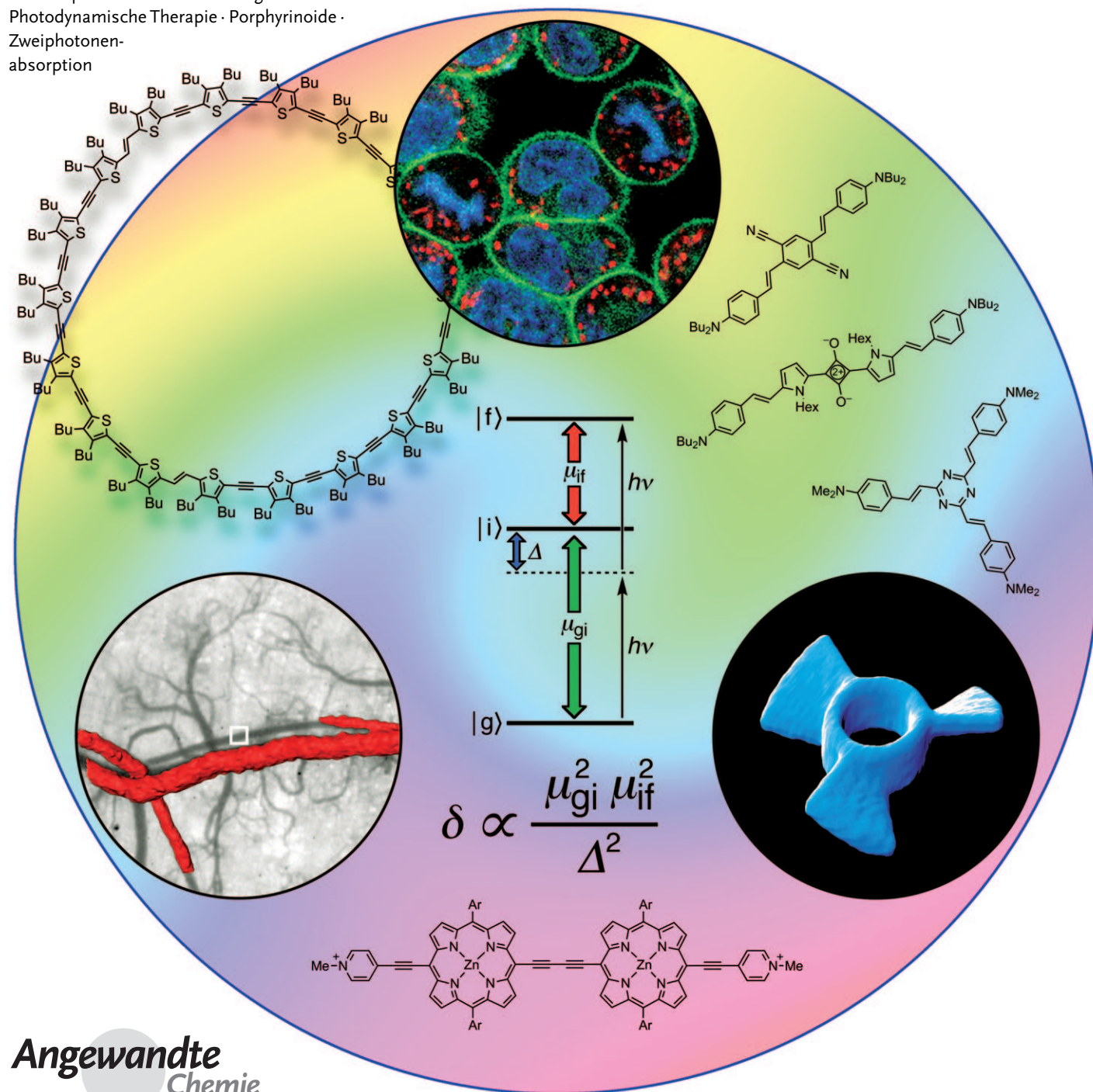


Zweiphotonenabsorption und das Design von Zweiphotonenfarbstoffen

Miłosz Pawlicki, Hazel A. Collins, Robert G. Denning* und Harry L. Anderson*

Stichwörter:

Chromophore · Photoaktivierung ·
Photodynamische Therapie · Porphyrinoide ·
Zweiphotonen-
absorption



Gegenüber der herkömmlichen Einphotonenabsorption bietet die Zweiphotonenabsorption etliche Vorteile, die zu Anwendungen in der Mikroskopie und Mikrofabrikation, der optischen Leistungsbegrenzung, in Upconversion-Lasern und dreidimensionalen Datenspeichern, der photodynamischen Therapie und der lokalisierten Freisetzung biologisch aktiver Spezies geführt haben. Diese Anwendungen haben wiederum die Entwicklung neuartiger Farbstoffe mit großen Zweiphotonenabsorptionsquerschnitten vorangetrieben. Dieser Aufsatz beginnt mit den theoretischen Grundlagen der Zweiphotonenabsorption, stellt die Vielfalt möglicher Anwendungen vor und beschreibt erste Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, die als Leitlinien bei der Entwicklung effizienter Zweiphotonenfarbstoffe dienen können.

Aus dem Inhalt

1. Einführung	3293
2. Theorie der Zweiphotonenabsorption	3294
3. Messung von 2PA-Querschnitten und Aufnahme von 2PA-Spektren	3297
4. Design-Strategien und Struktur-Eigenschafts-Beziehungen	3298
5. Anwendungen der Zweiphotonenanregung	3305
6. Zusammenfassung und Ausblick	3312

1. Einführung

Die praktisch zeitgleiche Absorption zweier Photonen durch ein und dasselbe Molekül wurde in den 1930er Jahren zunächst von Göppert-Mayer (Abbildung 1) theoretisch



Abbildung 1. Maria Göppert-Mayer entwickelte in den 1930er Jahren, gegen Ende ihrer Promotionszeit, die Theorie der Zweiphotonenabsorption. Die Einheit GM für den 2PA-Querschnitt ist nach ihr benannt. Für ihre theoretischen Untersuchungen zur Struktur von Atomkernen wurde ihr 1963 der Physik-Nobelpreis verliehen.

analysiert^[1] und im Jahr 1961, kurz nach der Erfindung des Lasers, erstmals experimentell nachgewiesen.^[2] Mit der Entwicklung und Verbreitung der Subpikosekundenlaser (insbesondere der Ti:Saphir-Laser) in den 1990er Jahren begann sich die Erforschung der Zweiphotonenabsorption dann zu intensivieren. Die Entwicklung der Zweiphotonen-Fluoreszenzmikroskopie durch Webb et al.^[3] und die schnelle Umsetzung dieser Technik auf Seiten der Hersteller von Konfokalmikroskopen hat das Interesse an Mehrphotonenprozessen aller Art sprunghaft ansteigen lassen.^[4]

Der Hauptunterschied zwischen Einphotonenabsorption (1PA) und Zweiphotonenabsorption (2PA) besteht darin,

dass die 2PA die praktisch zeitgleiche Wechselwirkung mit zwei Photonen bedingt und daher mit dem Quadrat der Lichtintensität zunimmt, während die 1PA linear von der Lichtintensität abhängt. Aus diesem Grund wird 2PA nur mit intensiven Laserstrahlen, insbesondere von fokussierten PulsLasern, beobachtet, die für Momente sehr hohe Photondichten erzeugen. Die meisten Anwendungsmöglichkeiten der 2PA resultieren aus dieser Abhängigkeit von der Intensität. Durch 2PA lässt sich ein angeregter Zustand mithilfe von Photonen erreichen, die jeweils nur die Hälfte der Energie mitbringen, die für den entsprechenden Einphotonenübergang erforderlich ist. Anders ausgedrückt haben die Photonen bei der 2PA die doppelte Wellenlänge. In diesem Aufsatz betrachten wir die praktisch zeitgleiche 2PA, nicht hingegen Prozesse, bei denen stufenweise nacheinander zwei Photonen absorbiert werden; solche Prozesse bezeichnen wir als Absorption im angeregten Zustand (excited state absorption, ESA). Wir beschränken uns ferner auf 2PA-Prozesse, bei denen beide Photonen dieselbe Energie haben.

Gegenwärtig herrscht ein großer Bedarf an effizienten 2PA-Farbstoffen für eine breite Anwendungspalette, die von der Mikroskopie^[5,6] und Mikrofabrikation^[7] über dreidimensionale Datenspeicher,^[8,9] optische Leistungsbegrenzung,^[10] Upconversion-Laser^[11] und photodynamische Therapie^[12] bis hin zur lokalisierten Freisetzung biologisch aktiver Spezies reicht.^[13] Kürzlich ist es durch Fortschritte beim Design und der Synthese von 2PA-Farbstoffen gelungen, diesem Bedarf nachzukommen. Zu diesem Feld liegen ausführliche Übersichtsartikel vor.^[14] Hier identifizieren wir die wichtigsten Prinzipien sowie erste Struktur-Eigenschafts-Beziehungen

[*] Dr. M. Pawlicki, Dr. H. A. Collins, Prof. R. G. Denning, Prof. H. L. Anderson
Department of Chemistry, University of Oxford, Chemistry Research Laboratory, 12 Mansfield Road, Oxford, OX1 3TA (Großbritannien)
Fax: (+44) 1865-285-002
E-Mail: bob.denning@chem.ox.ac.uk
harry.anderson@chem.ox.ac.uk
Homepage: <http://hla.chem.ox.ac.uk/>

anhand von Vergleichen weniger ausgewählter Chromophore. Wir schließen mit einer Diskussion zum Design von Zweiphotonenfarbstoffen für die wichtigsten Anwendungen.

2. Theorie der Zweiphotonenabsorption

2.1. Grundlagen

Wenn man entsprechende Annahmen wie beim Lambert-Beer-Gesetz für die 1PA trifft, dann ist die Abschwächung eines Lichtstrahls durch eine 2PA mit Gleichung (1) zu beschreiben:

$$\partial I / \partial z = -N \alpha_2 I^2 = -N \delta F I \quad (1)$$

Darin ist I die Intensität, z die Weglänge im Medium, N die volumenbezogene Chromophorzahl und α_2 ein molekularer Koeffizient für die 2PA. Die Intensität kann auch ausgedrückt werden als ein Photonenfluss $F = I/h\nu$ (mit der Einheit „Photonen $s^{-1} cm^{-2}$ “; $h\nu$ ist die Energie der Photonen). Dann wird der Koeffizient δ (der molekulare 2PA-Querschnitt) in Gleichung (1) eingeführt, den man üblicherweise in Göppert-Mayer-Einheiten ($1 GM \equiv 10^{-50} cm^4 s Photon^{-1} Molekül^{-1}$) angibt.

Bei Licht mit einer Polarisationssebene ergibt sich der Wert von δ für einen Übergang vom Grundzustand g in einen Endzustand f am Maximum einer 2PA-Bande mit Lorentz-Linienform durch Gleichung (2):^[15–18]

$$\delta_{\max} = \frac{2\pi h\nu^2 L^4}{\epsilon_0^2 n^2 c^2} \left(\frac{1}{\Gamma} \right) S_{fg} \quad (2)$$

mit $S_{fg} = \left[\sum_i \frac{\langle \mu_{gi} \mu_{if} \rangle}{(E_{gi} - h\nu)} \right]^2$

E_{gi} ist dabei die Energielücke zwischen dem Grundzustand und einem Zwischenzustand i und Γ ist die Hälfte der Halbwertsbreite der 2PA-Bande in Energieeinheiten. Die Summierung erfolgt über alle Zustände des Moleküls. Der Faktor $L = (n^2 + 2)/3$ (mit dem Brechungsindex n) beschreibt

die Verstärkung des elektrischen Felds einer Lichtwelle im Medium relativ zum Vakuum. μ_{kl} ist die Amplitude des oszillierenden Übergangsdipolmoments (oder die Polarisierung), die durch das elektrische Feld einer Lichtwelle induziert wird, deren Frequenz mit der Energiedifferenz zwischen dem k - und dem l -Zustand übereinstimmt (Resonanz). In Lösung rotieren die Übergangsdipolmoment-Vektoren μ_{kl} mit dem Molekül, sodass über alle Orientierungen des Moleküls durch Projektion auf die Richtung des elektrischen Feldes gemittelt werden muss [daher der Ausdruck in den Spitzklammern in Gleichung (2)]. Die Bildung dieses Mittelwerts ist nicht einfach;^[19] wenn alle Momente μ_{gi} und μ_{if} parallel zueinander sind, ist das Resultat 1/5. Da dies für die weitaus meisten stark absorbierenden Zweiphotonenfarbstoffe zutrifft, können wir uns der Vektornotation entledigen, und nach Umstellen gelangen wir zu Gleichung (3):

$$S_{fg} = \frac{1}{5} \left[\underbrace{\left(\frac{\Delta \mu_{gf} \mu_{gf}}{h\nu} \right)^2}_{\text{D-Term}} + \sum_{i \neq j, g} \underbrace{\left(\frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{(E_{gi} - h\nu)^2} \right)}_{\text{T-Term}} \right] \quad (3)$$

$\Delta \mu_{gf}$ ist die Änderung des statischen Dipolmoments beim Übergang vom Grund- zum Endzustand. Die beiden Teile von Gleichung (3) werden als D-Term (für „dipolar“) und T-Term (für „two-photon“) bezeichnet.^[20]

2.2. Zustandsmodelle

In zentrosymmetrischen Molekülen haben alle statischen Dipolmomente den Wert null, und der D-Term entfällt. Der 2PA-Querschnitt wird oft von der Wechselwirkung des Grundzustands mit lediglich zwei angeregten Zuständen bestimmt. In diesem Fall reduziert sich die Summe in Gleichung (3) auf einen einzigen Term, und der 2PA-Querschnitt lässt sich mithilfe von Gleichung (4) abschätzen, wobei C eine Konstante ist.

$$\delta_{\max} \approx C \frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{[(E_{gi}/h\nu) - 1]^2 \Gamma} \quad (4)$$



Harry L. Anderson (rechts) promovierte an der Cambridge University (Großbritannien). Nach einem Postdoktorat an der ETH Zürich (Schweiz) kehrte er 1994 als Lecturer nach Oxford zurück. Er befasst sich mit dem Design und der Synthese molekularer und supramolekularer optoelektronischer Materialien. Den Schwerpunkt legt er dabei auf konjugierte Porphyrinoligomere und Cyclodextrin-verkapselte π -Systeme.

Mikołaj Pawlicki (links) promovierte an der Universität Breslau (Polen) im Jahr 2004 unter der Anleitung von Lechosław Latos-Grażyński. Er arbeitet zurzeit als Marie-Curie-Stipendiat in Oxford an der Synthese von Zweiphotonenfarbstoffen auf Porphyrinbasis. Hazel A. Collins (zweite von links) promovierte 2008 unter der Anleitung von Harry Anderson an der Oxford University über die photodynamische Therapie mithilfe von Zweiphotonenanregung und untersucht nun Farbstoffe für die nichtlinear-optische Bildgebung biologischer Strukturen. Robert G. Denning (zweiter von rechts) ist emeritierter Professor für Chemie an der Oxford University. Er erforscht die optischen Eigenschaften von Festkörpern. Dabei nutzt er Laserspektroskopie und Messungen von nichtlinear-optischen Parametern.

Die drei Zustände dieses Modells haben alternierende Symmetrien: Die Wellenfunktionen für den Grundzustand und den Endzustand, $|g\rangle$ bzw. $|f\rangle$, sind *gerade* (also symmetrisch bezüglich eines Inversionszentrums), während die Wellenfunktion für den Zwischenzustand, $|i\rangle$, *ungerade* ist (also antisymmetrisch). Bei einem linearen Molekül mit D_{2h} -Symmetrie werden diese Zustände als $1A_g$, $1B_{1u}$ und $2A_g$ bezeichnet (Abbildung 2a).^[21,22] Somit sind Einphotonen-

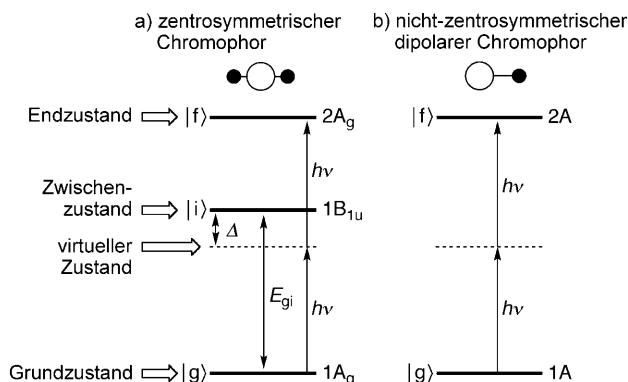


Abbildung 2. Energieniveaudiagramme für die beteiligten elektronischen Zustände in a) zentrosymmetrischen und b) nicht-zentrosymmetrischen Chromophoren. Die Zustände sind hier für Chromophore mit D_{2h} - bzw. C_2 -Symmetrie benannt, das Diagramm gilt aber für den energieärmsten 2PA-Übergang in jedem zentrosymmetrischen bzw. nicht-zentrosymmetrischen Molekül.

übergänge für sowohl $g \leftrightarrow i$ als auch $i \leftrightarrow f$ hinsichtlich des elektrischen Dipols erlaubt. Im Fall einer 2PA resoniert die Lichtfrequenz ν mit keinem dieser beiden Übergänge, vielmehr wird ein nichtstationärer, virtueller Zustand erzeugt, der eine Überlagerung (oder Mischung) von $|g\rangle$ und $|i\rangle$ ist, in der die induzierte Polarisierung von derjenigen des Zwischenzustands entkoppelt ist; der Frequenzunterschied entspricht dabei der Energie $\Delta = E_{gi} - h\nu$. Dieser virtuelle Zustand existiert nur solange, wie das Molekül dem Feld des ersten Photons ausgesetzt ist (ungefähr 5 fs).^[23] Durch das transiente Auftreten von $|i\rangle$ mit *ungerader* Parität bei dieser Überlagerung kann ein zweites Photon der Frequenz ν einen Übergang des elektrischen Dipols in den Endzustand $|f\rangle$ mit *gerader* Parität induzieren. Der Übergang $1A_g \leftrightarrow 2A_g$ ist demnach für 2PA erlaubt, für 1PA aber verboten. Diese Umkehrung der Auswahlregeln von 1PA und 2PA gilt allgemein für alle zentrosymmetrischen Chromophore.

In nicht-zentrosymmetrischen Molekülen ist der Übergang $g \leftrightarrow f$ in Abbildung 2b hinsichtlich des elektrischen Dipols erlaubt, und der D-Term in Gleichung (3) ist dann von null verschieden. In diesem Fall übernimmt $|f\rangle$ die Rolle von $|i\rangle$, und der Übergang tritt nun bei 1PA und 2PA auf. In dipolaren Chromophoren ist der Beitrag des T-Terms kleiner, weil er sich auf Übergänge in höhere Zustände bezieht ($|i\rangle$ liegt jetzt oberhalb von $|f\rangle$, daher ist $\Delta > h\nu$). Falls $|i\rangle$ unter $|f\rangle$ liegt (wie in Abbildung 2a), dann folgt $\Delta < h\nu$, und der D-Term für dipolare Chromophore wird in Gleichung (3) unter der Annahme $\Delta\mu_{ki} \approx \mu_{ki}$ zwingend kleiner als der T-Term für zentrosymmetrische Systeme. Dies erklärt zu einem gewissen

Maß, warum die meisten dipolaren 2PA-Chromophore geringere Absorptionsquerschnitte aufweisen als vergleichbare quadrupolare Analoga.

