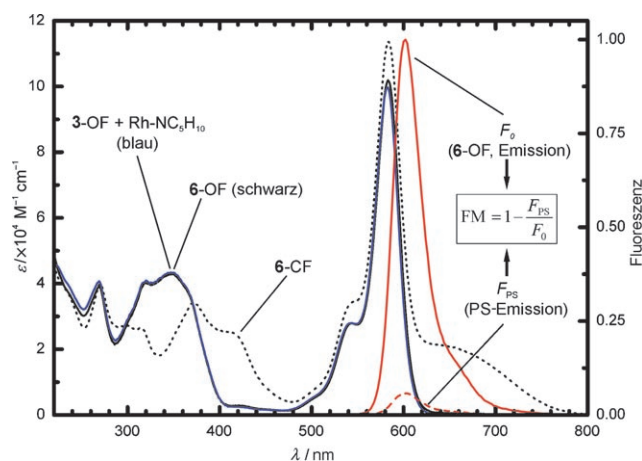
Die photochromen Bausteine **2–4** wurden an Rh101 gebunden, während der Baustein **1** wegen seines niedrigen  $\alpha_{\text{PS}}$ -Wertes ( $< 0.9$ ) unberücksichtigt blieb. Außerdem wurde ein kürzerer Linker verwendet (**4**), um die Auswirkungen eines geringeren Abstandes zwischen Donor und Acceptor zu untersuchen. Die Eigenschaften der Verbindungen **5–7** sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Alle Absorptionsspektren weisen auf das Fehlen von Wechselwirkungen zwischen Donor- und Acceptoreinheiten hin. Als Beispiel sind in Abbildung 2 die Spektren von **6** abgebildet. Die blaue Linie markiert die spektrale Überlappung der Bausteine **3-OF** und Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub>. Innerhalb der Messgenauigkeit ist sie identisch mit dem Spektrum von **6-OF** (Abbildung 2, schwarze Linie). Weiterhin sind die Emissionsspektren der Verbindungen **5–7** und Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> gleich, und gegenüber den entsprechenden photochromen Bausteinen **2–4** wurde in allen Fällen ein verringerter  $\Phi_{\text{OF} \rightarrow \text{CF}}$ -Wert beobachtet. Dies kann damit erklärt werden,<sup>[7c]</sup> dass ein Teil des Bestrahlungslichts vom Fluoreszenzfarbstoff absorbiert wird und damit nicht zur Photocyclisierung beitragen kann. Verglichen mit den entsprechenden photochromen Bausteinen **2–4** sind die Ausbeuten der Rückreaktionen ( $\Phi_{\text{CF} \rightarrow \text{OF}}$ ) beinahe unverändert. Die für  $\alpha_{\text{PS}}$  erhaltenen Werte sind leicht erhöht und liegen für alle Verbindungen **5–7** nahe bei 100%.

Fluoreszenzmodulation, Fluoreszenzquantenausbeuten, Fluoreszenzlebensdauern ( $\tau$ ) und RET-Ausbeuten beider Isomere ( $E_{\text{OF}}$  und  $E_{\text{CF}}$ ) wurden in verdünnten Lösungen

**Tabelle 2:** Photochemische und photophysikalische Eigenschaften der fluoreszierenden Schalter **5–7**.<sup>[a]</sup>

Verbindung	$\Phi$		$\Phi_{\text{FI}}$	$\alpha_{\text{PS}}^{[b]}$	FM	$\tau_{\text{FI}}$ [ns]	$E_{\text{RET}}^{[12]}$	
	OF $\rightarrow$ CF <sup>[b]</sup>	CF $\rightarrow$ OF <sup>[c]</sup>					$E_{\text{OF}}$	$E_{\text{CF}}$
Rh-NC <sub>5</sub> H <sub>10</sub>	–	–	0.97	–	–	4.5	–	–
<b>5</b>	0.032	$5.5 \times 10^{-4}$	0.72	0.98	0.86	3.3	0.26	0.91
<b>6</b>	0.063	$2.2 \times 10^{-4}$	0.72	0.98	0.94	3.3	0.26	0.97
<b>7</b>	0.061	$2.2 \times 10^{-4}$	0.29	0.98	0.92	1.3	0.72	0.98

[a] Die Fluoreszenzmodulation (FM) sowie  $\Phi_{\text{CF} \rightarrow \text{OF}}$  und  $\Phi_{\text{OF} \rightarrow \text{CF}}$  wurden aus Bestrahlungsexperimenten berechnet.  $\alpha_{\text{PS}}$  wurde durch HPLC gemessen<sup>[14]</sup> und  $\Phi_{\text{FI}}$  mithilfe stationärer Methoden bestimmt.<sup>[16]</sup> Die Fluoreszenzlebensdauern ( $\tau_{\text{FI}}$ ) sind für die offene Form angegeben.<sup>[14]</sup> Details zur Berechnung der RET-Ausbeuten ( $E_{\text{OF}}$  und  $E_{\text{CF}}$ ) sind in den Hintergrundinformationen zu finden.<sup>[14]</sup> Die Fehler der Quantenausbeuten und der Absorptionskoeffizienten betragen 10%, die der Fluoreszenzlebensdauern 5% und die der Umwandlungsgrade im photostationären Zustand 2%. [b] Bestrahlungslicht: 313 nm. [c] Bestrahlungslicht: 660 nm.



