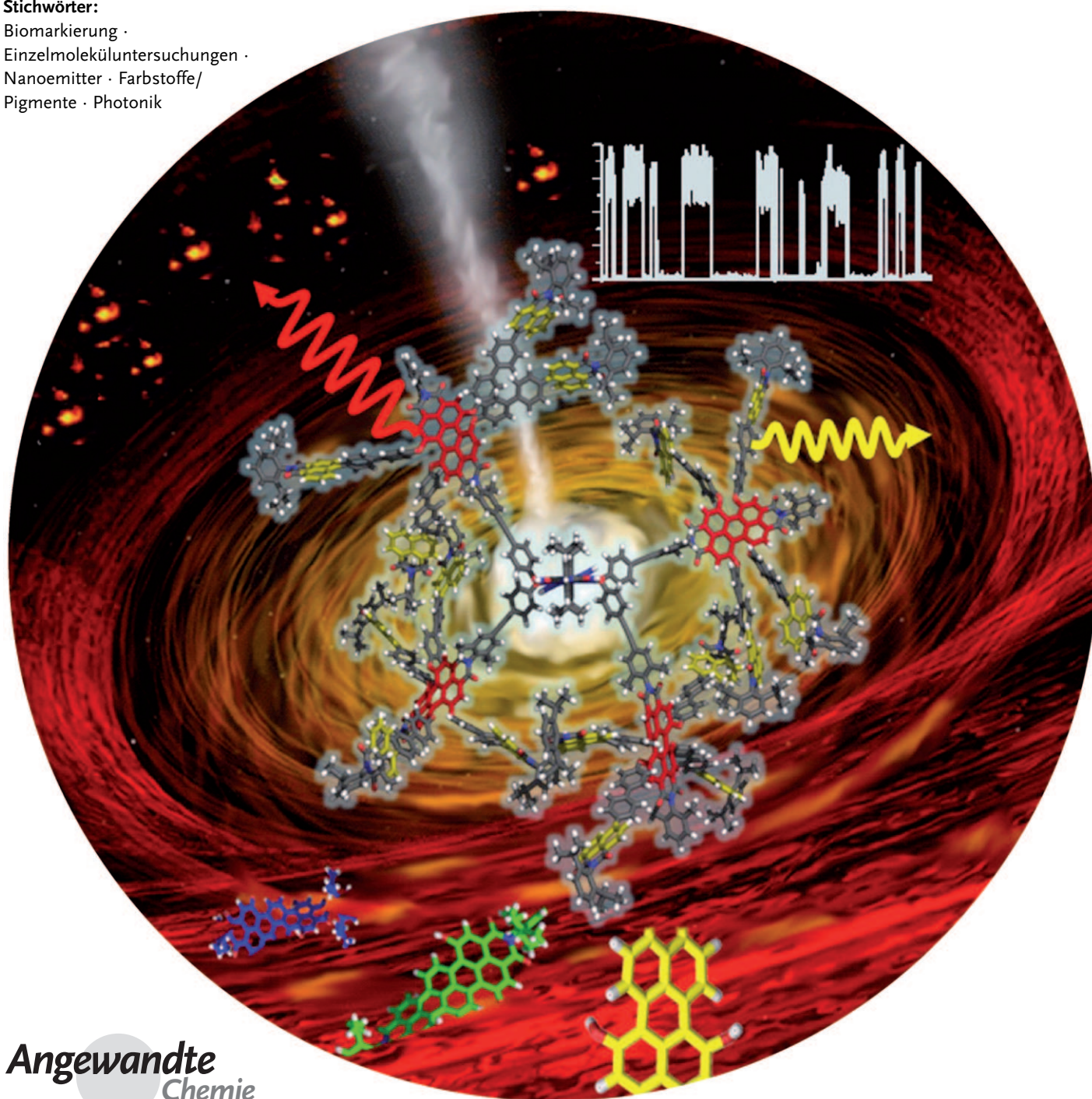


Rylenfarbstoffe als maßgeschneiderte Nanoemitter für die Photonik

Tanja Weil,* Tom Vosch, Johan Hofkens,* Kalina Peneva und Klaus Müllen*

Stichwörter:

Biomarkierung ·
Einzelmoleküluntersuchungen ·
Nanoemitter · Farbstoffe/
Pigmente · Photonik



Dieser Aufsatz fasst die jüngsten Fortschritte auf dem Gebiet der Rylenfarbstoffe und Rylen-Nanoemitter für den Einsatz in der Photonik zusammen und beschreibt den Einfluss des Farbstoffdesigns auf die Leistungsmerkmale; im Zentrum stehen dabei die optischen Eigenschaften, die Selbstorganisation, die molekularen Wechselwirkungen sowie die Wechselwirkungsspezifität dieser Verbindungen. Die Messung ihrer Absorptions-, Emissions- oder Anregungsspektren ermöglicht die genaue Bestimmung der Position oder der dreidimensionalen Orientierung ihrer Übergangsdipolmomente. Wichtig ist hierbei das Wechselspiel zwischen maßgeschneidertem (makro)molekularem Design und Einzelmolekül-spektroskopischen Untersuchungen. Die experimentelle Verfolgung von Einzelmolekülen ermöglicht die Aufklärung komplexer Prozesse, z. B. der Kinetik von Energietransferprozessen oder der (Bio-)Katalyse, wodurch ein tieferes Verständnis der Entstehung und Herkunft von Unregelmäßigkeiten möglich wird. Derartige Untersuchungen sind für die Entwicklung verbesserter Nanoemitter unerlässlich und erfordern eine enge Zusammenarbeit von Spektroskopikern und Synthetikern.

Aus dem Inhalt

| | |
|---|------|
| 1. Einleitung | 9253 |
| 2. Spektrale Feinabstimmung funktionaler Rylenfarbstoffe | 9254 |
| 3. Rylenemitter als Einzelmolekülreporter ihrer lokalen Nanoumgebung | 9258 |
| 4. Multichromophor-Nanoemitter und Energiekaskaden | 9262 |
| 5. Redoxaktive Chromophore und Multichromophoranordnungen | 9267 |
| 6. Rylenfarbstoffe für Anwendungen in biologischen Systemen | 9268 |
| 7. Zusammenfassung | 9274 |

1. Einleitung

Die Farbstoffchemie ist eine der ältesten und am meisten erforschten Gebiete der industriellen organischen Chemie. Traditionelle Anwendungen von Farbstoffen umfassen zumeist das Färben von Textilien oder Konsumgütern.^[1–4] Eine Vielzahl von Farbstoffen ist heutzutage kommerziell verfügbar, und so stellt sich die Frage, ob die Synthese neuer Farbstoffe noch immer ein lohnenswertes Ziel ist. In den vergangenen Jahren entwickelte sich ein neuer, aufstrebender Bereich der Farbstoffchemie: So genannte „funktionale Farbstoffe“ werden für komplexe Anwendungen in der Photonik, z. B. für flüssigkristalline Displays oder Laser, eingesetzt. Ihr Design ist nicht primär auf die Justierung der Farbe ausgerichtet – es wird vielmehr Wert auf die Feinregulierung des Abstands zwischen den Energieniveaus, Selbstorganisation, Ladungsträgerbeweglichkeiten, Photostabilität oder die Anknüpfung von molekularen Erkennungseinheiten gelegt.^[5–7] Gebräuchliche Farbstoffe wie die Fluorescein- oder Rhodaminfarbstoffe, einige 4,4'-Difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indazen-Farbstoffe (Bodipy) sowie die meisten Cyaninfarbstoffe weisen wenig strukturierte, relativ enge Absorptions- und Emissionsbanden auf. Durch geringe Stokes-Verschiebungen bei unterschiedlichen Lösungsmittelpolaritäten, hohe molare Absorptionskoeffizienten und moderate bis hohe Fluoreszenzquantenausbeuten ergibt sich eine Vielzahl von interessanten Anwendungsmöglichkeiten.^[8] Allerdings sind die Fluoreszenzlebenszeiten und Photostabilitäten der meisten organischen Farbstoffe, mit Ausnahme von z. B. den Akridonfarbstoffen, immer noch gering. Daher ist keine effiziente zeitliche Auflösung der kurzlebigen Emissionsinterferenz von gestreutem Anregungslicht möglich.^[8] In diesem Zusammenhang haben Rylenfarbstoffe in der Vergangenheit viel Interesse gefunden. Sie sind nicht nur interessante Farb-

stoffe, sondern zeichnen sich darüber hinaus durch ausgezeichnete chemische, thermische, photochemische und photophysikalische Stabilitäten, verbunden mit hohen Extinktionskoeffizienten, aus.^[9–13] Rylenfarbstoffe basieren auf Naphthalingruppen, die als kleinste gemeinsame Einheit über die *peri*-Position miteinander verknüpft sind. Betrachtet man ein solches Chromophorsystem als Polymer, können Rylenfarbstoffe auch als Oligo(*peri*-naphthylene) bezeichnet werden. Ihre Nomenklatur wurde zuerst von Clar formuliert und ist in Abbildung 1 erläutert.^[14] Funktionalisierte Rylenfarbstoffe wurden besonders auf ihre Eignung für anspruchsvolle materialwissenschaftliche und technische Anwendungen untersucht. Diese umfassen unter anderem den Einsatz in opto-^[15–18] und photoelektronischen Bauteilen,^[19–25] thermographischen Prozessen,^[26,27] Energietransferkaskaden,^[28] organischen Leuchtdioden^[29–32] und als Nah-Infrarot-

[*] K. Peneva, Prof. Dr. K. Müllen
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Ackermannweg 10, 55128 Mainz (Deutschland)
Fax: (+49) 6131-379-350
E-Mail: muellen@mpip-mainz.mpg.de
Prof. Dr. T. Weil
National University of Singapore
3 Science Drive 3, 117543 Singapur (Singapur)
Fax: (+65) 6779-1691
E-Mail: chmweilt@nus.edu.sg
Prof. Dr. J. Hofkens
Katholieke Universiteit Leuven
Celestijnenlaan 200f, 3001 Heverlee (Belgien)
Fax: (+32) 16-327990
E-Mail: Johan.Hofkens@chem.kuleuven.be
Prof. Dr. T. Vösch
University of Copenhagen
Universitetsparken 5, 2100 Kopenhagen (Dänemark)

Farbstoffe.^[33] Als besonders geeignet erwiesen sie sich für Einzelmolekülstudien.