μ_{gi}^2 und μ_{gf}^2 sind proportional zur jeweiligen Einphotonen-Oszillatorstärke, sodass diese Größen entsprechenden Absorptionsspektren entnommen werden können. μ_{if} wird dagegen nur selten experimentell bestimmt, sodass man beim Design effizienter 2PA-Chromophore bisher eher empirisch vorgeht und sich auf berechnete Übergangsmomente stützt. Das Anbringen eines Elektronendonors D und eines Elektronenakzeptors A an den Enden eines konjugierten Chromophors führt zu D- π -A-Systemen und erhöht μ_{gf}^2 , weil die Ladungsverschiebung während des Übergangs von einem donorzentrierten HOMO auf ein akzeptorzentriertes LUMO verstärkt wird. Zentrosymmetrische Analoga mit D- π -A- π -D- oder A- π -D- π -A-Struktur nutzen dasselbe Prinzip und sind effiziente 2PA-Chromophore.^[24,25]

2.3. Molekülorbital-Beschreibungen

Genaue Berechnungen für δ müssen Elektronenkorrelationseffekte berücksichtigen, die als Konfigurationswechselwirkung (configuration interaction, CI) bezeichnet werden;^[21] die angeregten Zustände sind also nicht einfach durch Änderung der Besetzung elementarer Molekülorbitale darzustellen. Diese Schwierigkeit lässt sich durch die Verwendung „natürlicher Übergangsorte“^[26] weitgehend umgehen; mithilfe der natürlichen Übergangsorte lässt sich die Rolle der einzelnen Konfigurationen, die zu einem angeregten Zustand beitragen, in Form von „Elektron“- und „Loch“-Verteilungen veranschaulichen. Abbildung 3 zeigt beispielsweise die mit einer DFT-Simulation berechneten Ladungsverschiebungen als Folge von μ_{gi} und μ_{if} im Molekül **1**, für das eine 2PA-Bande um 700 nm mit $\delta_{\max} \approx 500$ GM infolge des $1A_g \rightarrow 2A_g$ -Übergangs bei 3.54 eV und eine 1PA-Bande infolge des $1A_g \rightarrow 1B_{1u}$ -Übergangs bei 3.31 eV beobachtet werden.^[27] Im Zwischenzustand $1B_{1u}$ ist das „Loch“ gleichmäßig über die gesamte Chromophorlänge verteilt, das

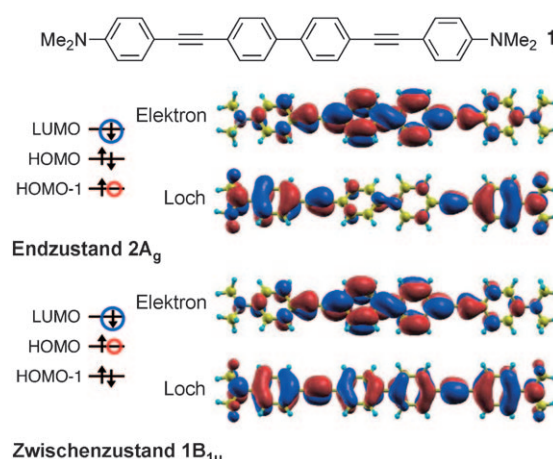


Abbildung 3. Elektronische Strukturen der angeregten $2A_g$ - und $1B_{1u}$ -Zustände von **1**. Die Besetzung von LUMO, HOMO und HOMO-1 links wiedergegeben, rechts die zugehörigen natürlichen Übergangsorte für das „Elektron“ und das „Loch“.^[27]

Elektron hingegen ist nahe dem Molekülzentrum lokalisiert. Der $1A_g \rightarrow 1B_{1u}$ -Übergang resultiert daher in einer Netto-Ladungsverschiebung von den elektronenreichen Endgruppen hin zur zentralen Biphenyleinheit. Im Endzustand $2A_g$ ist das Elektron fast in gleicher Weise verteilt wie im Zwischenzustand $1B_{1u}$, doch das Loch ist nun an den Endgruppen lokalisiert, wodurch sich der quadrupolare Charakter weiter verstärkt.

Abbildung 4 skizziert diesen Prozess, wobei CI-Effekte vernachlässigt wurden (in den Übergangsortbitalen aus Abbildung 3 wurden alle Knoten außer demjenigen am Inversionszentrum in dem senkrecht zu z stehenden Orbital ent-

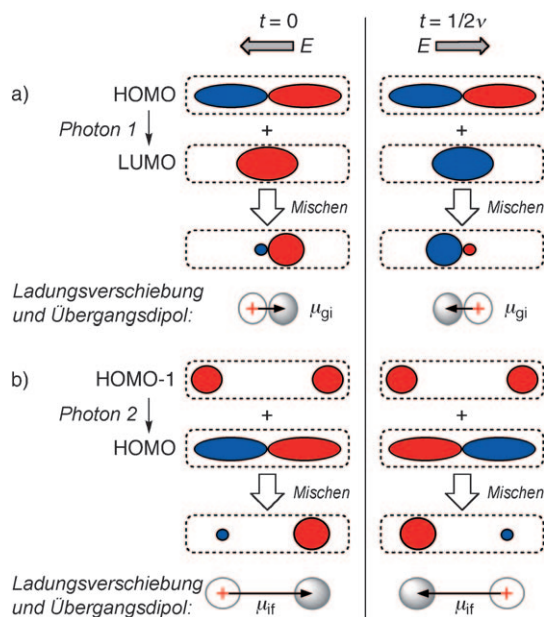


Abbildung 4. Skizzierte Wellenfunktionen und Übergangsdipolmomente für die Übergänge $|g\rangle \rightarrow |i\rangle$ (a) und $|i\rangle \rightarrow |f\rangle$ (b) in 1. Ohne Resonanz ($h\nu \neq E_g$) erzeugt der Prozess in (a) kurzzeitig einen virtuellen Zustand. Die beiden Spalten sind zwei Momentaufnahmen aus dem optischen Zyklus im Zeitabstand $1/2\nu$ (Phasenverschiebung um π), während dem die Richtung des elektrischen Felds E des Photons wechselt. Rot und blau kennzeichnen eine positive bzw. negative Amplitude der Wellenfunktion.

fernt). Die Polarisierung μ_{gi} durch das elektrische Feld des ersten Photons (Abbildung 4a) wird durch die Überlagerung (Mischen) der HOMO- und LUMO-Wellenfunktionen wiedergegeben, deren intrinsische Frequenzen (für die stehenden Wellen) sich um die Frequenz ν des resonanten Übergangs unterscheiden. Das HOMO-LUMO-Mischen durch die Addition der Amplituden führt zu einem Hybrid mit je einer Seite mit großer und kleiner Amplitude; mit dieser Darstellungsweise wird angedeutet, dass es kurzzeitig zu einer dipolaren Ladungsverschiebung kommt. An zwei Punkten im optischen Zyklus (siehe Abbildung 4) mit einer Phasenverschiebung von π bezüglich der Resonanzfrequenz führt das Mischen zu entgegengesetzten dipolaren Ladungsverschiebungen der Größe μ_{gi} . Daher sollte μ_{gi} über einen vollständigen optischen Zyklus integriert werden, der aus zwei Hälften besteht, in denen jeweils Ladung von den entgegengesetzten Enden der D- π -A- π -D-Einheit zum Zentrum ver-

lagert wird. Ein analoger D- π -A-Chromophor wäre nur in eine Richtung polarisierbar (D \rightarrow A) und würde daher nur während einer Hälfte des Polarisierungszyklus beeinflusst, was den Wert für μ_{gi} verringert.

Wenn das elektrische Feld des Photons in Resonanz ist, etwa bei einem erlaubten 1PA-Übergang, schwingt es phasengleich mit der Polarisierung, und es resultiert eine endliche Übergangswahrscheinlichkeit. Ist es nicht in Resonanz, wie bei einer 2PA, so stimmen die Phasen nur kurzzeitig überein – die Wahrscheinlichkeit eines 1PA-Übergangs ist folglich gleich null, und die Polarisierung bei der Lichtfrequenz ist schwach. Die beginnende Bildung eines Lochs im HOMO und eines Elektrons im LUMO erleichtern aber den HOMO-1 \rightarrow HOMO-Übergang durch Absorption eines zweiten Photons (Abbildung 4b). Eine 2PA resultiert schlussendlich in einem Loch im HOMO-1 und einem Elektron im LUMO. Dies entspricht einer quadrupolaren Ladungsverschiebung von den Endgruppen zum Molekülzentrum, die durch die Funktion $2z^2 - x^2 - y^2$ – analog zum Winkelterm der Wellenfunktion für ein d_{z^2} -Orbital – beschrieben werden kann.

2.4. Änderung von δ mit der Chromophorlänge

Der 2PA-Querschnitt eines Moleküls hängt stark von der Länge seines konjugierten π -Systems und somit von der Zahl N_e der π -Elektronen ab. Weil die Übergangsmomente μ_{kl} durch die Entfernung bestimmt werden, über die die Ladung beim Übergang verschoben wird, sollte sich ihr Wert mit zunehmender Länge eines linearen Chromophors gemäß $\mu \propto N_e$ erhöhen. Beim Verlängern eines π -Systems erreicht man jedoch eine Konjugationslänge, jenseits der – aus Gründen wie dem Verlust an Planarität – eine Kohärenz der Wellenfunktion nicht mehr gewährleistet ist, sodass den Elektronen jeweils nur Kettenabschnitte offenstehen. An diesem Punkt nimmt μ einen Maximalwert an, der auch bei einer weiteren Verlängerung der konjugierten Kette nicht überschritten wird. Die Konjugationslänge beschreibt demnach das Ausmaß der π -Delokalisierung. Es ist schwierig vorherzusagen, wie stark sich δ bei der Verlängerung eines π -Systems verändert, weil E_{gi} , $h\nu$ und Γ in Gleichung (4) nicht in trivialer Weise mit N_e zusammenhängen. Diese Parameter lassen sich aber experimentell ermitteln, sodass die Konjugationssignatur S_C als eine neue Maßzahl definiert werden kann [Gl. (5)].^[28]

$$S_C = \delta_{\max} \Gamma[(E_{gi}/h\nu) - 1]^2 = C \mu_{gi}^2 \mu_{if}^2 \quad (5)$$

Weil S_C vom Produkt der Übergangsdipolmomente abhängt, sollte es ein guter Indikator für die effektive Konjugationslänge sein. Man erwartet $S_C \propto N_e^4$ für vollständig konjugierte Systeme und $S_C \propto N_e$ für Moleküle mit mehreren kleinen, nicht gekoppelten Chromophoreinheiten. Aus dem Exponent k in $S_C \propto N_e^k$ wird die Stärke der π -Konjugation ersichtlich. Wird N_e in einer Reihe linearer oligomerer Chromophore vergrößert, so nimmt k von 4 auf 1 ab, bis δ seinen Grenzwert erreicht (siehe Abschnitt 4.1.2.3 für Beispiele und eine Besprechung dieses Konzepts).

2.5. Schlussfolgerungen aus der Theorie

Um den 2PA-Querschnitt eines Chromophors zu maximieren, muss man Folgendes berücksichtigen:

- 1) Lange π -konjugierte Ketten mit erzwungener Coplanarität führen zu großen Konjugationslängen und somit zu hohen Werten für μ_{gi} , μ_{if} , μ_{gf} und/oder $\Delta\mu_{gf}$ [Gl. (3)].
- 2) Donor- und Akzeptorgruppen im Molekülzentrum und als Endgruppen können μ_{gi} , μ_{if} , μ_{gf} und/oder $\Delta\mu_{gf}$ erhöhen.
- 3) Zentrosymmetrische Chromophore zeigen starke 1PA-Übergänge nahe der 2PA-Laserwellenlänge, was für kleine Δ -Werte in großen δ -Werten resultiert [$\Delta = E_{gi} - h\nu$; Abbildung 2a und Gleichung (3)]; für $\Delta = 0$ lässt sich eine 2PA nur schwer beobachten, weil sie mit der 1PA überlappt].
- 4) Chromophore mit schmalen Ein- und Zweiphotonenabsorptionsbanden: Weil die Fläche unter einer 2PA-Bande durch den Wert von S_{fg} vorgegeben ist, ergibt sich aus einer schmalen 2PA-Bande (mit kleinem Γ) direkt ein großer Wert für δ_{\max} [Gl. (2)]. Für zentrosymmetrische Chromophore muss der Zwischenzustand nahe dem virtuellen Zustand liegen, da er aber mit diesem nicht überlappen darf, muss hier die 1PA-Bande schmal sein.

Beim Vergleich der energieärmsten 2PA-Banden von zentrosymmetrischen und nicht-zentrosymmetrischen Chromophoren sind zwei Faktoren wichtig:

- 1) Die Möglichkeit der Resonanz mit einem Zwischenzustand $|i\rangle$, der energetisch etwa halb soweit über dem Grundzustand liegt wie der Endzustand $|f\rangle$, bedingt einen großen T-Term in Gleichung (3) und verstärkt die 2PA für einen zentrosymmetrischen Chromophor. In einem dipolaren Chromophor kann es keine Zwischenzustände geben, die für Einphotonenprozesse erlaubt, aber für Zweiphotonenprozesse verboten sind.
- 2) Das Übergangsmoment μ_{gi} in einem D- π -A- π -D-System wird größer sein als μ_{gf} für ein entsprechendes D- π -A-System, weil D- π -A- π -D in beiden Hälften des optischen Zyklus effektiv polarisiert wird, D- π -A hingegen nur in einer Richtung.

Wegen dieser beiden Faktoren ist der T-Term in Gleichung (3) größer als der D-Term, und die 2PA ist für zentrosymmetrische Chromophore stärker.

3. Messung von 2PA-Querschnitten und Aufnahme von 2PA-Spektren

Vor der Diskussion der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, die auf experimentellen Daten für eine breite Auswahl an Chromophoren beruhen, sollen zunächst die Techniken vorgestellt werden, die bei der Ermittlung von 2PA-Querschnitten Anwendung finden. Die δ -Werte können durch das Auftreten verschiedenartiger Artefakte von Messmethode zu Messmethode stark schwanken.

Die beiden wichtigsten Messtechniken für 2PA-Querschnitte sind der z-Scan und die Fluoreszenz nach Zweiphotonenanregung (two-photon excited fluorescence, TPEF).

Weitere Verfahren liefern weniger direkte Informationen zu 2PA-Querschnitten (z. B. entartetes Vierwellenmischen) oder sind weniger weit verbreitet (z. B. die Weißlichtkontinuums-methode, fs-WLC) und werden hier nicht vorgestellt.

3.1. Die z-Scan-Technik

Bei der z-Scan-Methode wird die Probe entlang der Richtung eines fokussierten Laserstrahls bewegt, und die Lichtintensität wird am Detektor als Funktion der Position auf dieser z-Achse erfasst (Abbildung 5).^[29] Hat der Detektor

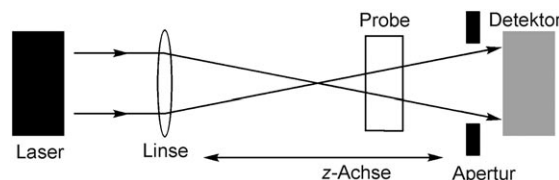


Abbildung 5. Aufbau des z-Scan-Experiments.

eine kleine Öffnung („closed-aperture“-Aufbau), dann liefert das Signal Informationen über intensitätsabhängige Änderungen des Brechungsindex (infolge thermischer Effekte oder durch eine nichtlineare Polarisierbarkeit der dritten Ordnung), die ein selbsttätiges Fokussieren oder Defokussieren des Strahls bewirken. Alternativ kann der Detektor auch das gesamte Licht von der Probe einfangen („open-aperture“-Aufbau); dann gibt das Signal die intensitätsabhängige Transmission wieder, und es kann genutzt werden, um 2PA-Querschnitte zu messen. Zusätzlich zur praktisch zeitgleichen Zweiphotonenabsorption können zwei Effekte zu den scheinbaren 2PA-Querschnitten beitragen, die in derartigen z-Scan-Experimenten erhalten werden:^[29,30]

- 1) Selbsttätiges Defokussieren kann zum Verlust von Lichtintensität führen (falls die Öffnung des Detektors zu klein oder zu weit von der Probe entfernt ist), oder es kann zu einer nichtlinearen Streuung kommen; daraus resultieren zusätzliche Beiträge zur scheinbaren nichtlinearen Absorption.
- 2) Angeregte Zustände können stark besetzt werden (durch Ein- oder Zweiphotonenabsorption), was zu einer nichtlinearen Transmission durch Absorption im angeregten Zustand (ESA) führt. Der Beitrag der ESA kann gesenkt werden, indem man bei Wellenlängen arbeitet, bei denen die 1PA vernachlässigt werden kann, und sehr kurze Laserpulse (< 1 ps) bei niedrigen Wiederholraten verwendet; eine Wiederholrate unter 1 kHz könnte erforderlich sein, damit alle angeregten Triplett-Zustände zwischen den Pulsen relaxieren können.

Die z-Scan-Technik ist sehr nützlich, um die nichtlineare Transmission zu untersuchen (z. B. im Zusammenhang mit optischer Leistungsbegrenzung; Abschnitt 5.9) und die nichtlineare Brechung zu charakterisieren (im „closed-aperture“-Aufbau). Die beiden oben angesprochenen Probleme lassen sich aber nur schwer vermeiden, sodass gewöhnlich zu

hohe scheinbare 2PA-Querschnitte erhalten werden. So können durch Bildung thermischer Linsen erhebliche Artefakte bei der Ermittlung von 2PA-Querschnitten mithilfe der z-Scan-Technik entstehen – selbst dann, wenn Femtosekundenpulse mit 1-kHz-Wiederholrate und einer Wellenlänge mit vernachlässigbarer Einphotonenabsorption zum Einsatz kommen.^[30]

3.2. Fluoreszenz nach Zweiphotonenanregung (TPEF)

Die TPEF-Intensität liefert direkte Informationen über die Effizienz einer 2PA. Seit der Entwicklung durch Xu und Webb^[31] wurden einige Varianten dieses Verfahrens entwickelt. Ist eine geeignete Bezugsverbindung mit bekanntem 2PA-Spektrum verfügbar, dann ist es am einfachsten, die Fluoreszenzspektren der Probe nach Ein- und Zweiphotonenanregung mit Spektren zu vergleichen, die für die Bezugsverbindung unter identischen Bedingungen erhalten wurden. Bei diesem doppelten Vergleich fallen zahlreiche Variablen automatisch weg: Man muss Parameter des Anregungslichts (wie die Pulsenergie und -dauer oder die zeitliche Intensitätsverteilung) ebenso wenig berücksichtigen wie die Abhängigkeit der Detektoreffizienz von der Wellenlänge oder die Konzentration und Fluoreszenzquantenausbeute der Probe. Dafür findet jede Unsicherheit des Einphotonen-Extinktionskoeffizienten ϵ direkt Eingang in den Wert für δ . Die Technik der TPEF wurde von Rebane, Drobizhev und Mitarbeitern stark verbessert;^[32] vor kurzem werteten sie die TPEF als Methode auf, indem sie über exakte 2PA-Bezugspektren für viele kommerziell erhältliche Farbstoffe berichteten.^[33]

Auch TPEF-Experimente erfordern einen Puls laser (mit einer Pulsdauer von üblicherweise 100 fs), doch anders als bei der z-Scan-Methode hängt die Genauigkeit der δ -Werte aus TPEF-Messungen nicht stark von der Pulsweite ab.^[25] Wie bei den meisten Fluoreszenzmessungen werden verdünnte Lösungen verwendet (mit optischen Dichten um 0.1), sodass geringe Probenmengen ausreichen. Die Intensität des TPEF-Signals nimmt mit dem Quadrat der Laserintensität zu; durch Überprüfen dieser Proportionalität ist es möglich, überhöhte Werte für δ zu erkennen, die auf eine Fluoreszenz nach 1PA zurückgehen. Als Einschränkungen der Methode sind also zu nennen, 1) dass sie nicht in Spektralbereichen mit Einphotonenabsorption anwendbar ist und 2) dass die Probe eine Photolumineszenz aufweisen muss. Der erste Punkt trifft allerdings auf alle Messtechniken für 2PA-Querschnitte zu, und das zweite Hindernis lässt sich in manchen Fällen überwinden, indem ein photochemischer Sekundärprozess wie die Lumineszenz von Singulett-Sauerstoff quantifiziert wird, der durch Energieübertragung von dem durch 2PA erzeugten, angeregten Triplett-Zustand des Chromophors entsteht.

In der Praxis erweisen sich durch z-Scan (auch mit Femtosekundenpulsen) gemessene 2PA-Querschnitte beim Vergleich mit den Werten aus TPEF-Experimenten oft als zu hoch.^[34] Daher beziehen wir uns hier wenn möglich auf Werte aus TPEF-Messungen mit Femtosekundenlasern (fs-TPEF).

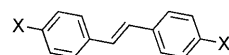
Messungen für 2PA-Querschnitte bei einer einzigen Wellenlänge lassen sich zwar schnell aufnehmen, doch der

Vergleich ganzer Spektren liefert mehr Informationen. Hier diskutieren wir die Maximalwerte δ_{\max} für die 2PA-Querschnitte; falls diese nicht verfügbar sind, führen wir δ -Werte aus Messungen bei nur einer Wellenlänge an. Die Fehler bei der Bestimmung von 2PA-Querschnitten sind auch unter den besten experimentellen Bedingungen größer als 10 %. Daher werden in den folgenden Abschnitten alle δ -Werte auf zwei Stellen gerundet wiedergegeben.