**Abbildung 2.** Absorptionsspektrum (linke Achse) von **6** (schwarze durchgehende Linie: offene Form, schwarze gepunktete Linie: geschlossene Form) und die Summe der Absorptionsspektren von **3** und Rh-NC<sub>5</sub>H<sub>10</sub> (blaue Linie). Fluoreszenzemission von **6** (rechte Achse) in offener Form (rote durchgehende Linie) und im PS-Zustand unter Beleuchtung mit 375 nm (rote gestrichelte Linie, 98 % geschlossene Form); die unterschiedliche Intensität der Emission verdeutlicht die Fluoreszenzmodulation.

(optische Dichte  $\leq 0.05$ ) gemessen, um Selbstabsorptionseffekte zu vermeiden.<sup>[15]</sup> Aus den Ergebnissen (Tabelle 2) resultieren zwei wichtige Schlussfolgerungen: Zum einen zeigt ein Vergleich der Verbindungen **5** und **6** eine Verstärkung der Fluoreszenzmodulation und eine Erhöhung von  $E_{CF}$  an. Dies ist in Einklang mit dem berechneten  $R_0$ -Wert (Tabelle 1), der für **3**, den Baustein von **6**, etwas größer ist. Zweitens zeigt ein Vergleich der Verbindung **6** und **7**, dass ein kürzerer Linker einen nur wenig höheren  $E_{CF}$ -Wert für **7** bewirkt, der  $E_{OF}$ -Wert aber stark vergrößert. Dies resultiert auch in der niedrigen Fluoreszenzmodulation von **7**. Daraus folgt, dass ohne Einbußen in der Fluoreszenzmodulation ein längerer Linker genutzt werden kann, um  $E_{OF}$  zu verringern und  $E_{CF}$  unverändert zu lassen. Mit anderen Worten kann der Linker problemlos verlängert werden, um das gesamte Konstrukt als Marker an ein Substrat zu kuppeln.

Zusammenfassend haben wir umschaltbare fluoreszierende Verbindungen mit verbesserten Eigenschaften im sichtbaren Wellenlängenbereich hergestellt, die sich für Anwendungen in der Datenspeicherung und Fluoreszenzmikroskopie eignen sollten. Die Photocyclisierung, die für das Verschwinden des fluoreszierenden Signals ausschlaggebend ist, kann mit Licht ausgelöst werden. Die synthetisierten Verbindungen **5–7** zeigen selbst bei einer Wellenlänge von 375 nm, bei der viele der photostabilen Diarylperfluorocyclopentene nicht absorbieren, eine hohe Fluoreszenzmodulation ( $\geq 85\%$ ).<sup>[5a]</sup> Die Photocyclisierung dieser Schalter kann mit Laserdioden erreicht werden. Hohe RET-Ausbeuten für den Energietransfer zwischen dem Fluorophor und den geschlossenen Formen der photochromen Einheiten erklären die beobachteten starken Fluoreszenzmodulationen. Alle Verbindungen haben gute Fluoreszenzquantenausbeuten ( $\geq 30\%$ ), besonders **5** und **6** (70 %). Das Fluoreszenzsignal kann bei 550–600 nm angeregt und zwischen 600 und 700 nm detektiert werden (ein Bereich, in dem nur schwache störende

Hintergrundsignale auftreten). Der nächste Schritt wäre, eine reaktive Gruppe in **6** einzufügen, um eine Kupplung mit Monomeren, Nanoteilchen oder Biomolekülen zu ermöglichen. Interessant wird es auch sein zu untersuchen, ob diese oder ähnliche Verbindungen in einem RESOLFT-Verfahren die Auflösung der Fernfeldmikroskopie erhöhen können.