Dieser Aufsatz beschreibt die jüngsten Fortschritte beim Design von Rylensfarbstoffen und Rylens-Nanoemittern. Er zeigt auf, wie das Farbstoffdesign die Leistungsmerkmale dieser Verbindungen durch Fokussierung auf ihre optischen Eigenschaften, Selbstorganisation, molekulare Wechselwirkungen und Wechselwirkungsspezifität beeinflussen kann. In diesem Zusammenhang soll sich die Bezeichnung Nanoemitter auf fluoreszierende Makromoleküle beziehen, deren Größen meist zwischen einem und 50 Nanometern liegen – im Unterschied zu den typischen Chromophoren, mit Abmessungen unterhalb eines Nanometers. Die Messung der Absorptions-, Emissions- oder Anregungsspektren dieser Nanoobjekte ermöglicht die genaue Bestimmung der Position oder der dreidimensionalen (3D-)Orientierung ihrer Übergangsdipolmomente. Wichtig ist hierbei das Wechselspiel

zwischen maßgeschneidertem molekularem oder makromolekularem Design und den Volumen- oder Einzelmolekülspektroskopischen Untersuchungen.^[18,34] Anders als die Beobachtung von Molekülpopulationen ermöglicht die experimentelle Verfolgung von Einzelmolekülen die Aufklärung komplexer Prozesse, z.B. der Kinetik von Energietransferprozessen oder der (Bio-)Katalyse, und führt damit zu einem tieferen Verständnis der Entstehung und Herkunft von Unregelmäßigkeiten. Derartige Untersuchungen sind für die Entwicklung verbesserter Nanoemitter unerlässlich und erfordern eine enge Kooperation von Spektroskopikern und präparativ arbeitenden Organikern.

2. Spektrale Feinabstimmung funktionaler Rylensfarbstoffe

Der Übergang von unlöslichen Rylenspigmenten zu löslichen Rylensfarbstoffen wird durch gezielte Funktionalisierung des Rylengerüsts erreicht. Der signifikanteste Unterschied zwischen Farbstoffen und Pigmenten ist ihre Löslichkeit. Farbstoffe lösen sich gewöhnlich in organischen oder wässrigen Lösungsmitteln, wogegen Pigmente weder in Wasser noch in Öl oder anderen gängigen Lösungsmitteln solubiliert werden können. Durch Erweiterung des aromatischen Systems des Farbstoffkerns wird eine schrittweise bathochrome Verschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima erzielt, die jedoch in der Regel mit einer signifikanten Verminderung der Löslichkeit und Verarbeitbarkeit höherer Rylensfarbstoffe einhergeht.^[35,18] Das ausgedehnte, π -konjugierte System der Rylensfarbstoffe bietet allerdings vielseitige

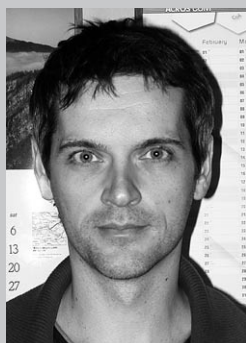


Tanja Weil studierte Chemie (1993–1998) an der TU Braunschweig und der Universität Bordeaux I (Frankreich) und promovierte am MPI für Polymerforschung unter Anleitung von K. Müllen. 2003 erhielt sie die Otto-Hahn-Medaille der Max-Planck-Gesellschaft. Von 2002 bis 2008 stieg sie von der Sektionsleiterin für medizinische Chemie zur Direktorin für chemische Forschung und Entwicklung bei Merz Pharmaceuticals GmbH (Frankfurt) auf. Ab 2005 hatte sie auch eine Stelle am MPI für Polymerforschung inne und nahm 2008 einen Ruf an die National

University of Singapore als Associate Professor an. Seit 2010 ist sie Direktorin des Instituts für Organische Chemie III und Makromolekulare Chemie der Universität Ulm.



Tom Vosch promovierte 2003 in Chemie an der K.U. Leuven. Nach einem Postdoktorat bei R. Dickson am Georgia Institute of Technology (2005–2006) ging er 2007 zurück nach Leuven zur Gruppe um J. Hofkens, wo er sich Einzelmoleküluntersuchungen widmete. 2010 nahm er den Ruf als Associate Professor des Nano-Science Center/Department of Chemistry der Universität Kopenhagen an. Er beschäftigt sich mit Einzelmolekül- und Ensemblespektroskopie, Fluoreszenz- und Raman-Mikroskopie sowie Silberclusterfluoreszenz.



Johan Hofkens studierte Chemie an der K.U. Leuven, wo er auch promovierte. Nach Postdoktoraten bei H. Masuhara an der Osaka University und P. F. Barbara an der University of Minneapolis wechselte er wieder nach Leuven, wo er in der Gruppe um F. de Schryver die Einzelmolekül- und Ensemblespektroskopie leitete. 2005 wurde er Research Professor an der K.U. Leuven und vor kurzem Full Professor. Zu seinen Forschungsinteressen zählen schnelle Spektroskopie, (Einzelmolekül-)Fluoreszenzmikroskopie und -nanoskopie sowie die Anwendung dieser Techniken in den Material- und Biowissenschaften.



Dr. Kalina Peneva studierte Chemie an der Universität Sofia und wechselte 2004 in die Gruppe von K. Müllen am MPI für Polymerforschung. 2008 erlangte sie den Doktorgrad. Nach einem einjährigen Postdoktorat als Research Scientist bei Ciba wurde sie Projektleiterin am MPI für Polymerforschung. Ihre dortigen Forschungen umfassen das Design von Biohybridsystemen sowie deren Anwendungen.



Klaus Müllen erhielt 1969 sein Chemiediplom an der Universität zu Köln und promovierte 1972 an der Universität Basel bei F. Gerson über EPR-Spektroskopie. Es folgte ein Postdoktorat an der ETH Zürich bei J. F. M. Oth mit Forschungen zur dynamischen NMR-Spektroskopie und Elektrochemie sowie die Habilitation 1977 an gleicher Stelle. 1979 wurde er Professor am Institut für Organische Chemie in Köln, 1983 folgte er einem Ruf auf einen Lehrstuhl für Organische Chemie an der Universität Mainz. 1989 wurde er Direktor am dortigen MPI für Polymerforschung. Schwerpunkte seiner Forschungen sind die synthetische makromolekulare Chemie und die Materialwissenschaften. 2008–2009 war er Präsident der GDCh.

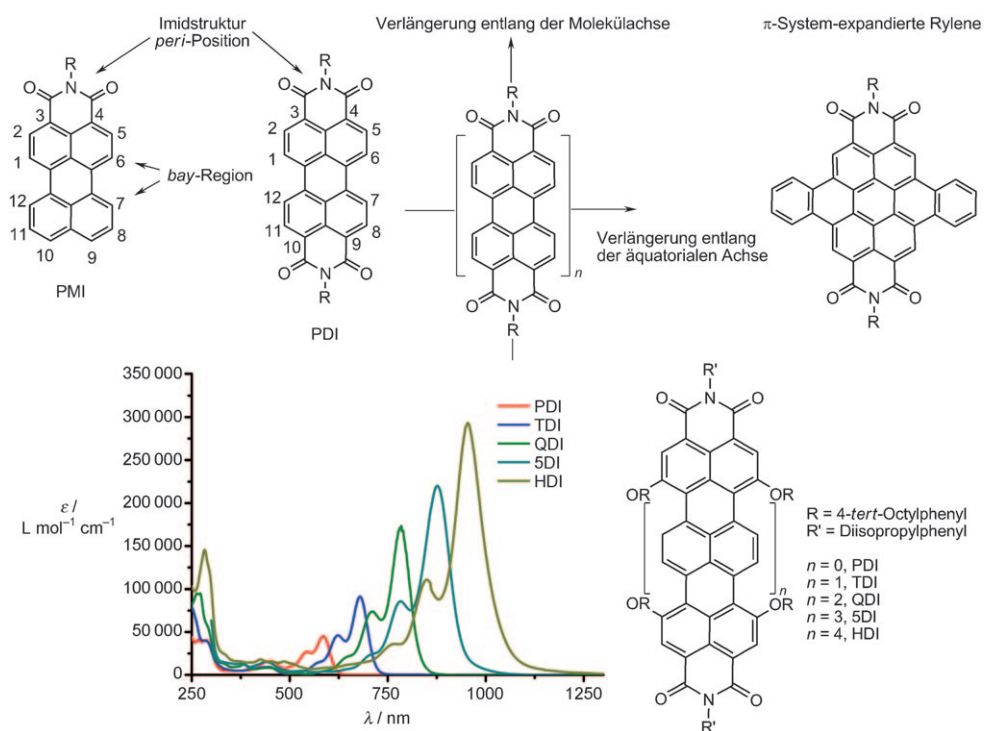


Abbildung 1. a) Chemische Strukturen der unsubstituierten Perylenimidchromophore: Perylen-3,4-dicarboximid (PMI) und Perylenbis(dicarboximid) (PDI), Illustration der bay- und peri-Positionen. Durch Verlängerung des aromatischen Gerüsts werden Rylenfarbstoffe höherer Ordnung erzielt. b) Absorptionsspektren aller Tetraphenoxy-substituierten Rylenimide in CHCl_3 : Perylenbis(dicarboximid) (PDI), Terrylenbis(dicarboximid) (TDI), Quaterrylenbis(dicarboximid) (QDI), Pentarylenbis(dicarboximid) (5DI), Hexarylenbis(dicarboximid) (HDI).

Möglichkeiten für weitere präparative Funktionalisierungen. Unterschiedliche Arten von Substituenten können in die peri- sowie in die bay-Region des Rylengerüsts eingeführt werden (Abbildung 1).^[35] Der Charakter der Substituenten sowie ihre Position im Molekül bestimmen letztlich die Löslichkeit sowie die optischen Eigenschaften wie HOMO/LUMO-Energien, Absorptionswellenlängen (λ_{max}) und die räumlichen Eigenschaften der Molekülorbitale.^[18,35] Auf diese Weise eröffnet die Funktionalisierung den Zugang zu einem großen Portfolio an maßgeschneiderten funktionalen Rylenfarbstoffen. Diese können somit gezielt für die gewünschte Anwendung, beispielsweise Einzelmolekül-spektroskopische Untersuchungen von Energie- und Elektronentransferprozessen, Bauteilen, Biomarkern oder FRET-Biosensoren, entworfen werden.^[18,35] Im vorliegenden Aufsatz werden die wichtigsten Konzepte zur Herstellung funktionaler Rylenfarbstoffe vorgestellt. Ferner werden die Auswirkungen unterschiedlicher Funktionalisierungsstrategien auf ausgewählte Moleküleigenschaften, wie optische Charakteristika, Photostabilitäten, intramolekularer Ladungstransfer oder Wechselwirkungen mit Oberflächen, hervorgehoben.