4. Design-Strategien und Struktur-Eigenschafts-Beziehungen

4.1. Lineare Chromophore

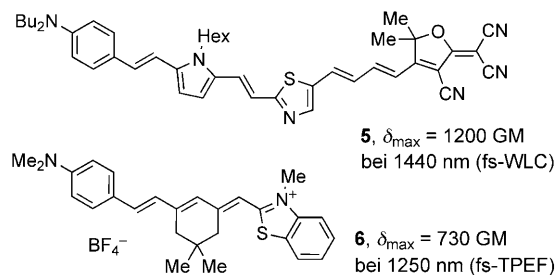
Die Zweiphotonenabsorption durch organische Farbstoffe wurde bereits 1963 experimentell beobachtet,^[35] doch erst viele Jahre später wurden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für eine gezielte Entwicklung von 2PA-Chromophoren etabliert. Im Jahr 1997 berichteten Marder, Perry und Mitarbeiter über eine vergleichende Studie zwischen *trans*-Stilben (2) und dem mit terminalen Donorsubstituenten verse-



- 2, X = H, $\delta_{\max} = 12$ GM bei 514 nm (fs-TPEF)
 3, X = NBU₂, $\delta = 110$ GM bei 620 nm (fs-TPEF)
 4, X = NPh₂, $\delta_{\max} = 340$ GM bei 680 nm (fs-TPEF)

henen Derivat 3.^[36] Der 2PA-Querschnitt von 3 (110 GM) war ungefähr zehnmal so groß wie derjenige der Stammverbindung 2, und ein noch höherer Wert wurde für 4 mit Diphenylamino-Substituenten beobachtet.^[24,33] Die Erkenntnis, dass eine zentrosymmetrische Ladungsverschiebung hohe 2PA-Querschnitte ergibt, führte zu einem allgemeinen Design-Ansatz für 2PA-Chromophore, in denen zwei Donor(D)- oder Akzeptor(A)-Endgruppen über eine π -konjugierte Brücke verknüpft sind.^[24]

Während Marder und Perry an zentrosymmetrischen Chromophoren arbeiteten, entwarfen Reinhardt, Prasad und Mitarbeiter dipolare Farbstoffe mit polarisierbaren Brücken.^[37] Diese D- π -A-Farbstoffe ergaben in z-Scan-Messungen mit Nanosekundenlasern hohe scheinbare 2PA-Querschnitte, in späteren Studien mit Femtosekundenlasern wurden die meisten dieser Werte aber deutlich nach unten korrigiert (< 100 GM).^[38] Einige dipolare Systeme mit recht hohen 2PA-Querschnitten wurden kürzlich beschrieben, z. B. 5^[39] und 6,^[33] doch in der Regel scheint die 2PA für dipolare



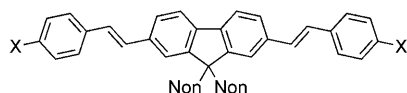
Systeme schwächer zu sein als für zentrosymmetrische Farbstoffe derselben Größe und Komplexität.

Die Variation der Donor- und Akzeptorsubstituenten ist mittlerweile ein beliebter Weg zu neuen Zweiphotonenfarbstoffen. Marder,^[24,39–41] Prasad^[37,42,43] und Blanchard-Desce^[27,44–48] sowie viele andere Forschergruppen haben auf diesem Gebiet wichtige Beiträge geleistet. Schon einfache Struktur-Eigenschafts-Beziehungen können hierbei helfen, obgleich die einzelnen Faktoren, die die Zweiphotonenabsorption beeinflussen, eng miteinander zusammenhängen. Wenn man die Zweiphotonenabsorption durch einen Chromophor verstehen will, muss man auch die Resonanz mit Einphotonenübergängen betrachten (siehe Abschnitt 2), doch bei der Suche nach allgemeinen Trends ist es leider oft unmöglich, solche Phänomene gebührend zu berücksichtigen. Im Folgenden werden wir anhand von Beispielen die wichtigsten Faktoren vorstellen, die die Stärke einer 2PA durch organische Farbstoffe beeinflussen. Einen vollständigen Überblick zu Mehrphotonenfarbstoffen liefern einige aktuelle Übersichten.^[14]

4.1.1. Endgruppen

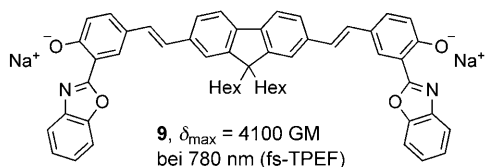
4.1.1.1. Donor-Endgruppen

Dialkyl- oder Diarylaminogruppen sind die häufigsten Donor-Endgruppen, sauerstoffhaltige Funktionen (–OR) sind für gewöhnlich weniger effizient. So ist der 2PA-Querschnitt von **7** (110 GM) zehnmal kleiner als bei der analogen Verbindung **8** mit Stickstoffsubstituenten (1300 GM).^[47] Diese Beobachtung deckt sich mit den Hammett-Koeffizienten: $\sigma_p^+ = -1.7$ für $-\text{NMe}_2$ und $\sigma_p^+ = -0.78$ für $-\text{OMe}$.^[49] Diarylaminogruppen scheinen trotz ihrer geringeren Elektronendonatorwirkung ($\sigma_p^+ = -1.4$ für $-\text{NPh}_2$) bessere Donoren für 2PA-Farbstoffe zu sein (man vergleiche **3** und **4**), dies kann allerdings auf die größere Zahl an π -Elektronen zurückgeführt werden. Erwartungsgemäß sind Phenoxidgruppen sehr starke Donoren ($\sigma_p^+ = -4.27$ für $-\text{O}^-$) mit hohen 2PA-Querschnitten, wie der Vergleich von **9** mit **7** und **8** bestätigt.^[50]

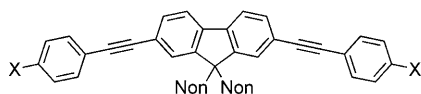


7, X = OMe, $\delta = 110$ GM bei 705 nm (fs-TPEF)

8, X = NBu_2 , $\delta_{\text{max}} = 1300$ GM bei 740 nm (fs-TPEF)



9, $\delta_{\text{max}} = 4100$ GM bei 780 nm (fs-TPEF)



10, X = NHHex_2 , $\delta = 1200$ GM bei 705 nm (fs-TPEF)

11, X = SO_2CF_3 , $\delta = 83$ GM bei 705 nm (fs-TPEF)

4.1.1.2. Akzeptor-Endgruppen

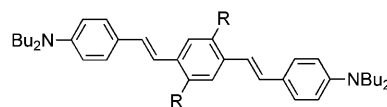
Vielfältige elektronenziehende Endgruppen wurden untersucht,^[14,24,47] darunter auch zahlreiche elektronenarme Heterocyclen. Es scheint jedoch, dass D- π -D- und D- π -A- π -D-Strukturen prinzipiell effizienter sind als A- π -A- und A- π -D- π -A-Systeme (man vergleiche **10** und **11**).^[47]

4.1.2. Brücken und zentrale Einheiten

Beim Vergleich π -konjugierter Brücken sind vor allem vier Parameter zu beachten: 1) die Donor-/Akzeptor-Eigenschaften der Brücke, 2) ihre Größe (die Zahl an π -Elektronen), 3) ihre Konformation (starr oder flexibel) und 4) die Art der Verknüpfung (Alken- oder Alkineinheiten).

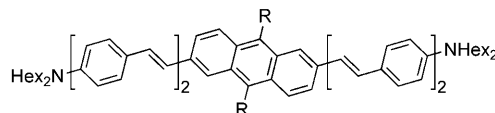
4.1.2.1. Donor-/Akzeptor-Eigenschaften von Brücken und zentralen Einheiten

Zum Einstellen der Eigenschaften von 2PA-Farbstoffen wird häufig das Donor-/Akzeptor-Verhalten der Brücke modifiziert. Die Einführung elektronenziehender Nitrilgruppen an der zentralen Einheit erhöhte δ beim Übergang von **12** zu **13** um den Faktor drei^[24,40] und beim Übergang von **14** zu **15** um den Faktor fünf.^[51]



12, R = H, $\delta_{\text{max}} = 640$ GM bei 725 nm (fs-TPEF)

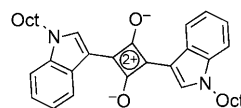
13, R = CN, $\delta_{\text{max}} = 1700$ GM bei 830 nm (fs-TPEF)



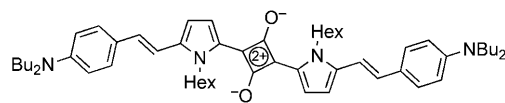
14, R = H, $\delta_{\text{max}} = 1100$ GM bei 800 nm (fs-TPEF)

15, R = CN, $\delta_{\text{max}} = 5500$ GM bei 980 nm (fs-TPEF)

Squarainfarbstoffe sind eine weitere Chromophorklasse mit elektronenarmer zentraler Einheit. Die Verbindungen **16**^[52] und **17**^[41] zeigten eine beachtliche 2PA. Einen Extremfall von Elektronenakzeptoren stellen Carbokationen dar; entsprechend zeichneten sich durch carbokationische Einheiten verbrückte Porphyrindimere durch eine sehr starke 2PA aus.^[53]



16, $\delta = 450$ GM bei 730 nm (fs-TPEF)



17, $\delta_{\text{max}} = 27000$ GM bei 960 nm (fs-z-Scan)

Wie in Abschnitt 4.1.1.2 erwähnt, ist die 2PA für D- π -A- π -D-Chromophore mit elektronenarmen zentralen Einheiten im Allgemeinen stärker als für vergleichbare A- π -D- π -A-Strukturen. Anzumerken bleibt, dass Systeme mit sehr elektronenreichen zentralen Einheiten möglicherweise noch nicht gründlich untersucht wurden, weil sie gegen Luft weniger stabil sind als solche mit elektronenarmen zentralen Einheiten.

4.1.2.2. Länge des π -Systems

Die Länge eines Chromophors (ausgedrückt als N_e , die Zahl an π -Elektronen)^[54] hat starke Auswirkungen auf die Zweiphotonenabsorption (siehe Abschnitt 2.4). Weil der 2PA-Querschnitt eine molekulare Größe ist, sollte sich sein Wert bei der Kupplung zweier Chromophore ohne elektronische Delokalisierung näherungsweise verdoppeln ($\delta \propto N_e$). Sind die π -Systeme hingegen stark gekoppelt, so wird der 2PA-Querschnitt stärker mit N_e zunehmen, weil die Übergangsdipolmomente μ_{ig} und μ_{if} größer werden. Beim Vergleich von δ -Werten für Chromophore mit unterschiedlich vielen π -Elektronen ist es daher sinnvoll, das Verhältnis δ/N_e zu betrachten.

Die Squarainfarbstoffe **16** und **17** zeigen, wie stark der 2PA-Querschnitt durch eine Verlängerung des Chromophors vergrößert werden kann; sie haben normalisierte Querschnitte δ/N_e von 20 bzw. 750 GM pro π -Elektron. Der außergewöhnlich große 2PA-Querschnitt von **17** ergibt sich als Folge einer geringen Entkopplungsenergie $E_{gi} - h\nu$, hoher Übergangsdipolmomente μ_{if} und μ_{ig} sowie einer geringen Linienbreite [kleines Γ in Gleichung (2), Abschnitt 2.1]. Der Unterschied der Werte für die beiden Verbindungen könnte aber zum Teil auch auf die Anwendung unterschiedlicher Messtechniken zurückgeführt werden.

Die Abhängigkeit des Werts für δ von der Länge des konjugierten Systems ist auch aus der Reihe **3**, **12**, **18**, **19** und **20** ersichtlich (Abbildung 6);^[44] das Verhältnis δ/N_e steigt von der ersten bis zur dritten Verbindung schnell und nimmt dann einen Grenzwert an, weil die π -Delokalisierungslänge erreicht ist.

Die Variation des δ/N_e -Verhältnisses wurde auch anhand der Butadiin-verbrückten Oligomere **21–25** untersucht. Der 2PA-Querschnitt pro Porphyrinsystem war beim Porphyrindimer **22** mit 4500 GM ungefähr 200-mal so groß wie beim Monomer **21**.^[32] Mit weiter zunehmender Länge erhöhte sich der 2PA-Querschnitt pro Porphyrineinheit im Tetramer **23** (5500 GM), Octamer **24** (4600 GM) und Polymer **25** (6400 GM) nur noch wenig.^[28]

Ein weiteres Beispiel für die Zunahme von δ/N_e mit N_e liefern die *meso*, β -verknüpften Porphyrinoligomere **26–30** (Abbildung 7).^[55] Auch hier stieg δ/N_e beim Übergang vom Monomer zum Dimer zunächst deutlich, und bis hin zum Pentamer nahm das Verhältnis mit jedem Porphyrinring weiter zu, wenn auch mit immer kleineren Schritten. Noch höhere 2PA-Querschnitte wurden für β ,*meso*, β -verknüpfte Porphyrinoligomere beobachtet.^[56] Es ist nicht leicht, für diese Verbindungen zuverlässige δ -Werte zu erhalten, weil ihre 1PA-Banden sich weit in den Nahinfrarot-Bereich erstrecken. Kürzlich ergaben z-Scan-Messungen bei 2300 nm,

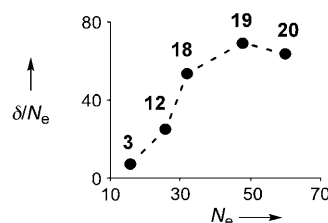
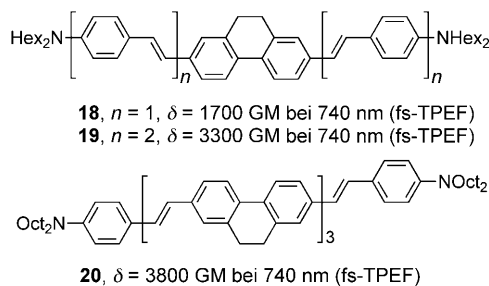


Abbildung 6. Die normalisierten 2PA-Querschnitte δ/N_e für **3**, **12**, **18**, **19** und **20** zeigen, dass δ/N_e bei den längeren π -Systemen einen Grenzwert erreicht.^[24,36,44]

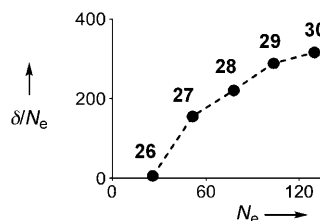
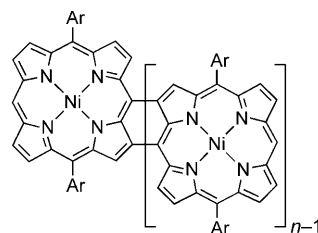
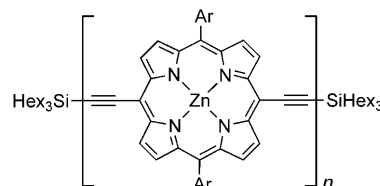
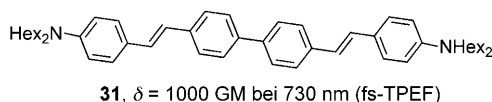


Abbildung 7. Normalisierte 2PA-Querschnitte der Porphyrinoligomere **26–30**.^[55]

wo die Einphotonenabsorption vernachlässigt werden kann, aber einen Wert von $\delta = 41\,000$ GM für das Tetramer.^[57]

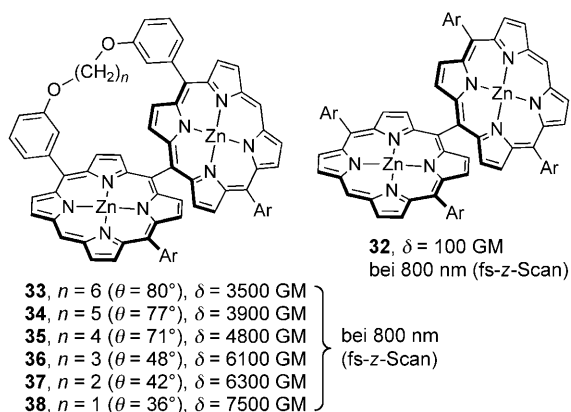
4.1.2.3. Konformation

Die elektronische Kopplung ist dann optimal, wenn ein planares π -System vorliegt, in dem die π -Orbitale am stärksten überlappen können; folglich reagiert die Zweiphotonenabsorption empfindlich auf die Konformation der π -konjugierten Brücke. Der Vergleich von **31** (mit flexibler



Biphenylbrücke)^[47] mit **8** oder **18** (mit starrer Fluoren- bzw. Dihydrophenanthren-Brücke) zeigt beispielhaft, dass der Wechsel von einer flexiblen Brücke zu einer Brücke mit starrer Konformation den Wert von δ erhöht (im Beispiel um Faktoren von 1.3 bzw. 1.7).

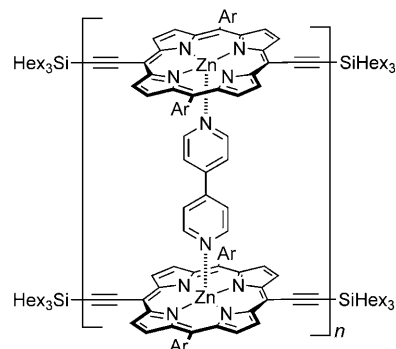
Osuka, Kim und Mitarbeiter zeigten den Einfluss des Diederwinkels auf den 2PA-Querschnitt für die *meso*-verknüpften Porphyrindimere **33–38**.^[56] Der durchschnittliche Diederwinkel θ zwischen den beiden Porphyrin- π -Systemen



(abgeleitet aus Molekülmechanik-Rechnungen) wurde über die Länge des „Henkels“ zwischen den beiden Makrocyclen eingestellt. UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen ergaben, dass kürzere Henkel zu starrereren Dimeren führten, die eine stärkere Konjugation aufwiesen. In der Stammverbindung **32** ohne Henkel standen die Porphyrinsysteme praktisch senkrecht aufeinander ($\theta \approx 90^\circ$, $\delta = 100$ GM). Eine Verkleinerung dieses Winkels auf 80° resultierte für **33** in einem Anstieg von δ auf das 35-fache (3500 GM). Der größte 2PA-Querschnitt wurde für **38** erzielt; mit 7500 GM wurde ein ähnlicher Wert erhalten wie für die konjugierten Porphyrindimere **22** und **27**.

Die Konformation lässt sich auch mithilfe von Selbstorganisation einstellen. Eine Behinderung der freien Drehbarkeit in konjugierten Porphyrinoligomeren erhöht die elek-

tronische Kommunikation und damit den 2PA-Querschnitt. Durch Bildung der starren leiterförmigen Doppelstrang-Komplexe **39–42** mit 4,4'-Bipyridyl vergrößerten sich die 2PA-Querschnitte bei ca. 1300 nm für die Butadiin-ver-

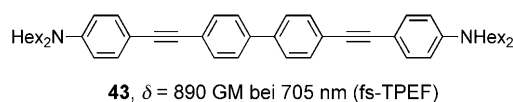


- 39**, $n = 2$, $\delta_{\max} = 13\,000$ GM bei 880 nm (fs-TPEF)
40, $n = 4$, $\delta_{\max} = 18\,000$ GM bei 1305 nm (fs-TPEF)
41, $n = 8$, $\delta_{\max} = 98\,000$ GM bei 1315 nm (fs-TPEF)
42, $n \approx 13$, $\delta_{\max} = 230\,000$ GM bei 1325 nm (fs-TPEF)

knüpften Oligomere **22–25** drastisch.^[28] Bei einem Vergleich der Konjugationssignaturen S_C [siehe Gleichung (5) in Abschnitt 2.4] galt $S_C \propto N_e^4$ für Doppelstränge bis hin zum Tetramer **40**, was auf eine vollständige π -Delokalisierung über alle vier Porphyrineinheiten hindeutet. In den entsprechenden Einzelstrang-Oligomeren **22–25** hing S_C weniger stark von N_e ab. Wasielewski, Kim und Mitarbeiter^[58] wiesen für ein konjugiertes Porphyrintrimer nach, dass die Bildung von Doppelsträngen den 2PA-Querschnitt erhöht, die Bildung eines Tripelstrangs mithilfe eines dreizähligen Liganden aber einen entgegengesetzten Effekt hat. Die 2PA dieser Anordnungen lässt sich demnach noch nicht befriedigend erklären.