Eingegangen am 29. Juni 2006

Online veröffentlicht am 16. Oktober 2006

**Stichwörter:** Fluoreszenzmodulation · Heterocyclen · Molekulare Schalter · Photochromie · Rhodamine

- [1] *Organic Photochromic and Thermochromic Compounds*, Vol. 1 (Hrsg.: J. C. Crano, R. J. Gugliemetti), Kluwer/Plenum, New York, **1999**.
- [2] *Molecular Switches* (Hrsg.: B. L. Feringa), Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [3] a) S. W. Hell, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1347–1355; b) V. Westphal, S. W. Hell, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *94*, 143903; c) S. W. Hell, S. Jakobs, L. Kastrup, *Appl. Phys. A* **2003**, *77*, 859–860; d) S. W. Hell, *Phys. Lett. A* **2004**, *326*, 140–145.
- [4] Übersichtsartikel: F. M. Raymo, M. Tomasulo, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 7343–7352.
- [5] Übersicht zu photochromen Eigenschaften von Diarylethenen und Fulgiden: a) M. Irie, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1685–1716; b) Y. Yokoyama, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1717–1739; c) eine neuere Arbeit über Diarylethene: Y.-C. Jeong, S. I. Yang, E. Kim, K.-H. Ahn, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5855–5861.
- [6] a) G. M. Tsivgoulis, J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1188–1191; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1119–1122; b) G. M. Tsivgoulis, J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1399–1406; c) M. Takeshita, M. Irie, *Chem. Lett.* **1998**, 1123–1124; d) A. Osuka, D. Fujikane, H. Shinmori, S. Kobatake, M. Irie, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3913–3923; e) J. Ern, A. T. Bens, H.-D. Martin, S. Mukamel, S. Tretiak, K. Tsyganenko, K. Kuldova, H. P. Trommsdorf, C. Kryshi, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 1741–1749; f) K. Yagi, C. F. Song, M. Irie, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5419–5423; g) T. Kawai, T. Sasaki, M. Irie, *Chem. Commun.* **2001**, 711–712; h) H. Cho, E. Kim, *Macromolecules* **2002**, *35*, 8684–8687; i) T. A. Golovkova, D. V. Kozlov, D. C. Neckers, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5545–5549; j) A. Fernández-Acebes, J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3285–3292; k) T. B. Norsten, N. R. Branda, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 347–349; l) A. L. Myles, N. R. Branda, *Adv. Funct. Mater.* **2002**, *12*, 167–173; m) M.-S. Kim, T. Kawai, M. Irie, *Chem. Lett.* **2001**, 702–703; n) R. T. F. Jukes, V. Adamo, F. Hartl, P. Besler, L. De Cola, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 2779–2792.
- [7] a) J. M. Endtner, F. Effenberger, A. Hartschuh, H. Port, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3037–3046; b) L. Giordano, T. M. Jovin, M. Irie, E. A. Jares-Erijman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7481–7489; c) T. Fukaminato, T. Sasaki, T. Kawai, N. Tamai, M. Irie, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14843–14849; d) M. Frigoli, G. H. Mehl, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5243–5250.
- [8] B. W. van der Meer, G. Coker III, S.-Y. S. Chen, *Resonance Energy Transfer: Theory and Data*, Wiley-VCH, Weinheim, **1991**.
- [9] Eine außerordentliche Fluoreszenzmodulation wurde für kondensierte Dithieno(thiophene)<sup>[6a,b]</sup> oder Ethinyl-Bodipy-Derivate<sup>[6i]</sup> beschrieben, die als Fluoreszenzmarkierungen direkt an 1,2-Bis(2-alkyl-3-thienyl)perfluorocyclopentene gebunden waren. Die höchsten Umwandlungsgrade zum geschlossenen Zustand betrugen 92 %<sup>[6a,b]</sup> und 96 %<sup>[6i]</sup> und wurden bei 365 bzw. 254 nm erreicht. In beiden Fällen betrug die verbleibende Fluoreszenz 10–11 %. Wenn Anthracen durch eine CH<sub>2</sub>-Gruppe mit einem



Acceptor verbunden wurde, resultierte im photostationären Zustand bei 355 nm ein Umwandlungsgrad von 82 % für die nichtfluoreszierende geschlossene Form.<sup>[7a]</sup> Irie et al.<sup>[7c]</sup> nutzten die 1,3-Adamantan-Brücke und untersuchten die molekularen Eigenschaften des stark fluoreszierenden 2,5-Dimethoxybis(9,10-phenylethynyl)anthracens. Ähnliche Anthracenderivate zeigten ca. 80 % Fluoreszenzmodulation und 83 %  $\Phi_{\text{Fl}}$ ,<sup>[6g]</sup> nachdem sie mit zwei Acceptoranteilen verbunden wurden. In einer anderen Studie,<sup>[7b]</sup> in der relativ lange und flexible, mit Bernsteinsäure oder Buttersäure acylierte Cadaverin-Brücken zur Verknüpfung von Lucifergelb mit unterschiedlichen Acceptoren genutzt wurden, wurde ein Fluoreszenzrückgang auf 65 % oder 84 % im photostationären Zustand beobachtet (in MeOH, bei 313 oder 320 nm).

- [10] a) T. Karstens, K. Kobs, *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 871–872; b) T. Nguyen, M. B. Francis, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3245–3248.
- [11] a) S. H. Kawai, S. L. Gilat, R. Ponsinet, J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1995**, *1*, 285–293; b) S. H. Kawai, S. L. Gilat, J.-M. Lehn, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2359–2366.
- [12] Es ist bekannt, dass dieses Substitutionsmuster die photochemische Stabilität gegen irreversible Isomerisierung erhöht: M. Irie, T. Lifka, K. Uchida, S. Kobatake, Y. Shindo, *Chem. Commun.* **1999**, 747–750.
- [13] G. M. Tsivgoulis, J.-M. Lehn, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 39–41.
- [14] Siehe Hintergrundinformationen.
- [15] J. R. Lackowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2. Aufl., Kluwer/Plenum, New York, **1999**.
- [16] B. Valeur, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.