2.1. Rylenfarbstoffe höherer Ordnung

In jüngster Vergangenheit konnte die Entwicklung einer homologen Serie von Rylenfarbstoffen, beginnend mit dem Perylenbis(dicarboximid) bis hin zum Hexarylenbis(dicarboximid)

oximid)^[33] (Abbildung 1), verwirklicht werden. Die Verlängerung des aromatischen Systems entlang der Molekülachse vom Perylen- (PDI, $n=0$) hin zum Terrylen- (TDI, $n=1$)^[36] und dem Quaterrylenbis(dicarboximid) (QDI, $n=2$)^[37,38] führt im Allgemeinen zu einer bathochromen Verschiebung von ca. 100 nm für jede zusätzliche Naphthalineinheit. Somit wird für Quaterrylen ein Absorptionsmaximum von 780 nm und ein nahezu linearer Anstieg der Extinktionskoeffizienten hin zu $170\,000 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ gefunden. Weiterhin gelang die Herstellung von zwei höheren Rylenhomologen, den Pentarylen- ($n=3$, $\lambda_{\text{max}} = 877 \text{ nm}$) und Hexarylenbis(dicarboximid) ($n=4$, $\lambda_{\text{max}} = 950 \text{ nm}$). Beide zeichnen sich durch eine intensive Absorption im Nah-Infrarot-(NIR)-Bereich sowie relativ schmale Absorptions- und Emissionsbanden aus.^[33,39]

Der Zugang zu verschiedenen Rylenhomologen ermöglicht es nun, ihre Anwendung als Donor- und Akzeptorfarbstoffe für den Förster-Energietransfer (FRET) und den Elektronentransfer (ET) zu untersuchen. Besonders die Möglichkeit, ein bestimmtes Rylenhomologes (z.B. PDI, TDI, QDI) jeweils selektiv anzuregen, ist für Multifarbstoff-Markierungsexperimente und Energietransferstudien sehr interessant und erschließt neue Anwendungsgebiete.

Durch die Benzenellierung der bay-Region von Rylenbis(dicarboximid) lassen sich neue Chromophore mit ausgedehnten π -Systemen entlang der äquatorialen Achse herstellen (Abbildung 1a).^[35,40,41] Im Vergleich zu den oben beschriebenen Rylenbis(dicarboximid) zeichnen sich diese durch eine signifikante hypsochrome Verschiebung der Absorptionsbanden, exzellente Photostabilitäten und hohe Fluoreszenzquantenausbeuten aus.^[35,40,41]

2.2. Phenoxylierung der Rylenfarbstoffe

Die Einführung von Substituenten wie Phenoxygruppen in die bay-Region findet vielfältige Anwendungen, da hierdurch eine Kontrolle des Abstands zwischen den Energieniveaus sowie eine verbesserte Löslichkeit und Verarbeitbarkeit erzielt werden können.^[42] Dementsprechend ist diese Methode eine der am weitesten verbreiteten Synthesestrategien für die gesamte Rylenfarbstoff-Familie (PMI, PDI, TDI), um beispielsweise die Löslichkeit dieser Farbstoffe zu erhö-

hen und Aggregation aufgrund von π -Wechselwirkungen zu unterdrücken.^[42,43] So führt die Substitution in der *bay*-Region durch voluminöse dendritische Phenoxysubstituenten nicht nur zu einer verbesserten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, sondern auch zu einer Abschirmung, die das aromatische Chromophorgerüst vor Sauerstoff oder anderen Radikalen schützt.^[48] Diese Strategie lässt sich nicht nur für Einzelmolekülstudien nutzen,^[44] sondern auch für die Erzeugung von Nanopartikeln mithilfe von Femtosekundenlaser-induzierten Schockwellen.^[45,46] Gleichzeitig werden auch die photophysikalischen und Redox Eigenschaften der Farbstoffe beeinflusst. Verglichen mit unsubstituierten Rylenfarbstoffen wie **1** zeigen die *bay*-funktionalisierten Perylen-derivate **2** und **3** (Abbildung 2) eine geringe vibronische Feinstruktur, bathochrom verschobene Absorptions- und Emissionsspektren, unterschiedliche Emissionslebenszeiten sowie eine ausgeprägte Vergrößerung der $S_0 \rightarrow S_2$ -Absorptionsbandenabstände. Dieses Verhalten basiert auf dem elektronenschiebenden Charakter der Phenoxysubstituenten, und dieser Effekt kann durch Erhöhung des entsprechenden Charakters der Substituenten durch Einführung von *meta*- oder *para*-Methoxygruppen (**2b,c**; Abbildung 2) weiter verstärkt werden.^[47] Im Fall von PDI- und TDI-Farbstoffen führt die Anknüpfung von voluminöseren Substituenten zu einer leichten Verdrehung des planaren Kerns (vgl. z.B. PDI-Farbstoff **3**; Abbildung 2)^[48–50] und einem multiexponenti-

lem Abklingen der Emission wegen der Konformationsfreiheit der Substituenten^[49,51] (Tabelle 1). Weiterhin werden die Eigenschaften der höher angeregten Zustände durch die Phenoxygruppen beeinflusst. Im Fall des phenoxysubstituierten PMI **5** verschiebt sich das $S_1 \rightarrow S_n$ -Absorptionsspektrum substanziell, was zu einer geringeren Überlagerung mit dem Emissionsspektrum (Abbildung 3) und somit zu einer verminderten Geschwindigkeit der Singulett-Singulett-Annihilierung führt.

Aus noch nicht vollständig geklärten Gründen wird die bereits exzellente Photostabilität der Rylenfarbstoffe durch die Phenoxygruppen weiter verbessert, was sich als besonders vielversprechend für Studien an Einzelmolekülen erweist (siehe Abschnitt 3).^[52]

2.3. Regenbogenperylenmonoimid-Farbstoffe über Push-pull-Substituenten

Die Einführung von Substituenten in die 1-, 6- und 9-Positionen eines *N*-(2,6-Diisopropylphenyl)perylen-3,4-dicarboximid-Chromophors ermöglicht die Herstellung neuartiger, funktionalisierter Perylenfarbstoffe **6–10** (Abbildung 4).^[53] Aufgrund der Akzeptorwirkung der Carboxydimidfunktionen der PMIs können durch eine selektive Anknüpfung von verschiedenen Elektronendonoren (Abbil-

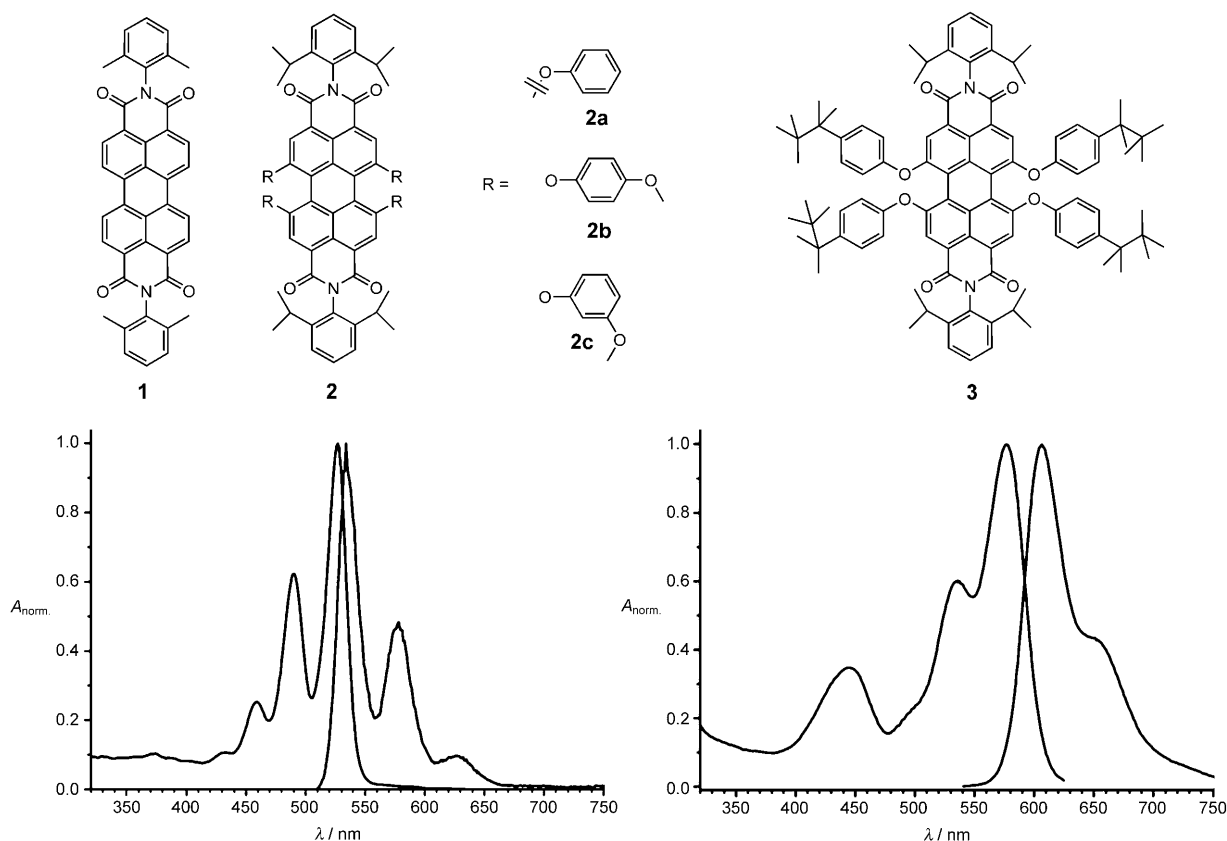


Abbildung 2. Molekülstrukturen und stationäre Spektren eines unfunktionalisierten (**1**, links) und *bay*-funktionalisierten (**3**, rechts) PDI-Farbstoffs. Der Unterschied in der vibronischen Feinstruktur ist offensichtlich: Die ausgeprägte Bande bei 440 nm in der Absorptionsbande im Spektrum rechts entspricht der $S_0 \rightarrow S_2$ -Absorptionsbande.