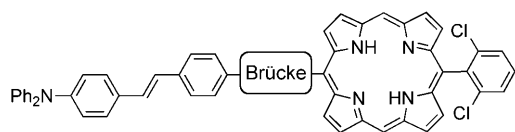
4.1.2.4. Vergleich von Vinylen(sp^2)- und Ethinylen(sp)-Verknüpfungen

Grundsätzlich ist die Konjugation in Ethinylen-Systemen ($-C\equiv C-$) weniger stark ausgeprägt als in entsprechenden Vinylen-Systemen ($trans-CH=CH-$), weil die π - π - und π^* - π^* -Energien an $C(sp^1)-C(sp^2)$ -Verknüpfungsstellen nicht aufeinander abgestimmt sind und weil in den Acetylenen das Ausmaß der Bindungsalternanz größer ist.^[59] Die Auswirkungen auf die 2PA halten sich aber in Grenzen: So ist δ für **8** nur um 5% größer als für **10** und für **31** nur um 15% größer als für **43**. (Allein der Messfehler beträgt bei der experimentellen Bestimmung von δ -Werten bereits ungefähr 10%.^[47])



Wenn sterische Effekte mit hineinspielen, wie bei *meso*-verknüpften Porphyrinen,^[60,61] sind acetylenische Systeme tendenziell stärker konjugiert, weil sie sich im Unterschied zu

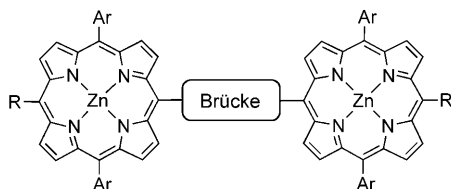
Vinylenverknüpfungen nicht in einen nichtkonjugierten Zustand verdrehen können. Rebane, Spangler und Mitarbeiter ermittelten entsprechend für das vinylenverbrückte Porphyrinsystem **44** einen geringeren 2PA-Querschnitt als für die analoge ethinilenverbrückte Verbindung **45**.^[62]



44, Brücke: $\text{---}\text{CH=CH}\text{---}$, $\delta_{\text{max}} = 560 \text{ GM}$ bei 914 nm (fs-TPEF)

45, Brücke: $\text{---}\text{C}\equiv\text{C}\text{---}$, $\delta_{\text{max}} = 730 \text{ GM}$ bei 820 nm (fs-TPEF)

Auch Porphyrindimere mit Ethinilen- und Vinylenverknüpfungen wurden verglichen. Das ethinilenverknüpfte Dimer **46** hatte einen um das 400-fache höheren 2PA-Quer-



46, Brücke: $\text{---}\text{C}\equiv\text{C}\text{---}$, R = H, $\delta_{\text{max}} = 8200 \text{ GM}$ bei 820 nm (fs-TPEF)

47, Brücke: $\text{---}\text{CH=CH}\text{---}$, R = Ph, $\delta_{\text{max}} = 60 \text{ GM}$ bei 975 nm (fs-TPEF)

48, Brücke: $\text{---}\text{C}\equiv\text{C}\text{---}$, R = H, $\delta_{\text{max}} = 5500 \text{ GM}$ bei 830 nm (fs-TPEF)

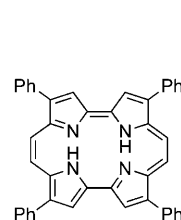
49, Brücke: $\text{---}\text{C}\equiv\text{C}\text{---}$, R = $\text{---}\text{C}\equiv\text{C}\text{---}\text{C}_6\text{H}_4\text{---N}^+\text{Me} \text{I}^-$
 $\delta_{\text{max}} = 17\,000 \text{ GM}$ bei 916 nm (fs-TPEF)

schnitt als das entsprechende Monomer.^[32,63] Bei Verwendung einer Vinylenbrücke war in **47**^[64] die Kommunikation zwischen den Porphyrinsystemen gestört, was in einem deutlich kleineren 2PA-Querschnitt resultierte. Eine Kristallstrukturanalyse belegt, dass das π -System in **47** mit Winkeln von je 45° zwischen der C-CH=CH-C-Brücke und den Ebenen der Porphyrinsysteme verdreht ist. Die kleinen 2PA-Querschnitte für **47** sind aber auch eine Folge der breiten Einphotonenabsorptionsbande, die den für TPEF-Messungen verfügbaren Bereich einschränkt. Wird die Ethinilenbrücke von **46** gegen eine Butadiinbrücke in **48** ausgetauscht, so ergibt sich trotz des längeren π -Systems ein etwas kleinerer 2PA-Querschnitt.^[32,63] Eine Verlängerung des π -Systems durch Einführung endständiger Acetylen substituente führte zu größeren 2PA-Querschnitten (vergleiche **22** in Abschnitt 4.1.2.2). δ konnte im Dimer **49** durch Anbringen zusätzlicher elektronenziehender Endgruppen weiter gesteigert werden ($\delta_{\text{max}} = 17\,000 \text{ GM}$; 8800 GM pro Porphyrineinheit, $\delta/N_e = 240 \text{ GM}$).^[65] Diese Verbindung ist eine aussichtsreiche Leitstruktur für die photodynamische Therapie mithilfe von Zweiphotonenabsorptionen (Abschnitt 5.6).

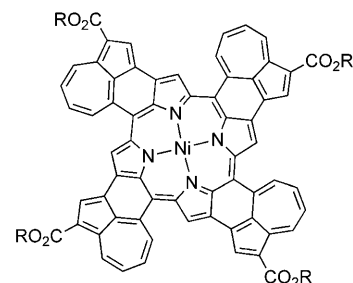
4.2. Zweidimensionale Chromophore

4.2.1. Porphyrine und expandierte Porphyrinoide

Große π -konjugierte Makrocyclen, wie etwa Porphyrine, bieten sich aufgrund ihrer hohen Übergangsdipolmomente als Zweiphotonenfarbstoffe an. Die meisten einfachen Porphyrinmonomere haben 2PA-Querschnitte unter 50 GM ,^[33,66] obgleich für das Porphycen **50**,^[67] ein Isomer von Tetraphen-



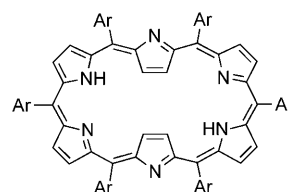
50, $\delta = 2300 \text{ GM}$ bei 770 nm



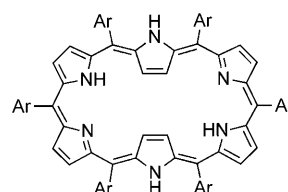
51, R = 2,4,6-Tri-*tert*-butylphenyl
 $\delta = 7200 \text{ GM}$ bei 1380 nm (fs-z-Scan)

nylporphyrin, ein hoher δ -Wert bestimmt wurde. Dagegen erreichten konjugierte Porphyrinanordnungen sehr hohe δ -Werte (siehe Abschnitt 4.1.2.2).^[68] Porphyrine mit erweiterten π -Systemen wie Osukas Azulen-annelierte Verbindung **51** zeigen ebenfalls eine starke 2PA.^[69]

Auch für expandierte Porphyrinanaloge wurden hohe 2PA-Werte beobachtet. Ahn et al. haben die δ -Werte für zweierlei Hexaphyrine verglichen.^[70] Das [26]Hexaphyrin(1.1.1.1.1.1) **52** hatte mit $\delta/N_e = 260 \text{ GM}$ pro π -Elektron



52, Ar = C_6F_5
 $\delta = 9900 \text{ GM}$ bei 1200 nm (fs-z-Scan)



53, Ar = C_6F_5
 $\delta = 2600 \text{ GM}$ bei 1200 nm (fs-z-Scan)

einen ähnlichen Wert wie Porphyrinoligomere, für den um zwei Elektronen reduzierten Makrocyclus im [28]Hexaphyrin(1.1.1.1.1.1) **53** wurde dagegen nur ein Viertel dieses Werts erhalten. Dieses Resultat legt eine Abhängigkeit der 2PA vom aromatischen (**52**) oder antiaromatischen Charakter (**53**) des Moleküls nahe. Osuka, Kim und Mitarbeiter bestätigten durch Untersuchungen an weiteren expandierten Porphyrinen, dass aromatische Makrocyclen allgemein über größere 2PA-Querschnitte verfügen als nichtaromatische (z. B. für die Octaphyrin-Komplexe **54** und **55**; Abbildung 8).^[71]

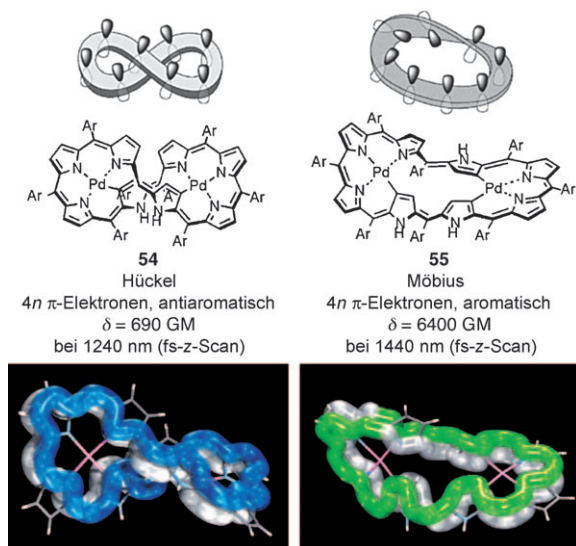


Abbildung 8. Zusammenhang zwischen Geometrie und Aromatizität: Hückel- und Möbius-Formen der Palladiumkomplexe von [36]Octaphyrin(1.1.1.1.1.1.1.1) mit Röntgenkristallstrukturen (nach Lit. [71a]).

Über außerordentlich große 2PA-Querschnitte wurde auch für ein am Kern modifiziertes Hexaphyrin berichtet.^[72] Allerdings stammen die Werte aus z-Scan-Messungen mit hoher Wiederholrate (50 MHz) in einem Spektralbereich mit beträchtlicher Einphotonenabsorption; somit wurden scheinbare 2PA-Querschnitte erhalten, die schwer zu bewerten sind. Die beschriebenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass expandierte Porphyrine, Heteroporphyrine und andere Porphyrinanaloga eine vielversprechende Chromophorklasse für die Zweiphotonenabsorption darstellen. Erst vor kurzem wurden die 2PA-Querschnitte der makrocyclischen Oligothiophene **56–59** von Goodson, Iyoda und Mitarbeitern ermittelt.^[73] Die Absolutwerte stiegen in dieser Reihe an, während die normalisierten Werte (δ/N_e) schon bei **57** einen Grenzwert erreichten (Abbildung 9).

4.2.2. Verzweigte planare Chromophore

Trigonale oktopolare Systeme wurden als eine weitere Gruppe 2PA-aktiver Verbindungen neben den linearen dipolaren und quadrupolaren Chromophoren untersucht. Wenn zwischen den Armen nur eine schwache elektronische Kopplung vorliegt, steigen die 2PA-Querschnitte erwartungsgemäß linear mit der Zahl an Armen, in einigen Fällen nahm δ jedoch deutlich stärker zu. Die ersten verzweigten Zweiphotonenfarbstoffe wurden 1999 von Prasad und Mitarbeitern beschrieben.^[42] Sie untersuchten den Einfluss einer Verzweigung, indem sie zuvor charakterisierte Farbstoffe an einen π -konjugierten Kern wie Triphenylamin knüpften. Für die so erhaltenen Verbindungen **60–62** (Abbildung 10) wurde ein nichtlinearer Anstieg der 2PA-Querschnitte beobachtet. Die Zunahme der normalisierten Werte in dieser Reihe (**60**, $\delta/N_e = 3.9$; **61**, $\delta/N_e = 8.2$; **62**, $\delta/N_e = 13$) belegten einen kooperativen Effekt.

Anschließend wurden in **63–65** elektronenarme Triazinkerne mit elektronenreichen Armen versehen.^[74] Dabei

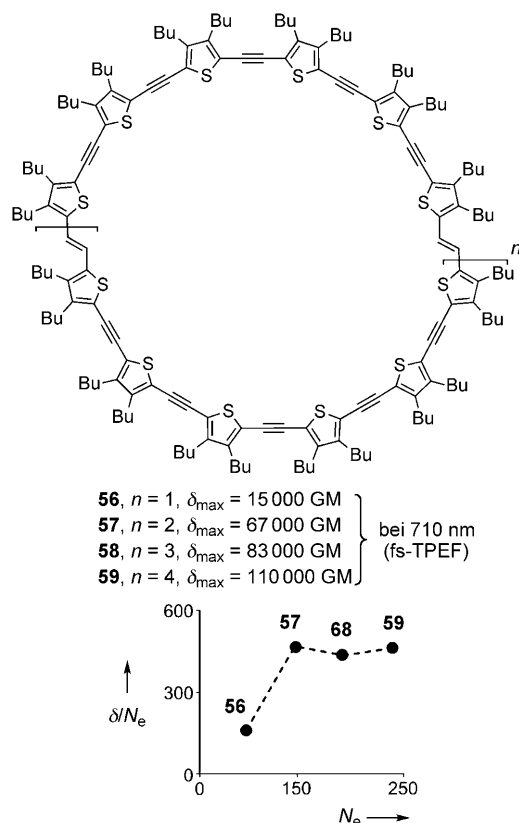


Abbildung 9. Normalisierte 2PA-Querschnitte der cyclischen Oligomere **56–59**.^[73]

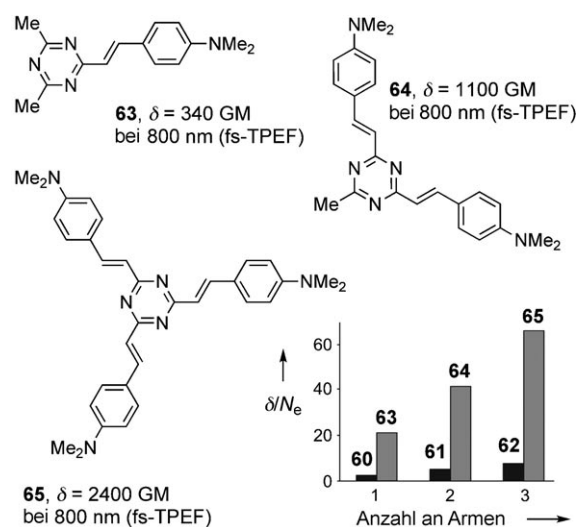
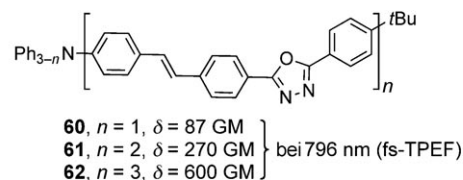
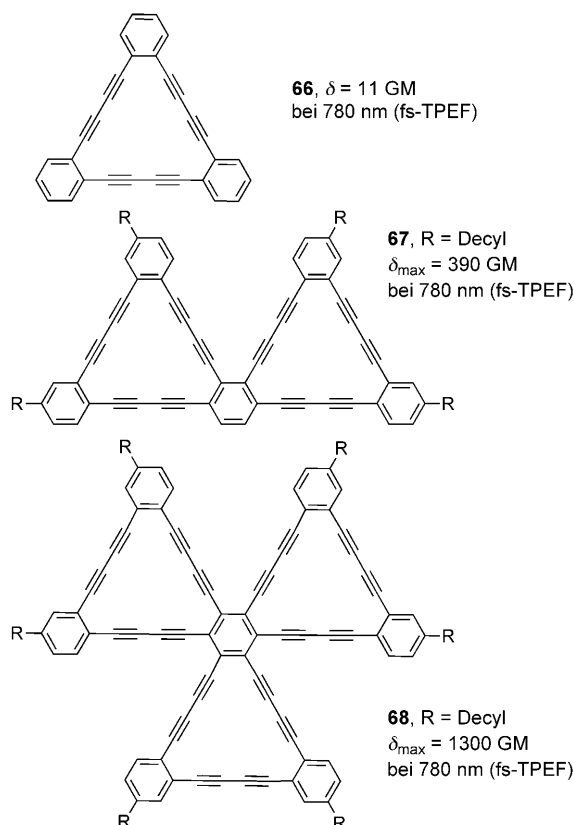


Abbildung 10. Normalisierte δ -Werte für die Verbindungsreihen **60–62** und **63–65**.^[42,74]

wurde eine Verbesserung der 2PA-Querschnitte als Folge eines kooperativen Effekts beobachtet (1:3.3:7.0 für **63**→**64**→**65**). Die normalisierten Werte für die Systeme aus elektronenschiebenden Armen an einem elektronenarmen Kern (**63**–**65**) belegen eine stärkere 2PA als bei den inversen Systemen **60**–**62** (Abbildung 10).

Die Annulene **66**–**68** von Haley, Goodson und Mitarbeitern^[75] zeigen ebenfalls einen kooperativen Effekt ($\delta/N_e = 0.4, 7.2$ und 17 für **66**, **67** bzw. **68**). Während δ mit der Zahl an Armen stark anstieg, blieben die normalisierten Werte allerdings mäßig.



4.2.3. Dendrimere

Dendrimere aus konjugierten Chromophoren wurden aufgrund ihrer potenziellen Anwendungen in der nichtlinearen Optik, als künstliche Lichtsammelsysteme, in Leuchtdioden und bei biologischen Bildgebungsverfahren intensiv erforscht. Drobizhev und Mitarbeiter beschrieben die photophysikalischen Eigenschaften der dendritischen Chromophore **69**–**71** (Abbildung 11) mit verbrückenden *trans*-Stilben-Einheiten.^[76] Der normalisierte Querschnitt (δ/N_e) war für das Dendrimer **69** der ersten Generation viel größer als für Stilben **4** (Abschnitt 4.1), der Übergang zu Dendrimeren höherer Generationen ergab dann aber wieder niedrigere Werte.

Die von Blanchard-Desce, Goodson und Mitarbeitern untersuchten acetylenverknüpften Dendrimere mit Triarylamin-Kern^[48] verhielten sich sehr ähnlich wie **69**–**71**: Auch

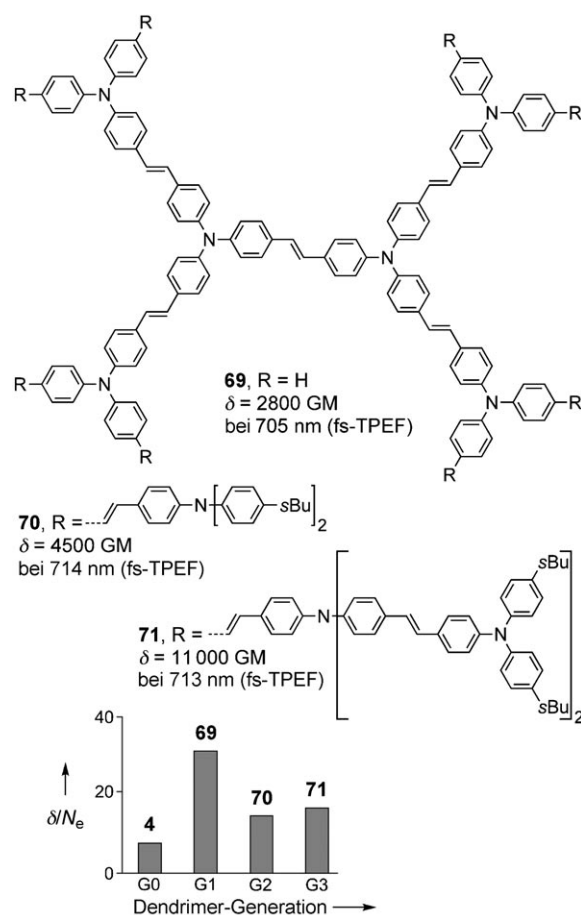


Abbildung 11. Vergleich der normalisierten 2PA-Querschnitte der Dendrimere **69**–**71** (mit der Bezugsverbindung **4** als Dendrimer der 0. Generation).^[33, 76]

hier stieg δ/N_e beim Übergang zum Dendrimer der ersten Generation stark an, und bei der zweiten Generation wurde ein Grenzwert erreicht.

4.3. Schlussfolgerungen aus Design-Strategien, Struktureigenschafts-Beziehungen und Gütefaktoren

Der normalisierte 2PA-Querschnitt δ/N_e (bezogen auf die Zahl an π -Elektronen N_e) ist ein nützlicher Gütefaktor beim Vergleich von Zweiphotonenchromophoren. In jüngster Zeit wurden mehrere Chromophore mit $\delta/N_e > 200$ GM pro π -Elektron beschrieben, die erstaunlich verschieden sind. Ihre Entdeckung war in den meisten Fällen eher zufällig als die Folge eines gezielten Designs. Das klassische D- π -A- π -D-Motiv wurde ausgiebig untersucht – es kommt z.B. im Squarain **17** vor ($\delta/N_e = 750$ GM aus z-Scan-Messung) –, doch zeigt das Beispiel des Thiophen-Acetylen-Makrocyclus **57** ($\delta/N_e = 510$ GM aus TPEF-Messung), dass Donoren und Akzeptoren nicht unentbehrlich sind. Eine starre Konformation und eine starke π -Konjugation sind gemeinsame Merkmale aller erfolgreichen 2PA-Farbstoffe. Konjugierte Porphyrin-oligomere wie das Butadiin-verknüpfte Dimer **49** ($\delta/N_e = 240$ GM aus TPEF-Messung) und das β ,*meso*-verknüpfte

Pentamer **30** ($\delta/N_e = 320$ GM aus z -Scan-Messung) zeigen oft eine starke 2PA. Porphyrinanaloga mit expandiertem aromatischem System wie das Hexaphyrin **52** ($\delta/N_e = 260$ GM aus z -Scan-Messung) bilden eine weitere wichtige Gruppe.

Ein maximaler 2PA-Querschnitt ist nicht das alleinige Kriterium beim Entwurf von Zweiphotonenfarbstoffen. Oft ist es vielmehr sinnvoll, den Querschnitt eines möglichst kleinen Chromophors zu optimieren. Hier ist dann der Wert von δ/N_e der Parameter, den es zu betrachten gilt. Manchmal kann es aussagekräftiger sein, δ durch das Molekulargewicht oder -volumen, die Löslichkeit oder die maximale volumenbezogene Chromophorzahl N zu teilen [siehe Gleichung (1) in Abschnitt 2]. Das Molekulargewicht ist bei Farbstoffen für biologische Anwendungen entscheidend, weil es hier auf einen schnellen Transport durch Membranen hindurch ankommt. Die nützlichsten Bewertungs- und Designkriterien werden stets durch die gewünschte Anwendung bestimmt (siehe Abschnitt 5).

Meist nutzt man die Zweiphotonenanregung, um räumlich begrenzt eine bestimmte Funktion zu aktivieren. Ein nützlich Bewertungskriterium ist dann der Faktor $\delta\Phi$, das Produkt aus 2PA-Querschnitt und der Quantenausbeute Φ für die betreffende Funktion (Fluoreszenz, Auslösen einer Polymerisation, Erzeugung von Singulett-Sauerstoff oder photochemische Aktivierung einer Wirkstoffvorstufe). In diesem Zusammenhang sind Energie und Lebensdauer des durch 2PA erzeugten angeregten Zustands wichtig, weil sie die Quantenausbeute beeinflussen können. Große und stark konjugierte Chromophore haben oft kleine S_1 - S_0 -Energielücken und neigen zu schnellen strahlungslosen S_1 - S_0 -Übergängen durch innere Konversion. Solche niederenergetischen und kurzlebigen angeregten Zustände sind für Fluoreszenz- und photochemische Anwendungen oft wenig nützlich. Ein Beispiel für einen Kompromiss ist das Porphyrindimer **49**, das über hohe Quantenausbeuten für Fluoreszenz und Singulett-Sauerstoff-Erzeugung verfügt ($\Phi_F = 0.10$ bzw. $\Phi_A = 0.70$ in Methanol);^[65] längere und stärker gekoppelte konjugierte Porphyrinoligomere haben zwar größere 2PA-Querschnitte, dafür sind aber ihre Quantenausbeuten viel geringer.^[77] Die meisten Zweiphotonenfarbstoffe mit $\delta/N_e > 200$ GM enthalten so große konjugierte π -Systeme, dass sie im Nahinfrarot bei 700–1200 nm fluoreszieren. Thiophen-Acetylen-Makrocyclen wie **56** (Fluoreszenz bei λ_{\max} 603 nm, $\Phi_F = 0.08$) bilden hier eine interessante Ausnahme; sie fluoreszieren als einzige unter den angesprochenen Chromophoren mit $\delta/N_e > 200$ GM im sichtbaren Bereich.

5. Anwendungen der Zweiphotonenanregung

5.1. Grundlegendes zur Optik

Der Unterschied zwischen Ein- und Zweiphotonenanregung wird am besten deutlich, wenn man ein konfokales Fluoreszenzmikroskop betrachtet (Abbildung 12). Die Optik des Instruments ist so ausgelegt, dass einerseits ein kleines Volumen bestrahlt und andererseits das in diesem Bereich emittierte Licht erfasst werden kann. Durch das Bewegen dieses Fokalvolumens durch eine Probe lässt sich die Emis-

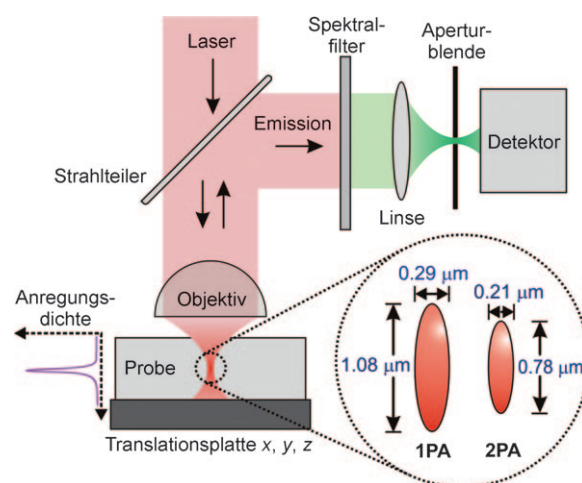


Abbildung 12. Funktionsprinzip eines konfokalen Fluoreszenzmikroskops: Wird ein Infrarot-Laserpuls genau auf eine Probe fokussiert, so ist wegen des Zusammenhangs $2PA \propto I^2$ die Anregung auf die Fokalregion beschränkt. Die Emission aus diesem Bereich kann gefiltert und durch eine Lochblende geleitet werden, während Licht aus anderen Bereichen weitgehend ausgeschlossen wird. Durch Bewegen der Probe relativ zur Strahlungsquelle lässt sich ein dreidimensionales Bild erhalten. Der Einschub zeigt die Volumina mit mindestens 50% Anregung (bezogen auf die Anregung im Brennpunkt) für 1PA und 2PA bei $\lambda = 800$ nm und $NA = 1.4$.

sionsintensität kartieren. Bei der Einphotonenanregung ist die Anregungsdichte im Fokalvolumen proportional zur lokalen Intensität. Bei der Zweiphotonenanregung besteht dagegen eine Proportionalität zum Quadrat der Intensität, sodass die Anregungsdichte mit zunehmender Entfernung vom Brennpunkt rasch abfällt. Die 2PA erfolgt daher in einem kleineren Volumen mit entsprechend höherer Auflösung. Dieser Vorteil wird nicht nur bei der Fluoreszenzmikroskopie genutzt,^[3,5,6] sondern auch bei vielen weiteren Anwendungen (siehe die Abschnitte 5.2–5.8).

5.2. Das Fokalvolumen

Ein kollimierter Strahl monochromatischen Lichts mit einheitlicher Intensität kann auf einen Bereich fokussiert werden, dessen Durchmesser proportional zur Wellenlänge und umgekehrt proportional zur numerischen Apertur (NA) der Linse ist.^[5,78] Als Anregungsvolumen lässt sich ein Ellipsoid definieren, in dem die Anregungsdichte 50% des Werts im Brennpunkt nicht unterschreitet. Die höchste Auflösung (und somit das kleinste Anregungsvolumen) erbringen üblicherweise Ölimmersionsojektive mit einer NA von 1.4. Bei einer Wellenlänge von 800 nm erhält man Anregungsvolumina von 0.29 μm (1PA) und 0.21 μm Breite (2PA; siehe Einschub in Abbildung 12). Die Auflösung in Strahlrichtung ist allerdings deutlich schlechter: Die Länge des Anregungsvolumens beträgt 1.08 μm bei 1PA und 0.78 μm bei 2PA. Die Anregungsdichten für 1PA und 2PA in Abhängigkeit von der axialen und radialen Entfernung vom Brennpunkt sind in Abbildung 13a aufgetragen. Das Länge-Breite-Verhältnis des Anregungsellipsoids beträgt ungefähr 3.7. Bei diesem Wert handelt es sich um eine realistische Untergrenze; er wird

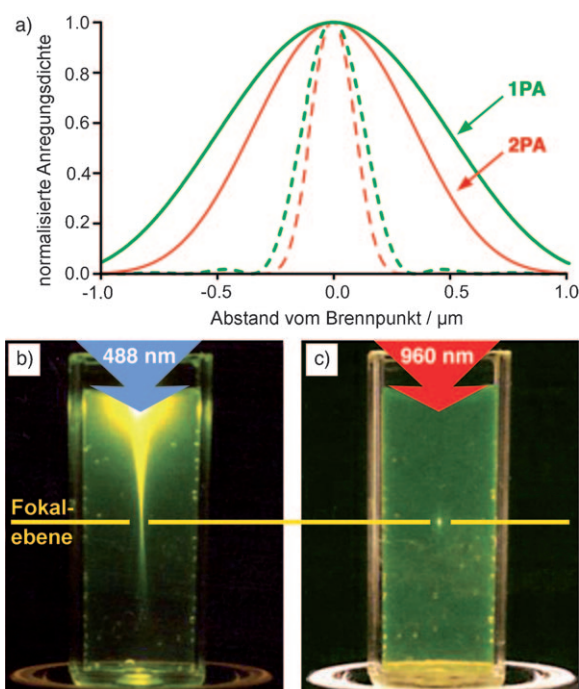


Abbildung 13. a) Die Anregungsdichte als Funktion des axialen und radialen Abstands vom Brennpunkt (grün: 1PA; rot: 2PA; durchgezogene Linien: axial, gestrichelte Linien: radial; NA = 1.4, $\lambda = 800$ nm). b, c) Lokalisierte Anregung von Fluorescein: b) Einphotonenanregung mit einem fokussierten Lichtstrahl ($\lambda = 488$ nm; 0.16 NA); c) Zweiphotonenanregung mit fokussierten Femtosekundenpulsen ($\lambda = 960$ nm; 0.16 NA). Wiedergabe von (b) und (c) mit Genehmigung aus Lit. [5].

schlagartig größer, wenn man die NA des Objektivs verkleinert.

Bedingt durch Interferenzphänomene zeigt die Intensität bei einem axialen Abstand über 1 μm vom Brennpunkt geringe periodische Fluktuationen, doch im Durchschnitt gilt auch in diesem Bereich die umgekehrte quadratische Abhängigkeit; bei 1.1 μm beträgt die Intensität nach 1PA ungefähr noch ein hundertstel des Werts im Brennpunkt, in 10 μm Abstand ist sie etwa auf das 10^{-4} -fache abgesunken. An diesen Stellen liegen die 2PA-Anregungsdichten entsprechend beim 10^{-4} - bzw. 10^{-8} -fachen des Werts im Brennpunkt; somit ist es möglich, ein kleines Volumenelement (Voxel) mitten in einer Probe zu analysieren, ohne das umgebende Material in signifikantem Ausmaß mit einzubeziehen. Die Abbildungen 13b und 13c zeigen, dass die 1PA des Fluoreszenzfarbstoffs Fluorescein (bei 488 nm) eine Emission entlang des Weges des einfallenden Strahls erzeugt, wohingegen die 2PA (bei 960 nm) eine scharf begrenzte Emission am Brennpunkt ergibt. In Abbildung 13b ist die Farbstoffkonzentration so hoch, dass ein großer Teil der 1PA auftritt, bevor das Licht den Brennpunkt erreicht. Bei Einphotonenanregung unter größerer Verdünnung würde man einen sanduhrförmigen Emissionsbereich erhalten.

5.3. Vorteile der Zweiphotonenanregung

Die Größe des Fokalvolumens ist proportional zur Wellenlänge. Weil das Anregungsvolumen bei der 2PA aber mehr

als halb so groß ist wie bei der 1PA (siehe Einschub in Abbildung 12 sowie Abbildung 13a), sollte eine 2PA bei 800 nm eine schlechtere Auflösung ergeben als eine 1PA bei 400 nm. Die 2PA hat aber zwei entscheidende Vorteile: 1) Die Probe wird bei der kürzeren Wellenlänge viel stärkere Verluste durch Absorption und Streuung verursachen, und biologische Proben werden durch kurzwellige Strahlung oft photochemisch beschädigt. 2) Der deutlich schärfere Kontrast der Anregungsdichte verhindert parasitäre Emissionen oder photochemische Umwandlungen außerhalb des Fokalvolumens.^[5] Wie hoch die räumliche und spektrale Auflösung in einem Konfokalmikroskop bei Zweiphotonenanregung sein kann, zeigt die Abbildung 14 am Beispiel von angefärbten Fibroblastenzellen.^[5]

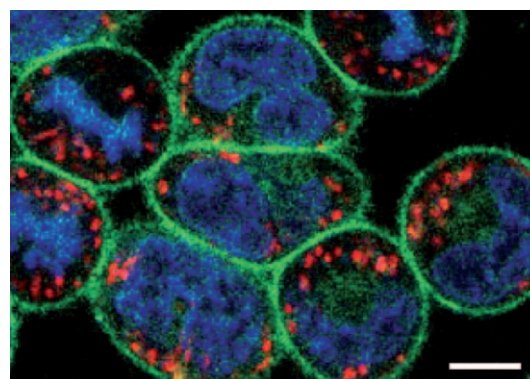
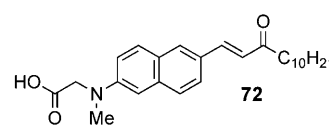


Abbildung 14. Konfokalmikroskopie an Fibroblastenzellen mithilfe von Zweiphotonenanregung. Fluoreszenzfarbstoffe machen DNA (blau; 4',6-Diamidino-2-phenylindol, DAPI), Plasmamembranen (grün; PATMAN) und Mitochondrien (rot; Tetramethylrhodamin) sichtbar. Maßstab: 5 μm . Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [5].

5.4. Tracer, Sonden und Sensoren

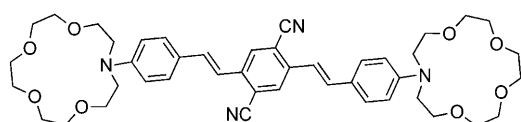
In einfachen Versuchen wurden 2PA-Farbstoffe als Marker genutzt, um die Bewegung nichtfluoreszierender Wirkstoffe in Zellen zu verfolgen. Prasad und Mitarbeiter setzten beispielsweise einen D- π -A-Farbstoff auf Stilbenbasis ein, um zu verfolgen, wie ein chemotherapeutisches Doxorubicin-Konjugat in humane Brustkrebszellen eindringt und wo es dort angreift.^[79] Kürzlich wurden spezifische TPEF-Farbstoffe für individuelle subzelluläre Strukturen und Organellen entwickelt.^[80] Bei diesen Farbstoffen kommt es vor allem auf die Helligkeit $\Phi_F \delta$ an, das Produkt aus dem 2PA-Querschnitt δ und der Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F . Die Sonde **72** wurde angewendet, um Lipidflöße (rafts) in lebendem Gewebe mithilfe von Zweiphotonenmikroskopie kenntlich zu machen. Wenn sie in hydrophoben Liposomen eingeschlossen wird, leuchtet diese Sonde achtmal so stark wie beim Einschluss in hydrophilen Liposomen ($\Phi_F \delta =$



$\Phi_F \delta = 80$ GM bei 800 nm
in hydrophoben Liposomen
 $\Phi_F \delta = 10$ GM bei 800 nm
in hydrophilen Liposomen

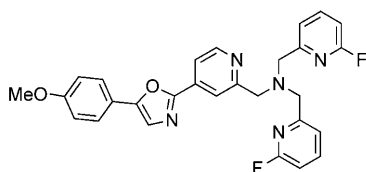
80 GM bzw. 10 GM).^[80a] Der Hauptgrund hierfür ist eine Änderung von Φ_F und nicht von δ .

Es wurden auch Zweiphotonenfarbstoffe entwickelt, deren TPEF mit der Konzentration von Metallkationen oder Anionen sowie mit dem pH-Wert variiert. Zumeist verändert eine Koordination des Analyten die Donorfähigkeit einer elektronenreichen Endgruppe des Farbstoffs. Fast gleichzeitig berichteten die Gruppen von Marder^[81] und Cho^[82] über Azakronenether, in denen das Stickstoffatom des Makrocyclus als Donor in einem D- π -A- π -D-Chromophor wirkt. Die Komplexbildung von Mg^{2+} in **73** reduziert δ bei 810 nm auf ein fünfzigstel (vermutlich durch Bindung am freien Elektronenpaar des Stickstoffatoms), während die Fluoreszenzquantenausbeute unverändert blieb.^[81]



73, $\delta_{\max} = 2200$ GM bei 810 nm (fs-TPEF), $\Phi_F = 0.20$
 Mg^{2+} -**73**, $\delta = 45$ GM bei 810 nm (fs-TPEF), $\Phi_F = 0.19$

Seit kurzem versucht man, hoch selektive Zweiphotonensensoren für bestimmte Metallkationen, vor allem Zink, zu entwickeln. In einigen Fällen wird die Fluoreszenz durch Bindung des Kations unterdrückt,^[83,84] in anderen erhöht die Chelatbildung sowohl δ als auch Φ_F .^[86,87] In **74**^[85] wird die



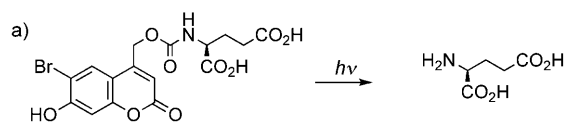
74, $\delta_{\max} = 31$ GM bei 690 nm (fs-TPEF), $\Phi_F = 0.35$
 Zn^{2+} -**74**, $\delta_{\max} = 77$ GM bei 730 nm (fs-TPEF), $\Phi_F = 0.71$

chelatisierende Endgruppe des Chromophors durch Bindung von Zn^{2+} an die Pyridinringe zu einem stärkeren Elektronenakzeptor, sodass δ steigt. Dieser Ansatz wurde auf Chelatliganden für Schwermetallkationen einschließlich Quecksilber^[88] und Cadmium^[89] sowie auf das Anion Fluorid ausgedehnt,^[90] und auch pH-Sonden nutzen dieses Prinzip.^[91]

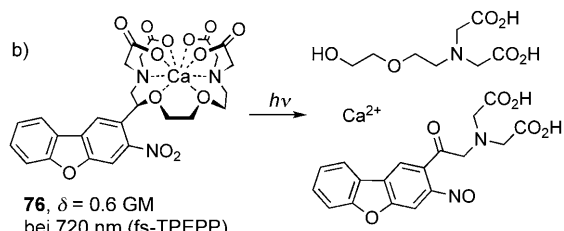
5.5. Photoaktivierung und Wirkstofftransport

Die Zweiphotonenanregung zur Freisetzung (im Sinne einer photochemischen Entschüttung) biologisch aktiver Verbindungen ist enorm wichtig für die lebenswissenschaftliche Grundlagenforschung. Neurophysiologen sind daran interessiert, neuronale Schaltungen zu steuern, indem sie schnell und räumlich begrenzt Neurotransmitter, Proteine und Ionen ausschütten. Anders als die in Abschnitt 4 besprochenen Farbstoffe haben die Chromophore, die heute zur Photoaktivierung genutzt werden, sehr kleine 2PA-Quer-

schnitte. Ihre δ -Werte werden häufig bestimmt, indem man die Menge der photochemischen Produkte nach einer Zweiphotonenanregung mit einem Femtosekundenlaser (femtosecond two-photon excited photochemical products, fs-TPEPP) ermittelt; dieses Verfahren ist der fs-TPEF analog (Abschnitt 3.2). Die meisten Farbstoffe für die Photoaktivierung wurden aus der Einphotonenmikroskopie übernommen und noch nicht hinsichtlich der Zweiphotonenanregung optimiert. Der Neurotransmitter Glutamin ist die Verbindung, die am häufigsten durch 2PA freigesetzt wird. Trotz seines sehr kleinen 2PA-Querschnitts von 0.06 GM hat das 4-Methoxy-7-nitroindolino-Derivat von Glutamat viel zur Aufklärung von neuronalen Signalwegen beigetragen.^[92,93] Photochemisch labile, maskierte Glutamatderivate mit Cumarin-^[94] (**75**, Schema 1) oder Stilbengruppen^[95] und höheren



75, $\delta = 50$ GM bei 740 nm (fs-TPEPP)

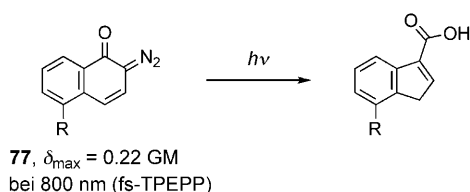


76, $\delta = 0.6$ GM
bei 720 nm (fs-TPEPP)

Schema 1. Zwei Beispiele für die Photoaktivierung durch Zweiphotonenanregung: a) Freisetzung von Glutaminsäure^[94] und b) Freisetzung von Calciumionen.^[96]

δ -Werten wurden getestet. Die Freisetzung von Calcium mithilfe von 2PA ist ebenfalls wichtig für die Untersuchung von Prozessen an einzelnen Synapsen. Der aussichtsreichste Calcium-freisetzende Komplex **76** hat einen 2PA-Querschnitt von nur 0.6 GM.^[96] Ein weiteres interessantes Beispiel ist die Freisetzung des Neurotransmitters NO aus einem Nitrosylkomplex durch Zweiphotonenanregung.^[97] Zu diesem Zweck verbanden Ford und Mitarbeiter ein Porphyrinsystem, das als Antenne wirkt, mit einem Metallcluster in einem Molekül.

Der Einschluss in Micellen und Liposomen ist eine allgemeine Strategie des Wirkstofftransports. Kann ein solches Konstrukt durch 2PA aufgebrochen werden, so lassen sich in krankem Gewebe gezielt hohe Konzentrationen einer aktiven Verbindung freisetzen. Fréchet und Mitarbeitern gelang als ersten ein solcher Abbau eines micellaren Systems infolge einer 2PA;^[98] sie verwendeten hierzu eine synthetische, aus **77** hergestellte Micelle. Diese Diazoverbindung geht eine photochemische Wolff-Umlagerung ein (Schema 2), die zu einem hydrophileren Produkt führt. Infolge dieses Prozesses brach die Micelle auseinander.



Schema 2. Eine Wolff-Umlagerung nach Zweiphotonenanregung überführt **77** ($R = \text{SO}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_{11}\text{CO}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{17}\text{C}_2\text{H}_5$) in ein hydrophiles Produkt. Dieser Prozess führt zur Zersetzung einer Micelle aus **77** und kann somit zur Freisetzung einer eingeschlossenen Spezies genutzt werden.^[98]

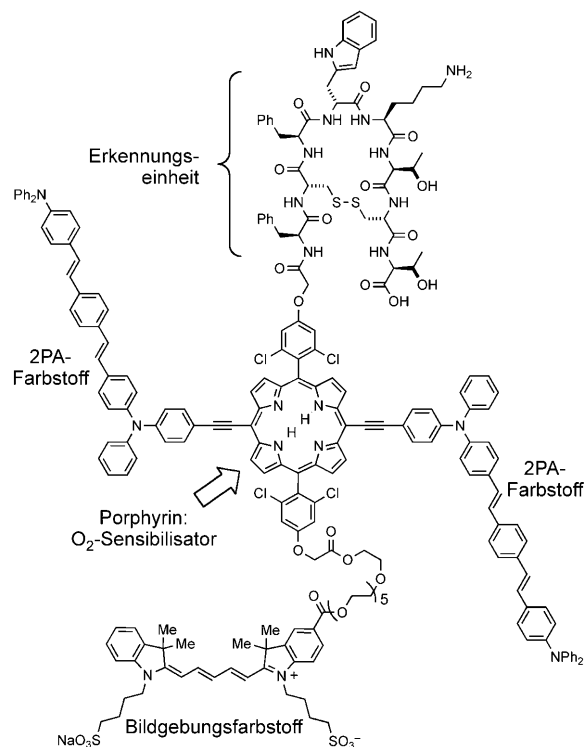
5.6. Photodynamische Therapie

In ähnlicher Weise wie die Mikroskopie hat auch die photodynamische Therapie (PDT) von der 2PA profitiert.^[99] Die Einphotonen-PDT wird zur Behandlung verschiedener Krebsarten, unter anderem von Hautkrebs, sowie der Makuladegeneration angewendet. Bei der PDT wird ein Photosensibilisator verabreicht, der ohne Lichteinwirkung harmlos ist, bei Bestrahlung hingegen Schäden hervorruft. Die Phototoxizität der Sensibilisatoren beruht vor allem auf der Erzeugung von Singulett-Sauerstoff durch Energieübertragung vom angeregten Zustand des Sensibilisators auf molekularen Sauerstoff. Die Quantenausbeute Φ_Δ für die Erzeugung von Singulett-Sauerstoff ist dabei entscheidend für Wirkstoffprototypen. Bei der Zweiphotonen-PDT sollte die Anregung des Photosensibilisators auf das Fokalkvolumen begrenzt bleiben. Wegen seiner größeren Wellenlänge dringt das zur Zweiphotonenanregung genutzte NIR-Licht überdies tiefer in das lebende Gewebe ein als sichtbares Licht. Dieser Vorteile wegen ist 2PA-PDT besonders interessant für Neurologie und Augenheilkunde, wo es auf eine gezielte und möglichst wenig invasive Therapie ankommt.