Tabelle 1: Maxima der Grundzustände der Absorptions- und Emissionsspektren, Extinktionskoeffizienten und Emissionsabklingzeiten von drei Farbstoffen in Toluol, die teilweise Phenoxysubstituenten in der *bay*-Region aufweisen.

| | | $S_0 \rightarrow S_1$ -Absorptions- maximum [nm] | $S_0 \rightarrow S_2$ -Absorptions- maximum [nm] | Emissionsmaximum [nm] | ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹] | Fluoreszenzabklingzeit [ns] und Amplitude [%] |
|----------------|---|---|---|--------------------------|---|--|
| Perylenimid | unsubstituiert (4) | 520 | – | 560 | 38 300 | 4.2 |
| | substituiert (5) | 530 | – | 575 | 41 000 | 4.0 |
| Perylendiimid | unsubstituiert (1) | 525 | – | 536 | – | 3.7 |
| | substituiert (3) | 580 | 440 | 606 | 42 000 | 5.5 (94%), 0.55 (6%) |
| Terrylendiimid | unsubstituiert (12) ^[a] | 651 | – | 670 | 85 000 | 3.2 |
| | substituiert (38) ^[b] | 677 | 450 | 710 | 85 000 | 3.2 (80%), 0.9 (10%), 0.115 (10%) |

[a] Struktur mit 2,6-Diisopropylphenylgruppe anstelle der Alkylkette. [b] Struktur ohne Sulfonylgruppen.

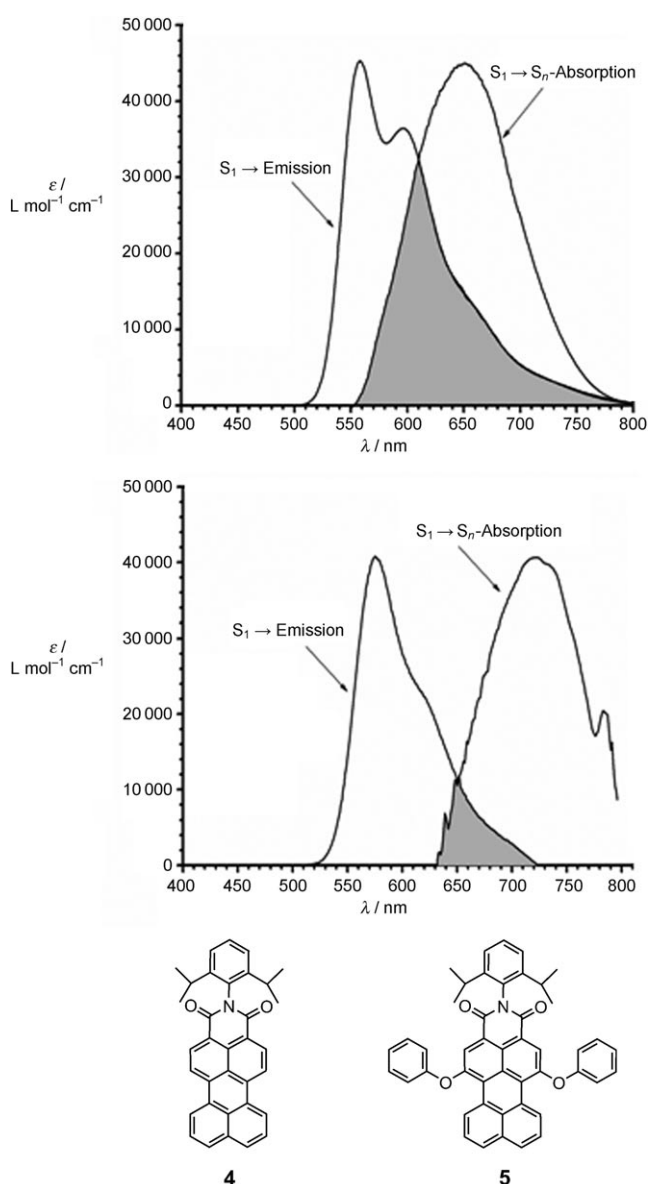


Abbildung 3. Emissions- und $S_1 \rightarrow S_n$ -Absorptionsspektrum a) des PMI **4** und b) des phenoxy-substituierten PMI **5**. Die graue Fläche zeigt die Überlappung zwischen beiden Spektren an, was einer der Indikatoren für die Effizienz der Singulett-Singulett-Annihilation zwischen identische Farbstoffen ist.

dung 4) in der 1-, 6- oder 9-Position (in nur drei Reaktionsstufen) so genannte Push-pull-Familien von Perylenfarbstoffen erhalten werden.^[53] Diese zeichnen sich durch verschiedene Farben des Regenbogens und justierbare spektroskopische und elektrochemische Eigenschaften aus. Abhängig von der Stärke der jeweiligen Donoren, der Akzeptorwirkung der Substituenten und deren Position im Molekül können die Absorptionsmaxima über das gesamte sichtbare Spektrum moduliert werden. Trägt das Perylengerüst einen Donor- und einen Akzeptorsubstituenten gegenüber der *peri*-Position, lassen Orbitalrechnungen und optische Messungen darüber hinaus auf einen intramolekularen Ladungstransfer schließen.^[53] Derartige Farbstoffe erweisen sich somit als vielversprechende Sensibilisatoren („sensitizer“) in Farbstoff-angeregten Solarzellen (dye-sensitized solar cells, DSSCs). Auf Grundlage dieser Ergebnisse konnte durch geeignete Substituenten in der *bay*- und *peri*-Region der hoch effiziente Perylensensibilisator **11** für die gewünschte Anwendung passgenau entworfen werden. Weiterhin wurden die PMIs für die Verwendung in DSSCs mit Anhydridgruppen ausgestattet. Nach einer Verseifung wurden zwei Carbonsäuren erhalten, die mit Titandioxidoberflächen wechselwirken. Wenn Perylenmonoanhydrid (PMA) **11** in DSSCs eingefügt wird, erhält man ein auffallend gutes Umwandlungsverhältnis monochromatischer Photonen in Strom von 87% sowie eine Umwandlung in Leistung von 7.2%.^[53] Die Feinjustierung der Substituenten bietet eine ausgezeichnete Methode, um neue Perylensensibilisatoren mit einem höheren intramolekularen Ladungstransfer (ICT), geeigneteren HOMO- und LUMO-Energien und verbesserten Lichtabsorptionseigenschaften für die Umwandlung der Sonnenenergie herzustellen.

In diesem Abschnitt wurden die wichtigsten Strategien vorgestellt, um die optischen Eigenschaften von Rylenfarbstoffen durch die Einführung funktioneller Gruppen an bestimmte Positionen des Chromophorgerüsts gezielt zu beeinflussen. Im folgende Abschnitt wird der Einfluss der direkten Umgebung des Chromophors auf dessen optische Eigenschaften betrachtet. Rylenfarbstoffe können wegen ihrer Empfindlichkeit gegen ihre direkte Nanoumgebung sowie ihrer hohen Photostabilität als ausgezeichnete Reporter ihres lokalen Umfelds verwendet werden. So hat die multiparametrische Einzelmolekülspektroskopie gezeigt, dass sie ein exzellentes Hilfsmittel zur Untersuchung der Parameter individueller Farbstoffe ist.^[34,51]

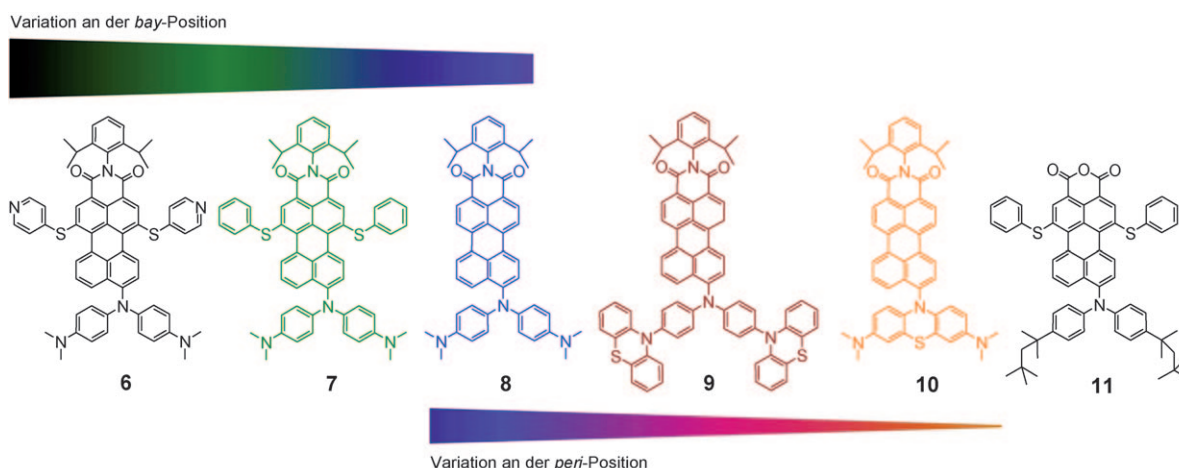


Abbildung 4. Chemische Strukturen der Push-pull-PMIs 6–10 und des Perylensensibilisators 11.

3. Rylenemitter als Einzelmolekülreporter ihrer lokalen Nanoumgebung

3.1. Untersuchungen von einzelnen Rylenemittern

Seit jeher ist die Visualisierung einzelner Moleküle eine der größten Herausforderungen. Experimente an Einzelmolekülen liefern Informationen, die im Beisein vieler Moleküle im Mittel nicht mehr zu beobachten wären.^[54–60] Einzelmolekülstudien eröffnen so einen direkten Zugang zu Subpopulationen eines Kollektivs und ermöglichen somit die Detektion seltener Vorgänge; damit beseitigen sie die Notwendigkeit der Synchronisation in Studien zeitabhängiger Phänomene. Ein ideales Molekül für Einzelmoleküluntersuchungen (single molecule spectroscopy, SMS) zeigt idealerweise hohe Absorptionskoeffizienten, quantitative Quantenausbeuten sowie eine gute Photostabilität.^[61] Sind diese Parameter erreicht, hat jede Absorption eines Photons die Emission eines Photons zur Folge. Somit kann das Molekül eine große Zahl an Absorptions- und Emissionszyklen durchlaufen, bevor die irreversible Bildung eines Photoproduktes stattfindet (Photobleichen).^[62–65] Als allgemeine Regel gilt, dass die untere Grenze des Produkts aus Extinktionskoeffizient (ϵ) und Fluoreszenzquantenausbeute (Φ_f) $\epsilon \times \Phi_f$ der verwendeten Anregungswellenlänge bei $20000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ liegen muss, um ein akzeptables Experiment am Einzelmolekül durchführen zu können.^[61] Rylenfarbstoffe genügen diesen Ansprüchen, da sie andere Farbstoffe in der Lebensdauer des Einzelmoleküls überlegen sind. Aus diesem Grund werden Mitglieder dieser Farbstoffklasse häufig von Experimentatoren ausgewählt.^[58,66–69]

Innerhalb der Rylenfamilie ist PDI 3 (Abbildung 2) mit Phenoxysubstituenten eines der robustesten Moleküle, mit Lebenszeiten von einer bis mehreren Minuten unter normalen Anregungsbedingungen am Einzelmolekül (1 kW cm^{-2}).^[48,52] Abbildung 5 zeigt einen charakteristischen Zeitverlauf („number of counts“) in einem vordefinierten Zeitintervall für ein einzelnes PDI-Molekül, das in einen Polymethylmethacrylat (PMMA)-Polymerfilm eingebettet wurde. Typischerweise wird bei Studien an immobilisierten

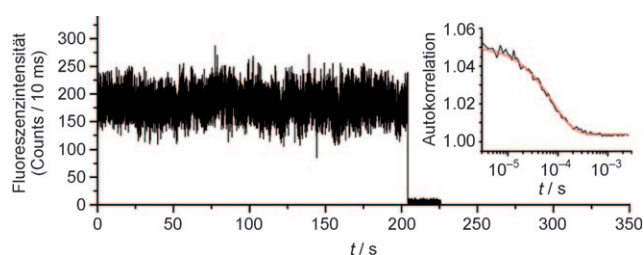


Abbildung 5. Zeitspur eines einzelnen, in einem PMMA-Film eingebetteten PDI-Moleküls. Der Einschub zeigt die Korrelationsfunktion der Intensität der Trajektorie und enthält eine An/Aus-Zustandsänderung mit einer Zeitkonstante von $77 \mu\text{s}$, die auf die Bildung eines Triplets zurückgeführt wird.