Die Zweiphotonen-PDT wurde häufig als ein Mittel vorgeschlagen, um Zielgewebe in größerer Eindringtiefe und mit höherer Genauigkeit behandeln zu können.^[100–102] Den ersten Nachweis einer 2PA-PDT erbrachten Wachter und Mitarbeiter, als es ihnen 1997 gelang, *Salmonella-typhimurium*-Bakterien in vitro mithilfe eines Psoralen-Wirkstoffs abzutöten.^[12] Später wurden durch Zweiphotonenanregung klinisch zugelassener Porphyrinderivate eukaryotische Zellen in Kultur^[103] und Blutkapillaren in Hühnerembryos zerstört.^[104] In allen Studien war es wegen des geringen 2PA-Querschnitts der Wirkstoffe ($< 100 \text{ GM}$) erforderlich, mit starken Lasern an der Grenze zur Gewebeschädigung zu arbeiten. Die Zweiphotonen-PDT mit diesen Sensibilisatoren ist daher für klinische Anwendungen ungeeignet, weil das Durchfahren des kranken Gewebes mit dem Brennpunkt unweigerlich zu einer allgemeinen Schädigung führen muss. Um die 2PA-PDT als Therapiestrategie zu etablieren, besteht daher ein Bedarf an neuen Photosensibilisatoren, die deutlich niedrigere Strahlungsintensitäten und kürzere Behandlungszeiten ermöglichen.

Um die 2PA-Effizienz eines Photosensibilisators zu verbessern, bringt man gewöhnlich Zweiphotonenfarbstoffe an einen Wirkstoff an, die Lichtenergie sammeln und durch einen resonanten Förster-Energietransfer (FRET) an den

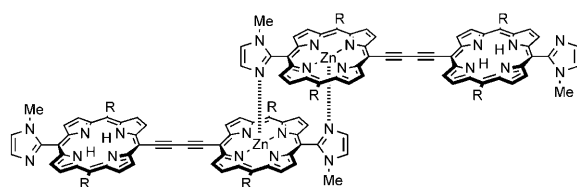
Wirkstoff weitergeben. Fréchet und Mitarbeiter versahen einen Porphyrinkern mit acht solcher 2PA-Farbstoffeinheiten als „Antennen“; das so erhaltene Dendrimer wurde in der Erzeugung von Singulett-Sauerstoff durch Zweiphotonenanregung getestet, eine Verbesserung der Wasserlöslichkeit und eine biologische Prüfung stehen aber noch aus.^[105] Der Transport in Zellen gelang mit dem FRET-Konjugat **78**: Der



78, $\delta_{\text{max}} = 2200 \text{ GM}$ bei 820 nm (fs-TPEF)

Peptidteil bindet an einen Somastatin-Rezeptor, der in humanen Krebszellen grundsätzlich überexprimiert ist.^[106] Der Porphyrinkern von **78** trägt zwei Distyrylbenzolchromophore, um den 2PA-Querschnitt zu verbessern, und einen Cyaninchromophor für Fluoreszenzbildgebungsstudien. Dieses Konstrukt wurde in einer PDT in stark streuenden Gewebemodellen geprüft. In der Praxis ist es nicht zwingend erforderlich, den Photosensibilisator kovalent mit dem 2PA-Farbstoff zu verbinden; in vitro wurde schon beim gemeinsamen Einschluss in Siliciumoxidnanopartikeln nach der Bestrahlung mit Femtosekundenpulsen von NIR-Licht ein phototoxischer Effekt nachgewiesen.^[107]

Der alternative Design-Ansatz der Photosensibilisatoren beruht auf 2PA-Chromophoren, die effizient Singulett-Sauerstoff erzeugen. Zu diesem Zweck wurden Porphycene wie **50**^[67] oder wasserlösliche Squaraine nach Art von **17** für die 2PA-PDT vorgeschlagen,^[108] die sich in kultivierten Zellen anreichern, ohne deren Lebensfähigkeit zu beeinträchtigen. Besondere Beachtung erfuhr acetylenverknüpfte konjugierte Porphyrindimere wie **49** (Abschnitt 4.1.2.4) und **79** als Ausgangspunkt für neue 2PA-Wirkstoffe. Kobuke und Mitarbeiter untersuchten selbstorganisierende Imidazolypor-



79 (R = CH₂CH₂CO₂Na)

80 (R = Oct), δ_{max} = 7600 GM bei 887 nm (fs-z-Scan)

phyrin-Dimere, die durch Koordination Dimere von Dimeren wie **80** bilden, was zu einer Verdoppelung des 2PA-Querschnitts pro Porphyrin gegenüber dem freien Dimer führt (δ_{max} = 1900 bzw. 900 GM pro Porphyrinsystem). Die erhöhte 2PA-Effizienz wurde mit einer exzitonischen Kopplung zwischen den Dimeren erklärt, die das Übergangsdipolmoment vergrößert. Das wasserlösliche Derivat **79** wurde in Zellen eingeschleust, die es bei Einphotonenanregung abtötete.^[109]

Wir haben kürzlich über eine Familie hydrophiler konjugierter A- π -D- π -A-Porphyrindimere berichtet, die ohne Lichteinwirkung nicht toxisch sind.^[65] Die Verbindung **49** ist der erste Wirkstoff mit einem großen 2PA-Querschnitt (δ_{max} = 17000 GM), der erwiesenermaßen in vivo eine Zweiphotonen-PDT ermöglicht. Nach der Zweiphotonenanregung verschloss **49** selektiv Arterien (Durchmesser 45 μm , Abbildung 15) in einer lebenden Maus. Der beste kommerzielle

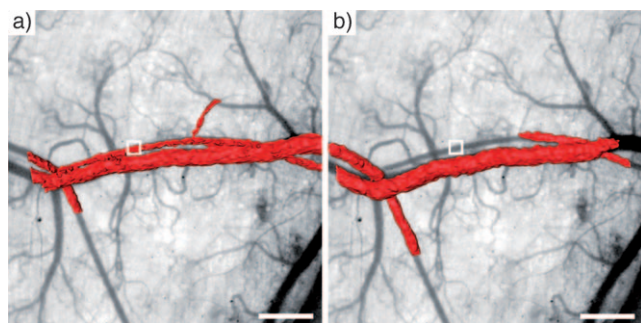


Abbildung 15. Gezielter Arterienverschluss durch Zweiphotonenanregung des Photosensibilisators **49**. Optische Doppler-Kohärenztomogramme vor (a) und nach der Behandlung (b) sind einem Stereomikroskopiebild vor der Behandlung überlagert, um den Blutfluss (rot) abzubilden. In der behandelten Arterie fließt das Blut von links nach rechts. Die weißen Kästchen markieren den bestrahlten Bereich. Maßstab: 400 μm . Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [65].

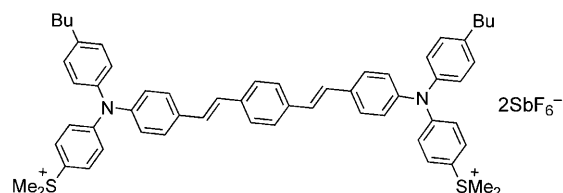
Photosensibilisator, Visudyne, war unter entsprechenden Bedingungen nicht aktiv. Diese Verbindungen repräsentieren erst die erste Generation von Photosensibilisatoren für die 2PA-PDT. Eine weitere Optimierung ist erforderlich, nicht nur im Hinblick auf höhere therapeutische Effizienzen, sondern auch bezüglich der Verteilung im Körper und der pharmakokinetischen Eigenschaften.

5.7. Mikrofabrikation

Die Zweiphotonenanregung wird weithin genutzt, um mikroskopische dreidimensionale Strukturen mit einer Auf-

lösung im Submikrometerbereich zu erzeugen.^[7] Bei dieser Technik wird ein Löslichkeitskontrast mithilfe von lichtinduzierten Polymerisations- oder Depolymerisationsprozessen verändert, die aus der Lithographie bekannt sind. Um eine Mikrostruktur von einigen Mikrometern Tiefe in einem Werkstück zu erzeugen, wird im Fokaltvolumen die Struktur ausgefräst, wobei das Material ober- und unterhalb des Brennpunkts kontinuierlich einer niedrigen Strahlungsintensität ausgesetzt bleibt. Bei einer Einphotonenanregung kommt es daher auch außerhalb des Fokaltvolumens in beträchtlichem Ausmaß zu photochemischen Reaktionen, die den lithographischen Kontrast und die Auflösung verschlechtern. Die Zweiphotonen-Mikrofabrikation ist ein aktives Forschungsfeld, das in neueren Übersichtsartikeln detailliert beschrieben wurde.^[7,110,111] Daher wollen wir hier nur eine kurze Einführung geben.

Geeignete Photolacke für die Mikrofabrikation beruhen auf 1) der radikalischen Polymerisation von Acrylaten, 2) der säurekatalysierten, kationischen Polymerisation von Epoxiden und – seit kurzem – auf 3) der Polymerisation von As₄S₆-Gläsern zu einem unlöslichen anorganischen Netzwerk.^[112] Die kationische Polymerisation wird der radikalischen Polymerisation gewöhnlich vorgezogen, weil diese empfindlich gegen Abbruch durch Sauerstoff ist und weil eine unkontrollierte Diffusion zu einer schlechteren räumlichen Auflösung führen kann. Zumeist wurden für die 2PA-Mikrofabrikation solche Initiatoren genutzt, die schon bei üblichen Lithographiemethoden erfolgreich waren; die Schreibgeschwindigkeit wird in diesem Fall aber durch die kleinen 2PA-Koeffizienten begrenzt. Die Fabrikation kann jedoch deutlich beschleunigt werden, indem man einen Sensibilisator mit großem 2PA-Querschnitt und einen Initiator mit hoher Quantenausbeute miteinander verknüpft. Ein Beispiel hierfür ist die Verbindung **81**, ein Derivat von **12** (siehe Ab-



81, δ = 690 GM bei 705 nm (fs-TPEF)

schnitt 4.1.2.1), die einen mit Dimethylsulfonium-Gruppen versehenen, quadrupolaren 2PA-Farbstoff enthält.^[113] So ist ein effizienter Elektronentransfer vom angeregten Zustand des Farbstoffs auf die Sulfoniumfunktionen garantiert, die sich unter Freisetzung einer Säure zersetzen.

Zwei Beispiele für die 2PA-Mikrofabrikation, und für konfokale Abbildungsverfahren, sind in Abbildung 16 gezeigt.^[114,115] In beiden Fällen wurde ein SU-8-Epoxidphotolack genutzt, der eine photochemisch aktivierbare Säurevorstufe und einen säureempfindlichen Cumarinfarbstoff enthält. Die Aktivierung der Säurevorstufe ließ sich durch eine Anregung bei 543 nm räumlich verfolgen, weil die Protonierung die Absorption des Cumarinfarbstoffs bei dieser Wellenlänge verstärkt (Abbildung 16a).^[114] Die Probe wurde daraufhin erhitzt, sodass die Säure eine Polymerisation aus-

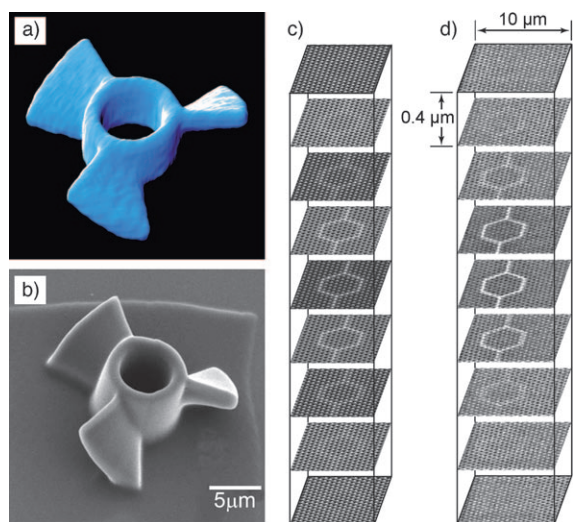


Abbildung 16. Mikrofabrikation in einem Photolack: a) Konfokale Fluoreszenzmikroskopie zeigt die Säureverteilung nach dem 2PA-Schreibprozess. b) SEM-Bild des Objekts, das nach thermischer Polymerisation und Auflösen des nicht belichteten Photolacks erhalten wurde.^[114] c) Simulierte Zielstruktur und d) ein Konfokalmikroskopiebild nach 2PA-Schreiben der Wellenleiterelemente in die Struktur des photonischen Kristalls.^[115]

löste; nach dem Auswaschen verblieb unlösliches Material in den bestrahlten Bereichen. Diese Struktur kann auch unter dem Rasterelektronenmikroskop (SEM) betrachtet werden (Abbildung 16b). Um die Struktur in Abbildung 16c,d zu erhalten, wurde in einer Probe zunächst durch 1PA mit vier UV-Laserstrahlen (355 nm) ein kubisch-flächenzentriertes Interferenzmuster erzeugt, das einem latenten „photonischen Kristall“ mit einer Gitterkonstante von 600 nm entspricht.^[115] Vor dem Erhitzen wurde die Struktur mithilfe der Cumarin-fluoreszenz für eine weitere Bestrahlung ausgerichtet, um durch 2PA-Aktivierung der Säurevorstufe bei 660 nm eine Wellenleiterstruktur hinzuzufügen. Die gesamte Funktionseinheit ist effektiv in eine 1.2 μm dicke Schicht integriert.

Abbildung 17 zeigt einen photonischen Kristall mit „Holzstoß“-Form, der mithilfe von 2PA in einen SU-8-Ep-

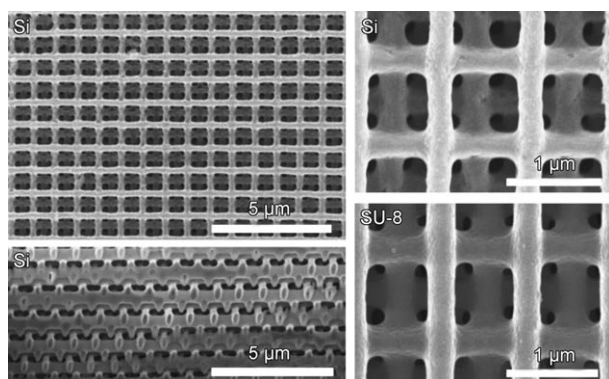


Abbildung 17. SEM-Bilder eines photonischen Kristalls mit „Holzstoß“-Aufbau. Die Struktur wurde durch einen 2PA-Schreibprozess in einem SU-8-Epoxidphotolack erzeugt und anschließend als Templat für eine Siliciumstruktur genutzt.^[116]

oxidphotolack eingeschrieben und anschließend durch einen Templatprozess auf Silicium übertragen wurde.^[116] In einem Querschnitt des Kristall (Abbildung 17, unten links) sind die ca. 300 nm breiten Linien von der Seite gezeigt. Wie nach der ellipsoiden Form des Fokallvolumens (Abbildung 12) zu erwarten, beträgt ihre Dicke ungefähr 1.0 μm . Weil die Löslichkeit des Photolacks nach der Bestrahlung in nichtlinearer Weise von der Bestrahlungsdosis abhängt, lässt es sich normalerweise einrichten, dass nur an den Stellen mit höchster Lichtintensität, also in der Nähe des Brennpunkts, unlösliches Polymer gebildet wird. Somit können Objekte gefertigt werden, deren Abmessungen kleiner sind, als es die Größe des Anregungsellipsoids in Abbildung 13a erwarten ließe. Objekte mit 65 nm Breite (bei viel größerer Tiefe) wurden auf diesem Weg erhalten, sie waren allerdings merklich verzerrt und nicht befriedigend einheitlich.^[117]

Man könnte annehmen, dass den so herstellbaren Mikrostrukturen vielfältige Anwendungen offenstehen, in der Praxis wirkt sich aber der Zeitaufwand bei der Ansteuerung und Bearbeitung der riesigen Zahl an Voxeln, die ein kompliziertes Objekt definieren, begrenzend aus. Die intrinsisch kleinen 2PA-Querschnitte und der serielle Fertigungsmodus führen dazu, dass für ein Volumen von $100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$ Schreibzeiten von Minuten einzuplanen sind; eine Serienproduktion kommt daher zurzeit noch nicht in Betracht. Verbesserte 2PA-Sensibilisatoren und Fortschritte in der Lasertechnologie könnten dieses Problem überwinden.

5.8. Dreidimensionale optische Datenspeicher

Gängige optische Datenspeicher wie CDs und DVDs tragen ihre Information auf einer zweidimensionalen Oberfläche, die mithilfe von Einphotonenprozessen beschrieben und abgelesen wird. Durch das streng lokalisierte Anregungsvolumen und die starke Abgrenzung gegen die Umgebung ermöglicht es die 2PA dagegen, Daten in einem dreidimensionalen Medium zu speichern, wodurch sich die Datendichte extrem vergrößern lässt.^[8,9] Die Kombination aus einer Säurevorstufe, die auf eine 2PA hin eine Säure freisetzt, und einem durch diese Säure aktivierbaren Fluoreszenzfarbstoff (wie in Abbildung 16) wurde eingesetzt, um einen Prototyp für einen Datenspeicher zu erzeugen, in dem hunderte von Schichten Informationen aufnehmen können (Abbildung 18).^[118] Dieses Speichermedium hat einen Durchmesser von 120 mm bei einer Dicke von 1.2 mm und kann 1 Tbyte an Daten speichern – etwa 200-mal so viel wie eine DVD. Die Schreibgeschwindigkeit betrug allerdings nur 3 Mbytes s^{-1} , sodass ungefähr 4 Tage für 1 Tbyte benötigt wurden. Daran wird der Bedarf nach empfindlicheren Materialien für die Zweiphotonenanregung erkennbar. Photochrome Farbstoffe mit großen 2PA-Querschnitten könnten auf diesem Gebiet sehr nützlich sein. So führte die Photoisomerisierung des *trans*-Porphyrin-Perinaphthothioindigo-Farbstoffs **82** zum *cis*-Isomer, das, wie das *trans*-Isomer, bei Raumtemperatur thermisch stabil ist.^[119] Die Porphyrineinheit sorgte für einen großen 2PA-Querschnitt, sodass ein schnelles Umschalten möglich wurde, das der erforderlichen Geschwindigkeit für einen Arbeitsspeicher nahekam. In diesem Fall ist ein zer-

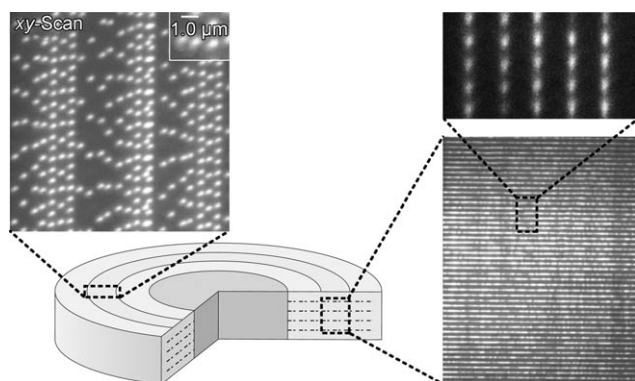
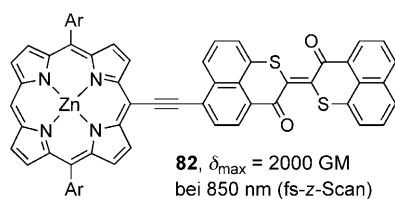


Abbildung 18. Ein 3D-Datenspeicher. Die Information wird durch Zweiphotonenanregung in viele Schichten geschrieben und gelesen. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [118].



störungsfreies Lesen aber nicht möglich, weil die Anregungsbanden überlappen und die Photoisomerisierung reversibel ist. Über das beschriebene Beispiel hinaus wurden auch zahlreiche photochrome Zweiphotonenfarbstoffe auf Bisthiénylethen-Basis entwickelt.^[120]

5.9. Optische Leistungsbegrenzer

Der Ausdruck „optische Leistungsbegrenzer“ (optical power limiter) beschreibt Materialien mit intensitätsabhängiger Absorption: Sie sind bei niedrigen Lichtintensitäten transparent, bei hohen Lichtintensitäten aber opak.^[10] Solche Materialien verhalten sich wie optische Verschlüsse mit Reaktionszeiten im Piko- bis Nanosekundenbereich. Optische Leistungsbegrenzer sind insofern als „intelligente“ Materialien zu betrachten, als ihre Funktion eine intrinsische Eigenschaft ist, die in keinerlei Weise von außen gesteuert wird. Abbildung 19 zeigt als Beispiel das Verhalten des Stilbenderivats **3** (Abschnitt 4.1) bei 5-ns-Pulsen mit einer Wellenlänge von 600 nm.^[36] Bei geringer Lichtintensität betrug die Transmission $T = 0.95$ (95 % des Lichts durchdringen das Medium), doch bei zunehmender Intensität überstieg die Energie des durchdringenden Lichts 20 μJ nicht, und der Großteil wurde absorbiert. Das Militär benötigt optische Leistungsbegrenzer, um empfindliche Sensoren vor Laserlicht zu schützen. Sie können auch in der optischen Telekommunikation genutzt werden, um Signalspitzen zu entfernen. Besonders gefragt sind optische Leistungsbegrenzer, die einen großen Spektralbereich abdecken und einen Schutz bei verschiedenen Frequenzen bieten.

Die wichtigsten Mechanismen der optischen Leistungsbegrenzung sind die Absorption im angeregten Zustand

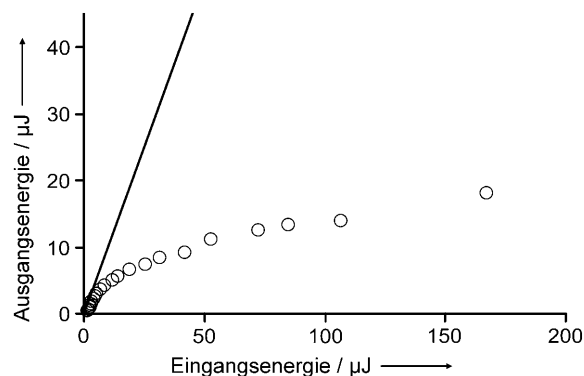


Abbildung 19. Optische Leistungsbegrenzung für 5-ns-Pulse mit einer Wellenlänge von 600 nm durch den Zweiphotonenfarbstoff 4,4'-Bis(di-butylamino)stilben (**3**, 0.14 M in Aceton). Die durchgezogene Linie entspricht einer Probe mit einer Transmission von $T = 0.95$. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [36].

(ESA) und die nichtlineare Streuung. Zu einer ESA kommt es, wenn durch Lichtabsorption ein angeregter Singulett- oder Triplett-Zustand erzeugt wird, der stärker absorbiert als der Grundzustand (Abbildung 20). Die Absorption durch ange-

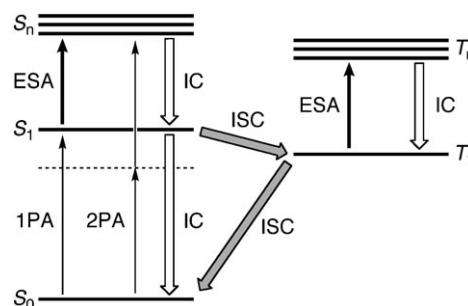


Abbildung 20. Vereinfachtes Jablonski-Diagramm für die optische Leistungsbegrenzung nach 1PA oder 2PA. Eingezeichnet sind die Übergänge bei Absorption im angeregten Zustand (ESA), innerer Konversion (IC) und Intersystem-Crossing (ISC).

regte Singulett-Zustände ($S_1 \rightarrow S_n$) führt zu einem sofortigen Effekt, ist aber nur von kurzer Dauer. Die Absorption durch angeregte Triplett-Zustände ($T_1 \rightarrow T_n$) entwickelt sich dagegen langsamer (über Piko- bis Nanosekunden), weil ein Intersystem-Crossing (ISC) erforderlich ist, und klingt gewöhnlich binnen einiger Mikrosekunden ab. Die längere Lebensdauer von Triplett-Zuständen resultiert bei gleicher Lichtintensität in stärker besetzten angeregten Zuständen und ergibt folglich leistungsfähigere optische Leistungsbegrenzer.

Die 2PA erscheint als idealer Mechanismus für die optische Leistungsbegrenzung, weil sie (im Unterschied zu ESA) keine lineare Absorption verlangt, sodass bei geringer Lichtintensität eine hervorragende Transparenz zu erwarten wäre. Allerdings sind die 2PA-Querschnitte der verfügbaren Materialien noch nicht groß genug, um effektive optische Leistungsbegrenzer zu erhalten, die alleine auf Zweiphotonenabsorption beruhen. Eine gangbare Strategie kombiniert daher 2PA und ESA (Abbildung 20). Durch ein geringes Ausmaß an 2PA können angeregte Zustände erzeugt werden,

die dann in einem Kreislauf von ESA und innerer Konversion (IC) mehr Licht absorbieren. Das Stilbenderivat **3** (Abbildung 19) und viele weitere Zweiphotonenfarbstoffe zeigen dieses Verhalten.^[36] Für eine effektive optische Leistungsbegrenzung müssen bei der Anregungswellenlänge mehrere Voraussetzungen erfüllt sein: ein großer 2PA-Querschnitt, ein kleiner 1PA-Querschnitt (d.h. ein geringer Extinktionskoeffizient für $S_0 \rightarrow S_1$), eine hohe Triplet-Quantenausbeute (das ISC $S_1 \rightarrow T_1$ muss schneller sein als die IC $S_1 \rightarrow S_0$), eine starke ESA und eine lange Triplet-Lebensdauer (langsamere ISC $T_1 \rightarrow S_0$). In diesem Fall ist der Faktor $N\delta$, das Produkt aus dem 2PA-Querschnitt und der volumenbezogenen Chromophorzahl im Medium (siehe Abschnitt 2.1), ein besseres Bewertungskriterium als δ . Für einen Farbstoff ist es wichtig, dass er sich in hohen Konzentrationen in einem Lösungsmittel oder einem Feststoff als Wirtmaterial einsetzen lässt. Unter diesen Bedingungen kann es zu einer Phasentrennung kommen, die zu problematischen Streuphänomenen führt, und als Folge von Aggregation können sich die Einphotonenabsorptionsbanden verbreitern, sodass sich die Transparenz verschlechtert. Es könnte schwierig werden, einen Farbstoff zu entwickeln, der die gewünschte Löslichkeit mit den erforderlichen optischen Charakteristika verbindet; vielleicht wäre eine Mischung vorzuziehen, in der ein Farbstoff durch 2PA Licht sammelt und die Energie an einen zweiten Farbstoff mit ESA-Verhalten weitergibt.^[121]

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die schnellen Fortschritte beim Design und bei der Synthese von molekularen Zweiphotonenfarbstoffen werden starke Auswirkungen auf diverse Gebiete haben – von den Ingenieur- und Materialwissenschaften bis hin zu Physiologie und Medizin. Die Zweiphotonenanregung wird in optischer Mikroskopie und Mikrofabrikation schon vielfach angewendet, und sie erscheint sehr aussichtsreich hinsichtlich einer lokalisierten Photoaktivierung, für den Wirkstofftransport und die photodynamische Therapie sowie bei der Entwicklung von 3D-Datenspeichern und optischen Leistungsbegrenzern. Für die meisten dieser Anwendungen wurde das Potenzial einer 2PA anhand von herkömmlichen Farbstoffen mit mäßigen 2PA-Querschnitten ($\delta < 50$ GM) bereits nachgewiesen. In jüngster Zeit wurden viele neue Chromophore mit sehr großen 2PA-Querschnitten ($\delta > 10000$ GM) entwickelt, die nun für mögliche Anwendungen bereitstehen. Wir haben beispielsweise einen Porphyrinfarbstoff mit $\delta = 17000$ GM in einer Weise angepasst, dass er als Photosensibilisator in der photodynamischen Therapie (PDT) agieren kann. Dieser Farbstoff (**49**) wurde verwendet, um gezielt bestimmte Blutkapillaren in lebenden Mäusen zu verschließen (Abbildung 15). Die Zweiphotonenanregung sollte die PDT auf Gebieten wie der Augenheilkunde voranbringen. Weitere neuartige medizinische Anwendungen der 2PA zeichnen sich ab, Operationen am grauen Star sind ein Beispiel hierfür.^[122]

Ermutigt durch die Erfolge der Zweiphotonen-Fluoreszenzmikroskopie haben Zellbiologen versucht, über eine bloße Bildgebung hinaus auch lokale Konzentrationen von

biologisch aktiven Verbindungen mithilfe von 2PA zu erfassen und zu beeinflussen (siehe die Abschnitte 5.4 und 5.5). Diese bemerkenswerten Studien brachten schon bei Anwendung von Farbstoffen mit kleinen 2PA-Querschnitten (in einigen Fällen unter 1 GM) deutliche Vorteile, sodass die Synthese besserer Sonden und aktivierbarer Reagentien für Zweiphotonenanwendungen sehr viel verspricht. Weil die Farbstoffe die Zellmembranen schnell durchqueren können müssen, sind niedermolekulare Verbindungen begünstigt; es werden also kleine Farbstoffe mit großen 2PA-Querschnitten gesucht. Biosynthetische fluoreszierende Proteine, die oft bessere Photostabilitäten aufweisen als synthetische Farbstoffe, lassen sich durch Genmanipulation in lebende Systeme einbringen.^[123] Das erste System dieser Art war das grün fluoreszierende Protein (GFP) aus einer Qualle, doch mittlerweile sind zahlreiche solcher Farbstoffe bekannt, die in allen Bereichen des sichtbaren Spektrums absorbieren. Die Bedeutung dieses Ansatzes wurde durch die Vergabe des Chemie-Nobelpreises an Shimomura, Chalfie und Tsien im Jahr 2008 hervorgehoben. δ_{\max} ist für Wildtyp-GFP recht klein (12 GM at 810 nm), doch eine Mutante, das cyan fluoreszierende Protein, ergibt stärkere 2PA-Banden ($\delta_{\max} = 100$ GM bei sowohl 550 als auch 870 nm; fs-TPEF).^[5,124] Möglicherweise können durch Genmanipulation proteinverkapselte Farbstoffe mit noch größeren 2PA-Querschnitten erhalten werden.

Klare Richtlinien für den gezielten Entwurf von 2PA-Farbstoffen sind noch nicht erarbeitet; die besten 2PA-Chromophore resultierten bislang weniger aus rationalem Design als aus Zufallsentdeckungen (die rückblickend oft auf der Grundlage von Übergangsdipolmomenten und Energielücken erklärt werden können, Abschnitt 2). Die Annahme, dass zentrosymmetrische D- π -A- π -D- und A- π -D- π -A-Systeme grundsätzlich eine stärkere 2PA ergeben als entsprechende dipolare D- π -A-Chromophore, wird durch theoretische Modelle und experimentelle Ergebnisse gestützt. Man muss aber bedenken, dass es die Energie der durch 2PA erzeugten angeregten Zustände ist, die im Anschluss an die Absorption für eine Fluoreszenz oder einen anderen photochemischen Prozess zur Verfügung steht – ein großes delokalisiertes π -System mit hohem δ -Wert und einem angeregten Zustand mit sehr niedriger Energie ist daher nicht automatisch für jede Anwendung nützlich. Die hohen δ -Werte für zentrosymmetrische Farbstoffe gehen auf die Resonanz mit einem Zwischenzustand zurück, der energetisch etwa halb so weit über dem Grundzustand liegt wie der durch 2PA erreichte Endzustand. Dieser Endzustand wird schnell unter Bildung des Zwischenzustands (S_1) relaxieren, und Fluoreszenz und photochemische Prozesse werden vorwiegend aus diesem Zwischenzustand erfolgen (nach Kashas Regel). Daher geht bei zentrosymmetrischen Farbstoffen die Energie eines der beiden absorbierten Photonen in Form von Wärme verloren, wohingegen bei einem dipolaren Farbstoff die 2PA zu einem S_1 -Zustand führt, sodass der größte Teil der Energie beider Photonen für photochemische Prozesse verfügbar ist.

Die Zweiphotonenanregung wird bereits häufig in der 3D-Mikrofabrikation angewendet und erscheint sehr aussichtsreich als Methode für 3D-Datenspeicher, vor einer Vermarktung auf diesen beiden Gebieten müssen aber erst

höhere Schreibgeschwindigkeiten erzielt werden, die wegen der niedrigen δ -Werte mit den heute üblichen Farbstoffen nicht möglich sind. Diese Anwendungen würden stark von Farbstoffen profitieren, die durch 2PA im UV- oder im blauen Bereich (300–500 nm) aktiviert werden, weil der Einsatz solcher kurzen Wellenlängen die beugungsbedingte Auflösungsgrenze herabsetzt. Bislang sind nur sehr wenige Zweiphotonenfarbstoffe bekannt, die sich mit Wellenlängen unter 500 nm anregen lassen.

Die Zweiphotonenanregung von organischen Farbstoffen wurde schon vor ungefähr 45 Jahren untersucht, doch die meisten Fortschritte datieren aus den vergangenen 5 bis 10 Jahren. Die Erforschung des Felds steht somit erst am Anfang. Da aber nun zunehmend erkannt wird, dass die Anregung durch zwei Photonen besser sein kann als die Anregung durch nur eines, erwarten wir für die kommenden 10 Jahre eine noch schnellere Weiterentwicklung.

Abkürzungen

1PA	Einphotonenabsorption
2PA	Zweiphotonenabsorption
A	Elektronenakzeptor
c	Lichtgeschwindigkeit, Gl. (2)
C	Konstante in Gl. (4)
CI	Konfigurationswechselwirkung
D	Elektronendonator
Dec	n -Decyl, $C_{10}H_{21}$
D-Term	erster (dipolarer) Term von Gl. (3)
ϵ_0	Permittivität des Vakuums, Gl. (2)
E_{gi}	Energielücke, siehe Abbildung 2
ESA	Absorption im angeregten Zustand
FRET	resonanter Förster-Energietransfer
fs	Femtosekunde, 10^{-15} s
GFP	grün fluoreszierendes Protein
GM	Göppert-Mayer, Einheit für den 2PA-Querschnitt
HOMO	höchstes besetztes Molekülorbital
h	Plancksches Wirkungsquantum
Hex	n -Hexyl, C_6H_{13}
IC	innere Konversion
ISC	Intersystem-Crossing
LUMO	niedrigstes unbesetztes Molekülorbital
N	Zahl an Molekülen pro Volumeneinheit
N_e	Zahl an π -Elektronen in einem Molekül
Non	n -Nonyl, C_9H_{19}
ns	Nanosekunde, 10^{-9} s
Oct	n -Octyl, C_8H_{17}
PDT	photodynamische Therapie
ps	Pikosekunde, 10^{-12} s
S_0	Singulett-Grundzustand
S_1	erster angeregter Singulett-Zustand
S_C	Konjugationssignatur, Gl. (5)
SEM	Rasterelektronenmikroskopie
SU-8	ein Negativ-Epoxidphotolack
S_{ig}	Definition siehe Gl. (2)
T	Transmission
T_1	erster angeregter Triplett-Zustand

TPEF	Fluoreszenz nach Zweiphotonenanregung
TPEPP	Photoprodukte nach Zweiphotonenanregung
T-Term	zweiter Term von Gl. (3)
WLC	Weißlichtkontinuumsmethode zur Messung von δ
Γ	halbe Halbwertsbreite einer Absorptionsbande
δ	2PA-Querschnitt
Δ	Entkopplungsfaktor, $E_{gi}-h\nu$
λ	Wellenlänge
μ_{kl}	Übergangsdipolmoment für den Übergang $k \rightarrow l$
μ s	Mikrosekunde, 10^{-6} s
ν	Lichtfrequenz
σ_p^+	modifizierter Hammett-Koeffizient
Φ_F	Fluoreszenzquantenausbeute
Φ_Δ	Singulett-Sauerstoff-Quantenausbeute

Unsere Arbeiten über Zweiphotonenfarbstoffe wären ohne die Unterstützung unserer Kooperationspartner unmöglich gewesen. Besonders erwähnen möchten wir hier Aleksander Rebane und Mikhail Drobizhev (Montana State University, Bozeman, USA), Jean-Luc Brédas und Joseph Perry (Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA), Karin Schmidt (Graz, Österreich) und Brian Wilson (Ontario Cancer Institute, University of Toronto, Kanada). Wir danken EPSRC, DSTL, EOARD und DARPA für finanzielle Unterstützung. M.P. dankt der Europäischen Kommission für ein innereuropäisches Stipendium (MEIF-CT-2006-041629).

Eingegangen am 27. Oktober 2008

Übersetzt von Dr. Volker Jacob, Mannheim

- [1] M. Göppert-Mayer, *Ann. Phys.* **1931**, 401, 273–294.
- [2] W. Kaiser, C. G. B. Garrett, *Phys. Rev. Lett.* **1961**, 7, 229–231.
- [3] W. Denk, J. H. Strickler, W. W. Webb, *Science* **1990**, 248, 73–76.
- [4] S. R. Marder, *Chem. Commun.* **2006**, 131–134.
- [5] W. R. Zipfel, R. M. Williams, W. W. Webb, *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 1369–1377.
- [6] F. Helmchen, W. Denk, *Nat. Methods* **2005**, 2, 932–940.
- [7] C. N. LaFratta, J. T. Fourkas, T. Baldacchini, R. A. Farrer, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6352–6374; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6238–6258.
- [8] D. A. Parthenopoulos, P. M. Rentzepis, *Science* **1989**, 245, 843–845.
- [9] S. Kawata, Y. Kawata, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 1777–1788.
- [10] C. W. Spangler, *J. Mater. Chem.* **1999**, 9, 2013–2020.
- [11] T.-C. Lin, S.-J. Chung, K. S. Kim, X. Wang, G. S. He, J. Swiatkiewicz, H. E. Pudavar, P. N. Prasad, *Adv. Polym. Sci.* **2003**, 161, 157–193.
- [12] W. G. Fisher, W. P. Partridge, Jr., C. Dees, E. A. Wachter, *Photochem. Photobiol.* **1997**, 66, 141–155.
- [13] G. C. R. Ellis-Davies, *Nat. Methods* **2007**, 4, 619–628.
- [14] a) B. Strehmel, V. Strehmel, *Adv. Photochem.* **2007**, 29, 111–354; b) M. Rumi, S. Barlow, J. Wang, J. W. Perry, S. R. Marder, *Adv. Polym. Sci.* **2008**, 213, 1–95; c) G. S. He, L.-S. Tan, Q. Zheng, P. N. Prasad, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 1245–1330; d) F. Terenziani, C. Katan, E. Badaeva, S. Tretiak, M. Blanchard-Desce, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 4641–4678; e) H. M. Kim, B. R. Cho, *Chem. Commun.* **2009**, 153–164.