Einzelmolekülen eine Veränderung der Fluoreszenzintensität mit der Zeit beobachtet. Dieses An/Aus-Verhalten wird als „Blinking“ bezeichnet und findet im Bereich von einigen Mikrosekunden bis hin zu mehreren Sekunden statt.^[70–72] Wie bei jedem organischen Molekül fluktuiert die Emission von PDIs auf einer Zeitskala von zehn bis zu mehreren hundert Mikrosekunden (siehe Abbildung 5, Einschub). Es wird davon ausgegangen, dass hierfür der physikalische Prozess des Intersystem Crossings (ISC) verantwortlich ist. Das Zeitfenster im Mikrosekundenbereich ist typisch für organische Moleküle, die in einem Polymerfilm immobilisiert wurden und die sich im Triplettzustand befinden.^[73–75] Im Unterschied zu vielen anderen Molekülen zeigt PDI nur selten lange Aus-Zeiten (in der Zeitspur in Abbildung 5 wurden keine beobachtet). Es wird allgemein davon ausgegangen, dass solche Aus-Zeiten aufgrund eines intermolekularen Ladungstransfers zwischen einem einzelnen Molekül und so genannten „Fallen“ (Traps) in der nahen Umgebung entstehen.^[70,72]

Die beobachtete Photostabilität und die Abwesenheit einer komplexen, inhärenten Dynamik ermöglichen letztlich die Verwendung von Rylenfarbstoffen als Reportermolekülen ihrer lokalen Nanoumgebung in einer Vielzahl von materialwissenschaftlichen Einzelmolekülexperimenten. Generell wird das An/Aus-Verhalten als möglicher Nachteil für die Anwendung in der Einzelmolekülspektroskopie betrachtet,

jedoch konnte kürzlich auch eine vorteilhafte Wirkung dieser vormals unerwünschten Eigenschaft gezeigt werden: So kann das Blinking einzelner Moleküle für die höchstauflösende Mikroskopie oder Nanoskopie genutzt werden. Für weitere Informationen auf diesem Gebiet verweisen wir auf die entsprechende Literatur.^[76–88]

3.2. Verfolgung von Polymerdynamiken nahe der Glasübergangstemperatur mithilfe von Rylenfarbstoffen

Der Glasübergang und die damit zusammenhängende Glasübergangstemperatur T_g sind gut beschriebene Größen und Konzepte der Polymerphysik. In der Nähe der Glasübergangstemperatur ändern sich die physikalischen Eigenschaften wie die Viskosität abrupt, oft über mehrere Größenordnungen hinweg.^[61,89] Diese einzigartige Eigenschaft der Glasbildung resultiert aus komplexen Relaxationsprozessen von Polymerketten. Über viele Jahre hinweg haben Forscher versucht, die Relaxationsprozesse von Glasbildnern zu verfolgen, indem einzelne Farbstoffmoleküle in einem Polymer eingebettet wurden.^[90–95] Die zugrunde liegende Idee basiert auf der Annahme, dass kleine Rotationsbewegungen des eingebetteten Farbstoffs Auskunft über den Relaxationsprozess des betrachteten Polymers geben. Um nun die Rotationsbewegungen einzelner Moleküle dreidimensional verfolgen zu können, wurden in den vergangenen Jahren diverse Mikroskopieansätze entwickelt. Eine dieser Methoden ist die defokussierte Weitfeldbildgebungstechnik (defocused wide field imaging technique). Diese liefert direkt Bilder der dreidimensionalen Orientierung eines Moleküls, die als Muster (pattern) bezeichnet werden (Abbildung 6). Das Prinzip sowie die Vorteile dieser Technik wurden kürzlich zusammengefasst.^[61,96]

Bei Einsatz der defokussierten Visualisierung und der Verwendung von **3** als Reportermolekül konnten Rotationsbewegungen eines einzelnen Emitters **3** aufgenommen werden. Basierend auf der analysierten Sequenz der Rotationsbewegungen wurde eine Korrelationsfunktion gebildet, welche die Ermittlung der relevanten Polymerrelaxationszeiten ermöglichte.

3.3. Visualisierung mesoporöser Filme unter Verwendung eines asymmetrischen TDI-Farbstoffs

Aufbauend auf dem TDI-Grundgerüst konnten Nanoreportermoleküle entworfen werden, die Studien an komplexen und industrierelevanten Materialien ermöglichten, wie den mesoporösen, Kanäle enthaltenden Silicaten. TDI weist wegen des erweiterten polyaromatischen Systems eine Rotverschiebung seiner Emissions- und Absorptionsspektren gegenüber jenen von PDI auf und ist deshalb ein besonders interessanter Emitter für Einzelmolekülstudien. Bei solchen Untersuchungen wurden eine geringere Beeinflussung durch Streueffekte sowie weniger Probleme durch Verunreinigungen beobachtet. Über die Einführung von voluminösen Diisopropylimidgruppen und einer *N*-Alkylkette in die *peri*-Position des TDI-Farbstoffs konnte ein geeigneter, desym-

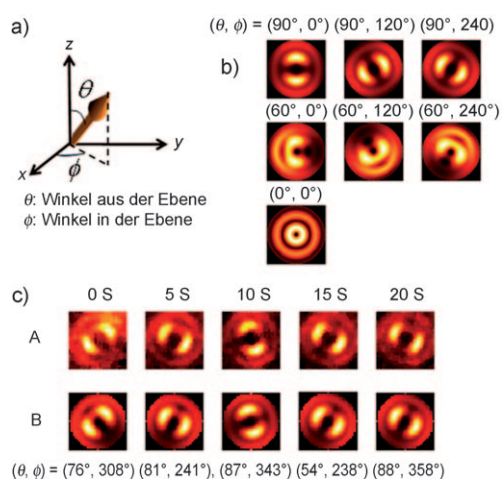


Abbildung 6. a) Beschreibung des Bezugssystems und der Winkel in den defokussierten bildgebenden Experimenten. b) Berechnete defokussierte Muster (Defokussierungstiefe von einem Mikrometer) für unterschiedliche Orientierungen der Übergangsdipolmomente, die mit einem PDI-Molekül assoziiert sind. c) Defokussierte Bilder von **3** in einem dünnen PnBMA-Film bei 310 K. Experimentell beobachtete Emissionsmuster (obere Reihe) und die entsprechenden simulierten Muster (untere Reihe). Das verwendete Polymer ist PnBMA:Poly(*n*-butylmethacrylat) mit $M_w = 10\,200 \text{ g mol}^{-1}$ und $M_w/M_n = 1.06$.

metrisierter TDI-Nanoreporter erhalten werden (Abbildung 7a). Dieser TDI-Emitter zeigt eine hohe Lipophilie und diffundiert frei in organischen Lösungsmitteln wie Chloroform. Weiterhin ermöglicht die Gegenwart der vier Sauerstoffatome der Imidstruktur die Bildung weiterer, sekundärer Wechselwirkungen mit der jeweiligen Umgebung.

Die Diffusion von **12** in einem porösen Netzwerk, das Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) als Templat aufweist, wurde unter gleichzeitiger Beobachtung der räumlichen und spektralen Dynamik des TDI-Moleküls aufgenommen und lieferte so Informationen über den Einfluss der lokalen Umgebung auf das Gastmolekül (Abbildung 7b,c).^[12,97,98] An Luft sind die TDI-Reportermoleküle nahezu immobilisiert, was möglicherweise auf eine Wechselwirkung der freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome der Carbonylgruppen mit den positiv geladenen Kopfgruppen der CTAB-Moleküle oder den aktiven Silanolgruppen zurückzuführen ist (Abbildung 7d). Wird nun das für diesen lipophilen Farbstoff optimale Lösungsmittel Chloroform verwendet, bilden die kleinen Lösungsmittelmoleküle vermutlich eine schmiermittelartige Phase in den Poren (Abbildung 7e), die dazu führt, dass die TDI-Moleküle solvatisiert vorliegen und entlang der Poren diffundieren können.

Die Orientierung der einzelnen TDI-Moleküle (entlang der langen Achse parallel der Kanäle) und ihre Trajektorien beschreiben nun direkt die Richtung der Kanäle und die Domänen von parallelen Kanälen. Die hohe Photostabilität des TDI-Reporters in mesoporösen Materialien ermöglicht die Verfolgung einzelner Moleküle über eine Zeitspanne von über 10 000 s, sodass die Moleküle während dieses Zeitintervalls über beträchtliche Distanzen diffundieren können. Diese Informationen sind essenziell für die Optimierung der

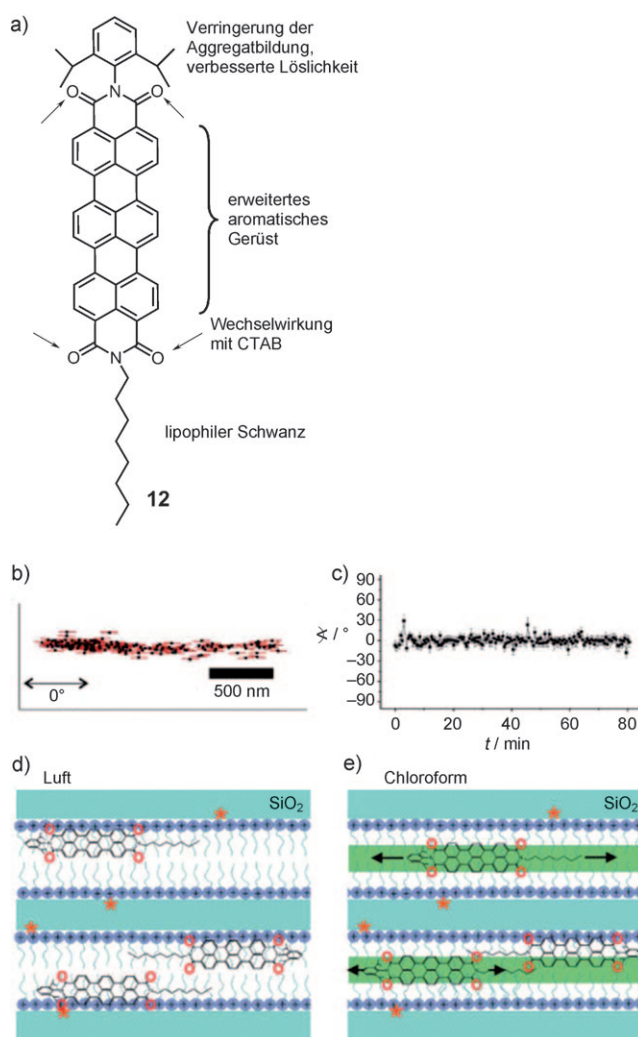


Abbildung 7. a) Chromophordesign des asymmetrischen TDI-Derivats **12**. b) Trajektorie von **12** und des richtunggebenden Agens CTAB. c) berechnete Winkelzeit-Trajektorie von **12**. d) In mesoporösem Material in Luftatmosphäre immobilisierte TDI-Moleküle; *: aktive Silanolgruppen. e) TDI-Moleküle in mesoporösem Material in Gegenwart von Chloroform; die TDI-Moleküle liegen solvatisiert vor (grüne Längsbalken) und diffundieren entlang der Kanäle; ihre Bewegung wird, wie dargestellt, gelegentlich von Adsorptionsvorgängen unterbrochen.

Synthese von hoch strukturierten molekularen Membranen oder molekularen Sieben. Es wurde ferner gezeigt, dass sich die mithilfe der Einzelmolekülmikroskopie erhaltenen Informationen über die Kanäle nun mit den Strukturinformationen der Elektronenmikroskopie in Verbindung bringen lassen. Somit kann die Fluoreszenzmikroskopie unter Verwendung der Rylene Farbstoffe als wertvolles Hilfsmittel für die Materialcharakterisierung angewendet werden.^[98]

3.4. Nanoemitter zur Visualisierung von Polymerisationsprozessen

In Abschnitt 3.3 haben wir gezeigt, dass Rylene Farbstoffe als empfindliche Reporter von Bewegungs- wie auch Polari-

tätsänderungen ihrer direkten Umgebung fungieren können. In der Folge werden wir den molekularen Bereich verlassen und uns der Verwendung von nanoskopischen Ryleneemittern („Nanoemittern“) als empfindlichen Reportern auf makromolekularer Ebene zuwenden. Die kovalente Einführung von Chromophoren in das Innere eines Dendrimers führt zur Bildung makromolekularer Architekturen definierter Größe.^[43] Besonders die Anheftung von rigiden dendritischen Polyphenylenästen an einen zentralen PDI-Farbstoff führt zu substanziell verbesserten Filmbildungseigenschaften, und die Aggregation von PDI kann sogar im Festkörper effizient unterdrückt werden.^[43] Durch Einstellung der räumlichen Ausdehnung der Polyphenylenhülle werden Nanoemitter definierter Größen erhalten. Abbildung 8 zeigt den Übergang eines „molekularen“ PDI-Emitters **13**, der beispielsweise zwei reaktive Styrolgruppen trägt, hin zu makromolekularen Emittern wie dem Dendrimer **14** der dritten Generation, das einen PDI-Farbstoff im Zentrum aufweist. Ein Anstieg der Zahl der Phenylringe führt zu einer schrittweisen Größenzunahme der Nanoemitter von 3.1 nm für die erste, 4.7 nm für die zweite und 6.1 nm für die dritte Dendrimergeneration (Abbildung 8; PDI-Chromophore **15**, **16**, **14**).

Der Diffusionskoeffizient spiegelt die Kapazität eines einzelnen Nanoemitters wider, frei in einer gegebenen Umgebung zu diffundieren. Die einzigartige Möglichkeit, Emitter mit definierten Größen zu synthetisieren, ermöglicht nun die Beobachtung von Änderungen in der direkten Nanoumgebung (z. B. des freien Volumens oder der Viskosität) des Emitters. Beispielsweise sollte ein größeres Makromolekül durch eine Erhöhung der Viskosität deutlich stärker beeinflusst werden als einzelne Chromophore oder kleinere Emitter. Aus diesem Grund können dendronisierte Chromophore als effiziente Reporter der lokalen Viskosität oder Mobilität der direkten Umgebung dienen.

SMS-Untersuchungen wurden während der radikalischen Polymerisation von Polystyrol durchgeführt, indem Änderungen der Diffusionskonstanten der Rylene Farbstoffe aufgenommen wurden.^[44] Um diese Daten zu erhalten, wurde eine Methodenkombination aus Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS) und Weitfeld-Einzelmolekülmikroskopie (WFM) genutzt. Variationen der Diffusionszeiten von molekularen und makromolekularen Emittern wurden basierend auf der zuvor getroffenen, grundlegenden Annahme untersucht, dass die Beweglichkeit der PDI-Reportermoleküle während des Polymerisationsprozesses variiert.

Der Dynamikbereich, der durch beide Methoden abgedeckt werden kann, überlappt und eröffnet die Möglichkeit, den vollständigen Umsatz bei Polymerisationsprozessen durch Fluoreszenzmessungen zu verfolgen. Unter Verwendung der Farbstoffmoleküle **13** und **14a** konnte die Polymerisation von Styrol in Gegenwart und Abwesenheit eines Vernetzers untersucht werden.^[44] In Abwesenheit eines Vernetzers diffundieren **13** und **14a** frei in dem sie umgebenden Medium; wie erwartet diffundiert dabei das voluminösere Molekül **14a** langsamer als die kleineren Moleküle **13** oder **2a** (Abbildung 9).^[44] Die Diffusionsgeschwindigkeiten beider Moleküle nehmen in Abhängigkeit der Umsatzgeschwindigkeit bis zu einem Punkt ab, an dem FCS-Messungen nicht mehr länger verlässlich durchgeführt werden können. Ab

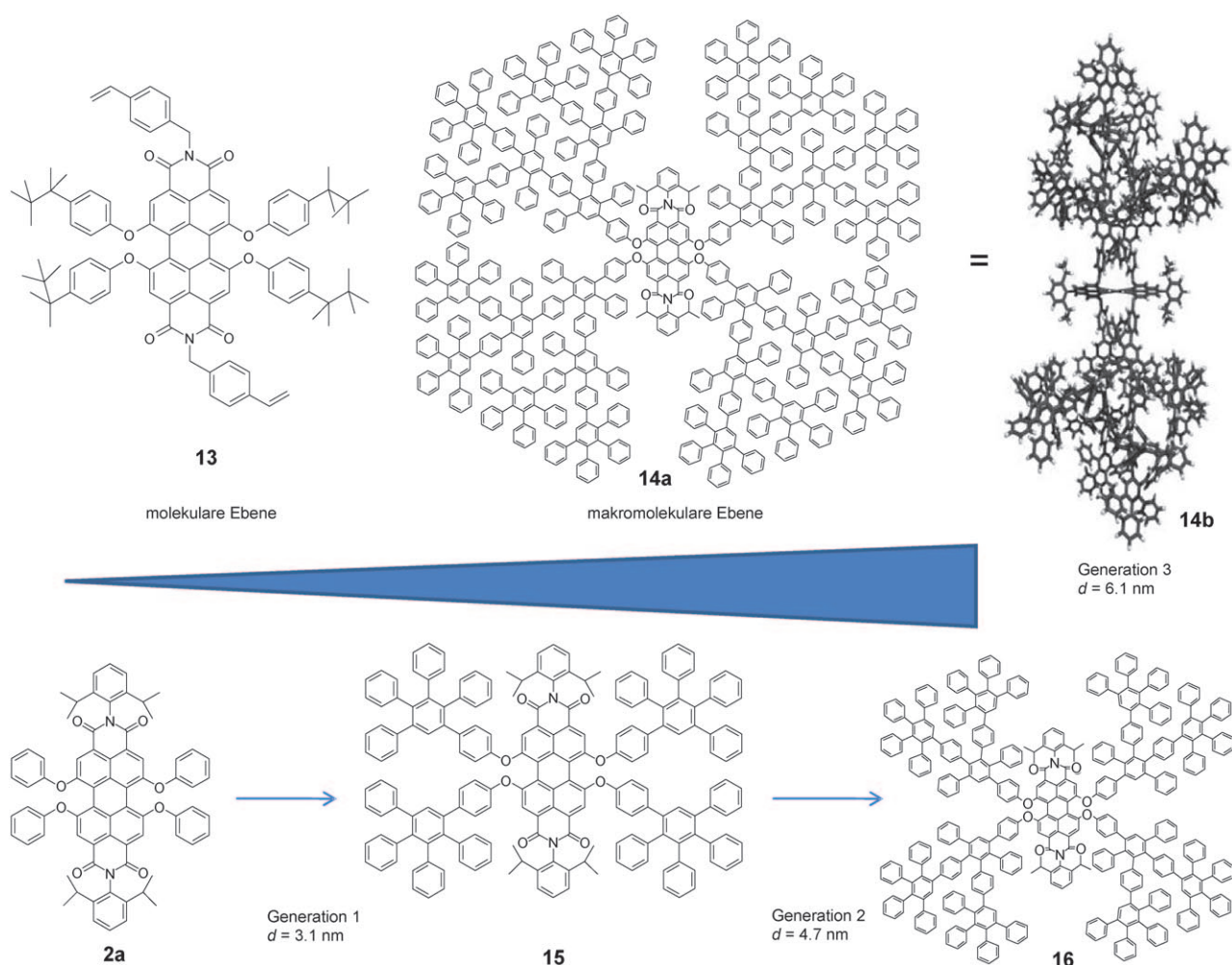


Abbildung 8. Zweidimensionale (2D-)Strukturen der molekularen PDI-Emitter **13** mit zwei reaktiven Styrolgruppen, die durch Polymerisation vernetzt werden können. Die Abbildung zeigt unter anderem den Übergang von Emitter **2a** hin zum nanoskopischen dendritischen Emitter **15** mit vier Polyphenylen-Dendrimerästen der ersten, zweiten (**16**) und dritten Generation (**14a**). **14a** hat die 2D-Struktur eines Dendrimers der dritten Generation mit PDI im Zentrum, **14b** stellt die entsprechende Visualisierung seiner möglichen 3D-Struktur dar.

diesem Zeitpunkt kann das Verhalten der Einzelmoleküle mit WMF verfolgt werden. In Gegenwart eines Vernetzers beschreibt die Bewegung des PDI-Reportermoleküls die Entstehung der Heterogenität, die während der Bildung eines Netzwerks auftritt. Diese Heterogenität kann während der Weitfeldmessungen nun direkt visualisiert werden. Ein Teil der Moleküle ist dabei aufgrund ihrer Nanoumgebung unbeweglich, während die restlichen Moleküle weiterhin ungehindert diffundieren können.