- [15] Gleichung (2) ist für SI-Einheiten eingerichtet. In der amerikanischen Literatur ist der Gebrauch von cgs-Einheiten üblich; für diesen Fall muss der Ausdruck mit $16\pi^2\epsilon_0^2$ multipliziert werden, und die elektronische Ladung wird in esu ausgedrückt. Die Form der Gleichung ändert sich auch, wenn für Energie, Frequenz oder Linienbreite andere Einheiten gewählt werden.
- [16] P. N. Butcher, D. Cotter, *The Elements of Non-Linear Optics*, Cambridge University Press, Cambridge, **1990**.
- [17] R. Loudon, *The Quantum Theory of Light*, Oxford University Press, Oxford, **1973**.
- [18] R. W. Boyd, *Non-Linear Optics*, 2. Aufl., Elsevier, London, **2003**.
- [19] W. J. Meath, E. A. Power, *J. Phys. B* **1984**, *17*, 763–781.
- [20] T. Kogej, D. Beljonne, F. Meyers, J. W. Perry, S. R. Marder, J. L. Brédas, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *298*, 1–6.
- [21] J. R. Hefflin, K. Y. Wong, O. Zamani-Khamiri, A. F. Garito, *Phys. Rev. B* **1988**, *38*, 1573–1576.
- [22] S. N. Dixit, D. Guo, S. Mazumdar, *Phys. Rev. B* **1991**, *43*, 6781–6784.
- [23] R. R. Birge, B. M. Pierce, *Int. J. Quantum Chem.* **1986**, *29*, 639–656.
- [24] M. Albota, D. Beljonne, J.-L. Brédas, J. E. Ehrlich, J.-Y. Fu, A. A. Heikal, S. E. Hess, T. Kogej, M. D. Levin, S. R. Marder, D. McCord-Maughon, J. W. Perry, H. Röckel, M. Rumi, G. Subramaniam, W. W. Webb, X.-L. Wu, C. Xu, *Science* **1998**, *281*, 1653–1656.
- [25] M. Rumi, J. E. Ehrlich, A. A. Heikal, J. W. Perry, S. Barlow, Z. Hu, D. McCord-Maughon, T. C. Parker, H. Röckel, S. Thayumanavan, S. R. Marder, D. Beljonne, J.-L. Brédas, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9500–9510.
- [26] R. L. Martin, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 4775–4777.
- [27] C. Katan, S. Tretiak, M. H. V. Werts, A. J. Bain, R. J. Marsh, N. Leonczek, N. Nicolaou, E. Badaeva, O. Mongin, M. Blanchard-Desce, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 9468–9483.
- [28] M. Drobizhev, Y. Stepanenko, A. Rebane, C. J. Wilson, T. E. O. Screen, H. L. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12432–12433.
- [29] M. Sheik-Bahae, A. A. Said, T.-H. Wei, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, *IEEE J. Quantum Electron.* **1990**, *26*, 760–769.
- [30] K. Kamada, A. Matsunaga, K. Yoshino, *J. Opt. Soc. Am. B* **2003**, *20*, 529–537.
- [31] C. Xu, W. W. Webb, *J. Opt. Soc. Am. B* **1996**, *13*, 481–491.
- [32] M. Drobizhev, Y. Stepanenko, Y. Dzenis, A. Karotki, A. Rebane, P. N. Taylor, H. L. Anderson, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 7223–7236.
- [33] N. S. Makarov, M. Drobizhev, A. Rebane, *Opt. Express* **2008**, *16*, 4029–4047.
- [34] Obwohl Ergebnisse aus z-Scan-Experimenten leicht fehlerinterpretiert werden können (R. Signorini, C. Ferrante, D. Pedron, M. Zerbetto, E. Cecchetto, M. Slaviero, I. Fortunati, E. Collini, R. Bozio, A. Abbotto, L. Beverina, G. A. Pagani, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 4224–4234), kann die sorgfältige Analyse der z-Scan-Daten bei unterschiedlichen Pulslängen in Kombination mit Pump-Probe-Daten genaue 2PA-Querschnitte liefern, selbst in Bereichen mit signifikanter 1PA und ESA. Siehe: L. A. Padilha, S. Webster, H. Hu, O. V. Przhonska, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, M. V. Bondar, I. G. Davydenko, Y. L. Slominsky, A. D. Kachkovski, *Chem. Phys.* **2008**, *352*, 97–105.
- [35] W. L. Peticolas, J. P. Goldsborough, K. E. Rieckhoff, *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *10*, 43–45.
- [36] J. E. Ehrlich, X. L. Wu, I.-Y. S. Lee, Z.-Y. Hu, H. Röckel, S. R. Marder, J. W. Perry, *Opt. Lett.* **1997**, *22*, 1843–1845.
- [37] B. A. Reinhardt, L. L. Brott, S. J. Clarson, A. G. Dillard, J. C. Bhatt, R. Kannan, L. Yuan, G. S. He, P. N. Prasad, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1863–1874.
- [38] G. S. He, T.-C. Lin, J. Dai, P. N. Prasad, R. Kannan, A. G. Dombroskie, R. A. Vaia, L.-S. Tan, *J. Phys. Chem.* **2004**, *120*, 5275–5284.
- [39] L. Beverina, J. Fu, A. Leclercq, E. Zojer, P. Pacher, S. Barlow, E. W. Van Stryland, D. J. Hagan, J.-L. Brédas, S. R. Marder, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7282–7283.
- [40] S. J. K. Pond, M. Rumi, M. D. Levin, T. C. Parker, D. Beljonne, M. W. Day, J.-L. Brédas, S. R. Marder, J. W. Perry, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11470–11480.
- [41] S.-J. Chung, S. Zheng, T. Odani, L. Beverina, J. Fu, L. A. Padilha, A. Biesso, J. M. Hales, X. Zhan, K. Schmidt, A. Ye, E. Zojer, S. Barlow, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, Y. Yi, Z. Shuai, G. A. Pagani, J.-L. Brédas, J. W. Perry, S. R. Marder, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14444–14445.
- [42] S.-J. Chung, K.-S. Kim, T.-C. Lin, G. S. He, J. Swiatkiewicz, P. N. Prasad, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10741–10745.
- [43] R. Kannan, G. S. He, T.-C. Lin, P. N. Prasad, R. A. Vaia, L.-S. Tan, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 185–194.
- [44] L. Ventelon, S. Charier, L. Moreaux, J. Mertz, M. Blanchard-Desce, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2156–2159; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2098–2101.
- [45] L. Porrès, O. Mongin, C. Katan, M. Charlot, T. Pons, J. Mertz, M. Blanchard-Desce, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 47–50.
- [46] C. Le Droumaguet, O. Mongin, M. H. V. Werts, M. Blanchard-Desce, *Chem. Commun.* **2005**, 2802–2804.
- [47] O. Mongin, L. Porrès, M. Charlot, C. Katan, M. Blanchard-Desce, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 1481–1498.
- [48] O. Varnavski, X. Yan, O. Mongin, M. Blanchard-Desce, T. Goodson III, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 149–162.
- [49] a) N. Isaacs, *Physical Organic Chemistry*, 2. Aufl., Longman Scientific, **1995**; b) I. G. Binev, R. B. Kuzmanova, J. Kaneti, I. N. Juchnovski, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1982**, 1533–1536.
- [50] Y. Tian, C.-Y. Chen, C.-C. Yang, A. C. Young, S.-H. Jang, W.-C. Chen, A. K.-Y. Jen, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 1977–1987.
- [51] S. K. Lee, W. J. Yang, J. J. Choi, C. H. Kim, S.-J. Jeon, B. R. Cho, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 323–326.
- [52] L. Beverina, M. Crippa, P. Salice, R. Ruffo, C. Ferrante, I. Fortunati, R. Signorini, C. M. Mari, R. Bozio, A. Facchetti, G. A. Pagani, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 3242–3244.
- [53] K. J. Thorley, J. M. Hales, H. L. Anderson, J. W. Perry, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7203–7206; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7095–7098.
- [54] Beim Normalisieren von δ auf die Zahl an π -Elektronen N_e berechnen wir für jede Doppelbindung (C=C oder C=N), jede Dreifachbindung (C \equiv C oder C \equiv N) und jeden Donorsubstituenten (z.B. –NMe₂ oder –OMe) jeweils zwei Elektronen. Bei porphyrinoiden Makrocyclen unterscheidet sich N_e folglich von derjenigen Elektronenzahl, die bei der Bestimmung der Aromatizität betrachtet wird.
- [55] M.-C. Yoon, S. B. Noh, A. Tsuda, Y. Nakamura, A. Osuka, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10080–10081.
- [56] T. K. Ahn, K. S. Kim, D. Y. Kim, S. B. Noh, N. Aratani, C. Ikeda, A. Osuka, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1700–1704.
- [57] Y. Nakamura, S. Y. Jang, T. Tanaka, N. Aratani, J. M. Lim, K. S. Kim, D. Kim, A. Osuka, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 8279–8289.
- [58] S. Easwaramoorthi, S. Y. Jang, Z. S. Yoon, J. M. Lim, C.-W. Lee, C.-L. Mai, Y.-C. Liu, C.-Y. Yeh, J. Vura-Weis, M. R. Wasieleski, D. Kim, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 6563–6570.
- [59] J. O. Morley, *Int. J. Quantum Chem.* **1993**, *46*, 19–26.
- [60] V. S. Lin, S. G. DiMaggio, M. J. Therien, *Science* **1994**, *264*, 1105–1111.
- [61] H. L. Anderson, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 972–981.
- [62] M. Drobizhev, F. Meng, A. Rebane, Y. Stepanenko, E. Nickel, C. W. Spangler, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 9802–9814.

- [63] M. Drobizhev, Y. Stepanenko, Y. Dzenis, A. Karotki, A. Rebane, P. N. Taylor, H. L. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15352–15353.
- [64] M. J. Frampton, H. Akdas, A. R. Cowley, J. E. Rogers, J. E. Slagle, P. A. Fleitz, M. Drobizhev, A. Rebane, H. L. Anderson, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5365–5368.
- [65] H. A. Collins, M. Khurana, E. H. Moriyama, A. Mariampillai, E. Dahlstedt, M. Balaz, M. K. Kuimova, M. Drobizhev, V. X. D. Yang, D. Phillips, A. Rebane, B. C. Wilson, H. L. Anderson, *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 420–424.
- [66] M. O. Senge, M. Fazekas, E. G. A. Notaras, W. J. Blau, M. Zawadzka, O. B. Locos, E. M. Ni Mhuirheartaigh, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 2737–2774.
- [67] J. Arnbjerg, A. Jiménez-Banzo, M. J. Paterson, S. Nonell, J. I. Borrell, O. Christiansen, P. R. Ogilby, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5188–5199.
- [68] K. S. Kim, J. M. Lim, A. Osuka, D. Kim, *J. Photochem. Photobiol. C* **2008**, *9*, 13–28.
- [69] K. Kurotobi, K. S. Kim, S. B. Noh, D. Kim, A. Osuka, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4048–4051; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3944–3947.
- [70] T. K. Ahn, J. H. Kwon, D. Y. Kim, D. W. Cho, D. H. Jeong, S. K. Kim, M. Suzuki, S. Shimizu, A. Osuka, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12856–12861.
- [71] a) Y. Tanaka, S. Saito, S. Mori, N. Aratani, H. Shinokubo, N. Shibata, Y. Higuchi, Z. S. Yoon, K. S. Kim, S. B. Noh, J. K. Park, D. Kim, A. Osuka, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 693–696; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 681–684; b) J. M. Lim, Z. S. Yoon, J.-Y. Shin, K. S. Kim, M.-C. Yoon, D. Kim, *Chem. Commun.* **2009**, 261–273.
- [72] H. Rath, J. Sankar, V. PrabhuRaja, T. K. Chandrashekar, A. Nag, D. Goswami, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11608–11609.
- [73] M. Williams-Harry, A. Bhaskar, G. Ramakrishna, T. Goodson III, M. Imamura, A. Mawatari, K. Nakao, H. Enozawa, T. Nishinaga, M. Iyoda, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3252–3253.
- [74] Y.-Z. Cui, Q. Fang, G. Xue, G.-B. Xu, L. Yin, W.-T. Yu, *Chem. Lett.* **2005**, *34*, 644–645.
- [75] A. Bhaskar, R. Guda, M. M. Haley, T. Goodson III, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13972–13973.
- [76] M. Drobizhev, A. Karotki, A. Rebane, C. W. Spangler, *Opt. Lett.* **2001**, *26*, 1081–1083.
- [77] a) M. K. Kuimova, M. Hoffmann, M. U. Winters, M. Eng, M. Balaz, I. P. Clark, H. A. Collins, S. M. Tavender, C. J. Wilson, B. Albinsson, H. L. Anderson, A. W. Parker, D. Phillips, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 675–682; b) M. J. Frampton, G. Accorsi, N. Armaroli, J. E. Rogers, P. A. Fleitz, K. J. McEwan, H. L. Anderson, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1056–1061.
- [78] S. M. Kuebler, M. Rumi in *Encyclopedia of Modern Optics, Bd. III*, Elsevier, Oxford, **2005**, S. 189–206.
- [79] X. Wang, L. J. Krebs, M. Al-Nuri, H. E. Pudavar, S. Ghosal, C. Liebow, A. A. Nagy, A. V. Schally, P. N. Prasad, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 11081–11084.
- [80] a) H. M. Kim, B. H. Jeong, J.-Y. Hyon, M. J. An, M. S. Seo, J. H. Hong, K. J. Lee, C. H. Kim, T. Joo, S.-C. Hong, B. R. Cho, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4246–4247; b) H. M. Kim, M. J. An, J. H. Hong, B. H. Jeong, O. Kwon, J.-Y. Hyon, S.-C. Hong, K. J. Lee, B. R. Cho, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 2263–2266; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2231–2234.
- [81] S. J. K. Pond, O. Tsutsumi, M. Rumi, O. Kwon, E. Zojer, J.-L. Brédas, S. R. Marder, J. W. Perry, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9291–9306.
- [82] H. M. Kim, M.-Y. Jeong, H. C. Ahn, S.-J. Jeon, B. R. Cho, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5749–5751.
- [83] H. C. Ahn, S. K. Yang, H. M. Kim, S. Li, S.-J. Jeon, B. R. Cho, *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *410*, 312–315.
- [84] R. Bozio, E. Cecchetto, G. Fabbrini, C. Ferrante, M. Maggini, E. Menna, D. Pedron, R. Riccò, R. Signorini, M. Zerbetto, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 6459–6464.
- [85] S. Sumalekshmy, M. M. Henary, N. Siegel, P. V. Lawson, Y. Wu, K. Schmidt, J.-L. Brédas, J. W. Perry, C. J. Fahrni, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11888–11889.
- [86] A. Bhaskar, G. Ramakrishna, R. J. Twieg, T. Goodson III, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 14607–14611.
- [87] H. M. Kim, M. S. Seo, M. J. An, J. H. Hong, Y. S. Tian, J. H. Choi, O. Kwon, K. J. Lee, B. R. Cho, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 5245–5248; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5167–5170.
- [88] C. Huang, J. Fan, X. Peng, Z. Lin, B. Guo, A. Ren, J. Cui, S. Sun, *J. Photochem. Photobiol. A* **2008**, *199*, 144–149.
- [89] M.-H. Ha-Thi, M. Penhoat, D. Drouin, M. Blanchard-Desce, V. Michelet, I. Leray, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 5941–5950.
- [90] Z.-Q. Liu, M. Shi, F.-Y. Li, Q. Fang, Z.-H. Chen, T. Yi, C.-H. Huang, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5481–5484.
- [91] S. Charier, O. Ruel, J.-B. Baudin, D. Alcor, J.-F. Allemand, A. Meglio, L. Jullien, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4889–4892; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4785–4788.
- [92] M. Matsuzaki, G. C. R. Ellis-Davies, T. Nemoto, Y. Miyashita, M. Iino, H. Kasai, *Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 1086–1092.
- [93] C. D. Harvey, K. Svoboda, *Nature* **2007**, *450*, 1195–1200.
- [94] T. Furuta, S. S.-H. Wang, J. L. Dantzker, T. M. Dore, W. J. Bybee, E. M. Callaway, W. Denk, R. Y. Tsien, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1193–1200.
- [95] S. Gug, S. Charon, A. Specht, K. Alarcon, D. Ogden, B. Zietz, J. Léonard, S. Haacke, F. Bolze, J.-F. Nicoud, M. Goeldner, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1303–1307.
- [96] A. Momotake, N. Lindegger, E. Niggli, R. J. Barsotti, G. C. R. Ellis-Davies, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 35–40.
- [97] S. Weckler, A. Mikhailovsky, P. C. Ford, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13566–13567.
- [98] A. P. Goodwin, J. L. Mynar, Y. Ma, G. R. Fleming, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9952–9953.
- [99] S. B. Brown, E. A. Brown, I. Walker, *Lancet Oncol.* **2004**, *5*, 497–508.
- [100] R. Marchesini, E. Melloni, G. Pezzoni, G. Savi, F. Zunino, F. Docchio, G. Fava, *Lasers Surg. Med.* **1986**, *6*, 323–327.
- [101] P. Lenz, *Photochem. Photobiol.* **1995**, *62*, 333–338.
- [102] J. D. Bhawalkar, N. D. Kumar, C.-F. Zhao, P. N. Prasad, *J. Clin. Laser Med. Surg.* **1997**, *15*, 201–204.
- [103] M. Khurana, H. A. Collins, A. Karotki, H. L. Anderson, D. T. Cramb, B. C. Wilson, *Photochem. Photobiol.* **2007**, *83*, 1441–1448.
- [104] K. S. Samkoe, A. A. Clancy, A. Karotki, B. C. Wilson, D. T. Cramb, *J. Biol. Opt.* **2007**, *12*, 034025/034021–034025/034014.
- [105] M. A. Oar, W. R. Dichtel, J. M. Serin, J. M. J. Fréchet, J. E. Rogers, J. E. Slagle, P. A. Fleitz, L.-S. Tan, T. Y. Ohulchanskyy, P. N. Prasad, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 3682–3692.
- [106] a) C. W. Spangler, J. R. Starkley, A. Rebane, F. Meng, A. Gong, M. Drobizhev, *Proc. SPIE* **2006**, *6139*, 61390X; b) J. R. Starkey, A. K. Rebane, M. A. Drobizhev, F. Meng, A. Gong, A. Elliott, K. McInnerney, C. W. Spangler, *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 6564–6573.
- [107] S. Kim, T. Y. Ohulchanskyy, H. E. Pudavar, R. K. Pandey, P. N. Prasad, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2669–2675.
- [108] L. Beverina, M. Crippa, M. Landenna, R. Ruffo, P. Salice, F. Silvestri, S. Versari, A. Villa, L. Ciaffoni, E. Collini, C. Ferrante, S. Bradamante, C. M. Mari, R. Bozio, G. A. Pagani, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1894–1902.
- [109] K. Ogawa, H. Hasegawa, Y. Inaba, Y. Kobuke, H. Inouye, Y. Kanemitsu, E. Kohno, T. Hirano, S.-i. Ogura, I. Okura, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2276–2283.
- [110] B. Jia, J. Li, M. Gu, *Aust. J. Chem.* **2007**, *60*, 484–495.
- [111] K.-S. Lee, D.-Y. Yang, S. H. Park, R. H. Kim, *Polym. Adv. Technol.* **2006**, *17*, 72–82.

- [112] S. H. Wong, M. Thiel, P. Brodersen, D. Fenske, G. A. Ozin, M. Wegener, G. von Freymann, *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 4213–4221.
- [113] S. M. Kuebler, K. L. Braun, W. Zhou, J. K. Cammack, T. Yu, C. K. Ober, S. R. Marder, J. W. Perry, *J. Photochem. Photobiol. A* **2003**, *158*, 163–170.
- [114] J. Scrimgeour, Dissertation, Department of Physics, University of Oxford, Großbritannien, **2005**.
- [115] J. Scrimgeour, D. N. Sharp, C. F. Blanford, O. M. Roche, R. G. Denning, A. J. Turberfield, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 1557–1560.
- [116] N. Tétreault, G. von Freymann, M. Deubel, M. Hermatschweiler, F. Pérez-Willard, S. John, M. Wegener, G. A. Ozin, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 457–460.
- [117] W. Haske, V. W. Chen, J. M. Hales, W. Dong, S. Barlow, S. R. Marder, J. W. Perry, *Opt. Express* **2007**, *15*, 3426–3436.
- [118] E. Walker, P. M. Rentzepis, *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 406–408.
- [119] J. T. Dy, R. Maeda, Y. Nagatsuka, K. Ogawa, K. Kamada, K. Ohta, Y. Kobuke, *Chem. Commun.* **2007**, 5170–5172.
- [120] H. Tian, Y. Feng, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 1617–1622.
- [121] M. P. Joshi, J. Swiatkiewicz, F. Xu, P. N. Prasad, *Opt. Lett.* **1998**, *23*, 1742–1744.
- [122] J. Träger, H.-C. Kim, N. Hampp, *Nat. Photonics* **2007**, *1*, 509–511.
- [123] B. N. G. Giepmans, S. R. Adams, M. H. Ellisman, R. Y. Tsien, *Science* **2006**, *312*, 217–224.
- [124] M. Drobizhev, N. S. Makarov, T. Hughes, A. Rebane, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 14051–14054.





Erlebnis Wissenschaft
... für alle, die mehr wissen wollen

Zankl, H.
Irrwitziges aus der Wissenschaft
Von Leuchtkaninchen bis Dunkelbirnen
2008. 270 S. m. 30 Abb. Geb.
€ 24,90. ISBN 978-3527-32114-8

Augenzwinkernd erläutert Heinrich Zankl die bevorzugten Löwenfang-Methoden der Mathematiker, die unbestreitbaren Vorzüge des »Null-Hirn«-Managements und die faszinierenden Rituale des Volks der Nacirema. Neugierig auf mehr? Dann treten Sie ein ins Kuriositätenkabinett!

Synwoldt, C.
Mehr als Sonne, Wind und Wasser
Energie für eine neue Ära
2008. 232 S. m. 79 Abb. u. 18 Tab. Geb.
€ 24,90. ISBN 978-3527-40829-0

Kann Erdöl auf Dauer der Schmierstoff der Welt- und Energiewirtschaft sein? Was passiert, wenn die Vorräte zur Neige gehen? Christian Synwoldt

zeigt: die Energiewende ist heute schon möglich, die Schlüsseltechnologien stehen bereit. Der Autor präsentiert keine utopischen Visionen, sondern sofort umsetzbare Lösungen.

Glaser, R.
Heilende Magnete – strahlende Handys
Bioelektromagnetismus: Fakten und Legenden
2008. 360 S. m. 10 Abb. Geb.
€ 24,90. ISBN 978-3527-40753-8

Hat Wasser ein Gedächtnis? Schaden Handys der Gesundheit? Roland Glaser, Biophysiker und langjähriger Forscher auf dem Gebiet des Bio-magnetismus, gibt Antworten und schlägt eine Schneise durch das Dickicht von Fakten und Legenden.





*Der Euro-Preis gilt nur in Deutschland



WILEY-VCH · Postfach 101161 · D-69451 Weinheim
Fax: +49 (0) 6201-60 6184 · service@wiley-vch.de
www.wiley-vch.de/erlebnis-wissenschaft