Diese Beobachtungen können leicht auf andere Polymerisationssysteme wie sich durchdringende Netzwerke oder Nanokomposite übertragen werden. Somit können diese Studien künftig ein tieferes, grundlegendes Verständnis der Faktoren ermöglichen, die Heterogenitäten in Polymerisationsprozessen kontrollieren. Weitere potenzielle Anwendungen, z.B. in der STED-Mikroskopie (STED = stimulated emission depletion), sind denkbar, da diese Technik eine hohe Photonenladung des Farbstoffmoleküls benötigt.^[79,99–102] In katalytischen Prozessen^[103,104] könnte sich die geringe Eigenbeweglichkeit mancher Rylenfarbstoffe auf Einzelmolekülebene als vielversprechend erweisen, um die Dynamik

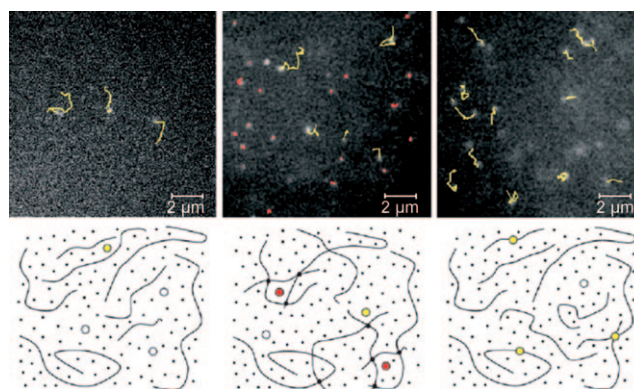


Abbildung 9. Oben: WFM-Bilder bei circa 0.64 U (U bezeichnet den Umsatz) samt der Spuren für bis zu 20 Schritte der drei Experimenttypen, die zuvor im Text diskutiert wurden. Links: **14a** ohne Vernetzer. Mitte: Farbstoff **14a** mit 1% Vernetzer. Rechts: **13** ohne Vernetzer. Unten: Schematische Darstellung der Farbstoffe in ihren Umgebungen. Die Farbstoffe sind durch Kreise dargestellt, deren Farbe die jeweilige Geschwindigkeit symbolisiert (weiß: für eine Detektion mit WFM zu schnell, gelb: langsam genug für die Detektion mit WFM, rot: sehr langsam oder unbeweglich).

(individuelle Turnover-Ereignisse) des eigentlichen katalytischen Prozesses zu verfolgen.^[105]

In diesem Abschnitt haben wir gezeigt, inwiefern sich chemische Modifikationen des Rylenchromophorkerns sowie Dynamik- oder Polaritätsänderungen im direkten Umfeld auf die optischen Eigenschaften dieser Reportermoleküle auswirken. In Abschnitt 4 wollen wir nun ein Konzept vorstellen, das die Anordnung einer bestimmten Zahl an Rylenchromophoren in einem begrenzten molekularen Volumen thematisiert. Derartige multichromophore Nanoemitter bieten einzigartige Möglichkeiten, um die Einflüsse von unterschiedlichen Chromophorabständen und -orientierungen sowie spektrale Überlappungen in Energietransferprozessen von Einzelmolekülen zu untersuchen.

4. Multichromophor-Nanoemitter und Energiekaskaden

Betrachtet man Lichtsammelkomplexe^[106–108] oder multichromophore fluoreszierende Proteine wie das rot fluoreszierende Protein DsRed von *Discosoma* sp.,^[109] wird deutlich, wie weit die Natur das Prinzip perfektioniert hat, Farbstoffe in einem begrenzten Volumen anzuordnen. Die Anordnung verschiedener Farbstoffe in direkter Nähe führt zu Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Farbstoffmolekülen und beeinflusst so ihr photophysikalisches Verhalten. In multichromophoren Anordnungen stellen insbesondere Förster-Energietransferprozesse (zwischen identischen oder unterschiedlichen Farbstoffen) wie der Singulett-Singulett-Energietransfer sowie die Singulett-Triplett- und die Singulett-Singulett-Annihilation neue, kompetitive Desaktivierungswege des angeregten Zustands dar.^[58] Wir haben bereits ausgeführt, dass vereinzelte Rylenfarbstoffe sich sehr gut für Studien am Einzelmolekül eignen. Eine Erhöhung der Zahl dieser hellen Emitter in einem Molekülgerüst führt zu zusätzlichen Eigenschaften, wie deutlich erhöhten Absorptionsquerschnitten und hohen Emissionsintensitäten sowie längeren Beobachtungs- und Lebenszeiten des angeregten Zustands. In der Folge werden wir unterschiedliche Designkonzepte für die orts aufgelöste Einführung einer Vielzahl von Farbstoffen in ein Molekülgerüst beschreiben. In diesem Zusammenhang sollen der Einfluss von Größe und Gestalt des Gerüsts, die Orientierung, der Abstand und die Natur der Farbstoffe auf die unterschiedlichen Energietransferprozesse hervorgehoben werden. Zuerst werden dendritische Multichromophore betrachtet, die nur eine Art von Rylenfarbstoffen an definierten Orten im Gerüst von Polyphenylen-Dendrimern aufweisen. Die so erhaltenen molekularen Emitter eignen sich ausgezeichnet, um das Energie-Hopping oder die Singulett-Annihilation zu studieren, und sie gehören zu einer neuen Klasse von „single photon on demand“-Emittlern, d. h. Emittlern, die jederzeit in der Lage sind, Photonen zu emittieren.^[28,110–114] Anschließend werden wir molekulare und makromolekulare Diaden und Triaden vorstellen, die verschiedenartige Rylenchromophore aufweisen. Derartige Multichromophore ermöglichen tiefgehende Untersuchungen von Energietransferprozessen des angeregten Zustands am einzelnen Molekül und ermöglichen so ein

besseres Verständnis von natürlichen Lichtsammelkomplexen.

4.1. Dendritische Nanoemitter

Dendrimere sind monodisperse, wiederholt und regelmäßig verzweigte Kaskadenmoleküle, die ein hohes Maß an räumlicher Ordnung aufweisen.^[115] Polyphenylen-Dendrimere bestehen aus Phenylringen als Grundbausteinen und können somit als starre, monodisperse und formstabile Makromoleküle betrachtet werden.^[116,117] Sie eröffnen einen Zugang zu komplexen makromolekularen Strukturen, bei denen Farbstoffe, wie in Abbildung 8 (Abschnitt 3.4) beschrieben, in das Zentrum, die dendritischen Verzweigungseinheiten sowie auf der Oberfläche eingeführt werden können.^[118] Neben dem topologisch definierten Ort der Funktionseinheiten und der hohen Formstabilität ist das Fehlen von funktionellen Gruppen im Dendrimergerüst ein weiterer Vorteil für die Verwendung von Polyphenylen-Dendrimern als Nanoträgern. Weiterhin sind Polyphenylen-Dendrimere chemisch und thermisch hoch stabil, was ebenfalls für vielfältige Anwendungen vorteilhaft ist. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, das Substitutionsmuster von Rylenfarbstoffen sowie die Anknüpfungsstelle im Dendrimergerüst zu verändern, wodurch sich Chromophorabstände und -orientierungen in einem definierten, nanometergroßen Volumen präzise einstellen lassen. Zusätzlich verhalten sich Polyphenylen-Dendrimere wegen ihrer gegeneinander verdrehten Phenylringe im sichtbaren Teil des Spektrums optisch inert: Sie absorbieren Licht bis 350 nm abhängig von der verwendeten Dendrimergeneration und emittieren ausschließlich unterhalb von 450 nm.^[119] Aus diesem Grund sind sie ideale Gerüstbildner, die nicht mit Energietransferprozessen interferieren, sofern die gewählten Farbstoffe im sichtbaren Bereich des Spektrums absorbieren und emittieren.^[118,120]

Polyphenylen-Dendrimere mit einem Biphenylkern (**19**)^[121–123] oder einem Tetraphenylmethankern (**17**, **18**)^[28,124–129] konnten mit einer unterschiedlichen Zahl von PMI-Chromophoren an bestimmten Orten in der Peripherie synthetisiert werden (Abbildung 10). Der Tetraphenylmethankern bewirkt eine höhere strukturelle Festigkeit sowie die Bildung einer kugelförmigen Architektur, während der Biphenylkern in einem größeren Maß zu einer strukturellen Beweglichkeit entlang der Biphenylachse beiträgt sowie zu einer Bildung flacher Architekturen führt.^[121,130] Symmetrische Polyphenylen-Dendrimere der ersten, zweiten und dritten Generation basierend auf dem Tetraphenylmethankern können 4, 8 und 16 PMI-Farbstoffmoleküle auf der Oberfläche tragen, während die Funktionalisierung eines Dendrimers mit einem Biphenylkern eine höhere Farbstoffzahl ermöglicht (8, 16 und 32 PMI-Farbstoffe von der ersten bis zur dritten Generation).^[121]

Zusätzlich zum Dendrimerkern kann die Dendrimergeneration systematisch variiert werden.^[130] Das in drei Syntheseschritten erfolgende, konvergente Wachstum von zwei verschiedenen dendritischen Ästen führt zu unsymmetrisch substituierten Dendrimern, wenn ein unsymmetrischer Tetraphenylmethankern wie **17** verwendet wird. Um Dendri-

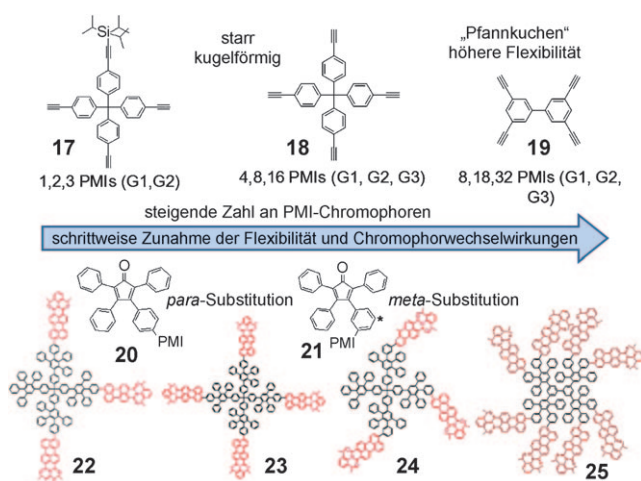


Abbildung 10. Überblick über die Designkonzepte von dendritischen Multichromophoren mit unterschiedlicher Zahl an PMI-Farbstoffmolekülen, vordefinierten Geometrien, verschiedenen Orientierungen der Farbstoffe und abweichenden Farbstoffabständen. Die Bezeichnung „1, 2, 3 PMIs“ bezieht sich auf Dendrimere mit einem einzelnen, zwei oder drei PMI-Farbstoffen auf der Oberfläche. G1–G3 beschreiben die Dendrimer-Generation und * weist auf das Substitutionsmuster hin (*meta*-Substitution für 21).

mere konvergent herzustellen, werden zuerst die Dendrimerräste synthetisiert und anschließend an den Dendrimerkern gefügt. Auf diesem Weg wurden Polyphenylen-Dendrimere der ersten Generation mit zunehmender Zahl von einem bis vier PMI-Farbstoffen erhalten. So konnten beispielsweise exakt drei PMI-Farbstoffmoleküle (**22** und **24**) eingeführt werden, die sich ausschließlich auf der Dendrimeroberfläche befinden und einen Durchmesser von ca. 3 nm aufweisen.^[130] Im Falle eines Dendrimers der zweiten Generation wurden einzelne Dendrimere synthetisiert, die exakt eines bis vier Farbstoffmoleküle auf ihrer Oberfläche aufweisen. Berechnungen der energieminierten Struktur von **26** zeigen, dass diese Nanoobjekte eine definierte Größe von ca. 5 nm haben (Abbildung 11). Zusätzlich zur Zahl der Farbstoffmoleküle konnte auch deren Orientierung verändert werden, indem die Farbstoffmoleküle entweder über die *meta*-Position (**24**, **25**) oder über die *para*-Positionen (**22**, **23**) mit den äußeren Phenylringen des Dendrimergerüsts verknüpft wurden.

4.2. Photophysikalische Eigenschaften dendritischer Multichromophore

Werden zwei emittierende Farbstoffe in direkte räumliche Nähe gebracht (2–10 nm), findet eine schwache Wechselwirkung ihrer Übergangsdipolmomente statt, und das Förster-Modell kann angewendet werden.^[132] Die physikalische Basis des so genannten Förster-Resonanzenergietransfers (FRET) beruht auf dem Transfer von Anregungsenergie zweier schwach gekoppelter Übergangsdipolmomente eines Donor- und eines Akzeptorfarbstoffs. Dieser Prozess wurde bislang am besten für einzelne Donor- und Akzeptormoleküle beschrieben. Die ursprüngliche Theorie hingegen wurde für Systeme entwickelt, in denen Akzeptor- und Donormoleküle chemisch identisch waren. Dieses Phänomen ist inzwischen

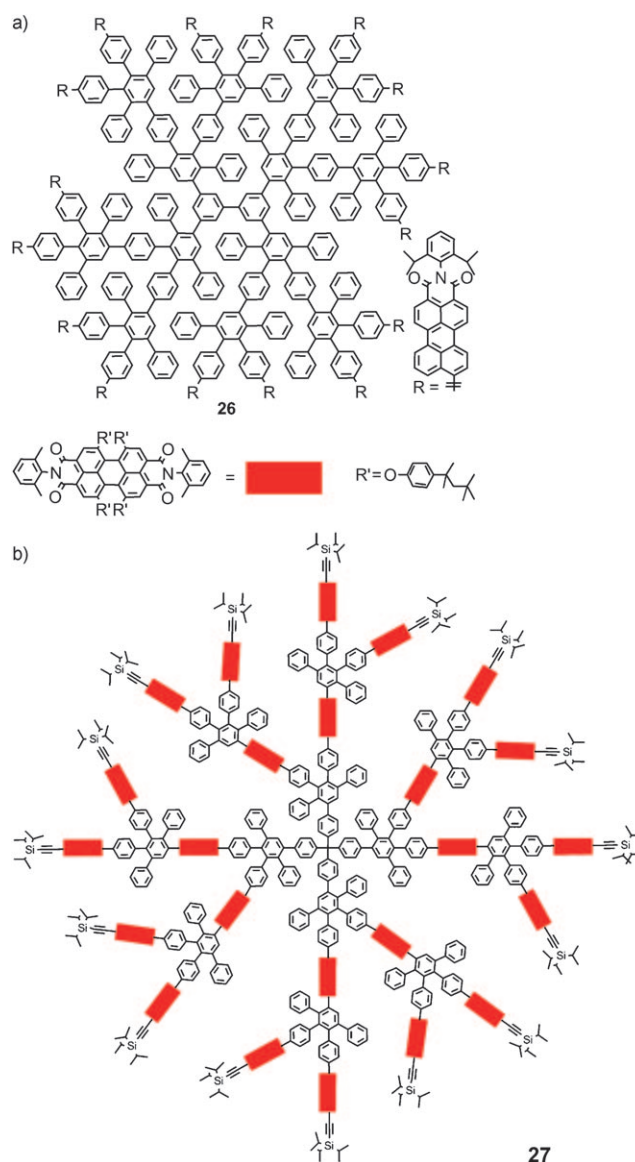


Abbildung 11. a) Dendritische Multichromophore **26** der zweiten Generation mit einem Biphenylkern im Zentrum und sechzehn PMI-Farbstoffen in der Peripherie. Die terminalen, geschützten Ethinylgruppen ermöglichen ein weiteres Wachstum des Dendrimers. Basierend auf diesem Designkonzept gelang die Herstellung perfekt definierter Multichromophoranordnungen. Höhere Dendrimergenerationen, wie **26**, wurden mit 16 PMI-Farbstoffen (zweite Dendrimergeneration) sowie 32 Farbstoffen (dritte Dendrimergeneration) erzielt. b) In einem weiteren Ansatz wurde ein asymmetrischer PDI-Farbstoff als Verzweigungsreagens eingesetzt, um Dendrimere **27** der zweiten Generation mit größeren Moleküldurchmessern (bis zu 12 nm) und bis zu 24 Emittern im Dendrimergerüst zu erhalten.^[131] Unter Verwendung des in Abschnitt 4.1 genannten Synthesekonzepts wurden stark fluoreszierende Emitter mit einer außerordentlich hohen Farbstoffzahl hergestellt, die sich in einem definierten Volumen befinden und deren Farbstoffdichte der natürlicher Lichtsammelkomplexe gleicht. In Abschnitt 4.2 werden die photophysikalischen Eigenschaften multichromophorer Dendrimere diskutiert.^[131]

allgemein als Energie-Hopping oder Homo-FRET bekannt.^[126,133]

Verwendet man das Förster-Modell, kann die direkte Anregung eines der angeregten PMI-Chromophore in einem

dendritischen Multichromophor zum Energie-Hopping auf ein benachbartes Farbstoffmolekül führen. Die Distanz R_0 , bei der eine 50-prozentige Änderung dieses Prozesses stattfindet, bezeichnet man allgemein als Förster-Radius, der unter Verwendung von Gleichung (1) berechnet werden

$$R_0 = 0.211(\kappa^2 n^{-4} \Phi_D J(\lambda))^{1/6} \quad (1)$$

kann. In dieser Gleichung bezeichnet κ^2 einen Orientierungsfaktor, der die Orientierung des Übergangsdipolmoments widerspiegelt, n entspricht dem Brechungsindex des Mediums, Φ_D der Quantenausbeute des Donors, und $J(\lambda)$ beschreibt den spektralen Überlapp zwischen dem Emissionsspektrum des Donors und dem Absorptionsspektrum des Akzeptors. Im Fall von nichtparallel orientierten Farbstoffen kann das Ausmaß des Energie-Hoppings experimentell durch zeitaufgelöste Fluoreszenz-Depolarisationsexperimente bestimmt werden. So konnten Depolarisationsmessungen an einer Serie von vier Polyphenylen-Dendrimern der ersten Generation mit einem Tetraphenylmethankern und steigender Zahl von einem bis vier PMI-Farbstoffen (z.B. **24** in Abbildung 12 mit drei PMI-Chromophoren), die über die *meta*-Position verknüpft wurden, in Lösung durchgeführt werden.^[134] Außer der Rotations-Korrelationszeit der Chromophore wurde auch eine Energie-Hopping-Komponente gefunden, die mit der steigenden Farbstoffzahl in Korrelation gebracht wurde.

Wenn ein Multichromophor unter hohem Photonenfluss optisch angeregt wird, können zwei angeregte Zustände (S_1) in einem einzelnen Molekül zur selben Zeit gebildet werden. Tritt der $S_1 \rightarrow S_0$ -Übergang eines Chromophors mit dem Übergang eines weiteren Chromophors vom S_1 -Zustand in einen höheren angeregten Singulettzustand in Resonanz, z.B. mit einem $S_1 \rightarrow S_n$ -Übergang, kann ein Energietransfer zwischen den angeregten Singulettzuständen stattfinden. Dieser Prozess führt zu nur einem angeregten Zustand im Multichromophor-System und wird oft auch als Singulett-Singulett-Annihilation bezeichnet.

Das Vorhandensein dieses Prozesses wurde bereits am Ensemble mithilfe von Femtosekunden-Fluoreszenzversatz (femtosecond fluorescence upconversion) und zeitaufgelösten polychromatischen Femtosekunden-Übergangsabsorptionsmessungen (time-resolved polychromatic femtosecond transient absorption measurements) bewiesen.^[135] Am Einzelmolekül sorgt die Singulett-Singulett-Annihilation dafür, dass dendritische Multichromophore als exzellente Einphotonenquellen dienen. Freilich führt die ansteigende Farbstoffzahl im Nanometerbereich zu höheren Absorptionsquerschnitten. Wird gepulstes Laserlicht verwendet (höhere Anregungsstärke), können – wie in Lösung – mehrere Anregungen pro Puls erzeugt werden. Im Falle einer effizienten Singulett-Singulett-Annihilation, die von den spektralen Charakteristika der Chromophore und dem Abstand zwischen diesen abhängt, stellt dieser Prozess einen Rückkopplungsmechanismus dar, der dafür sorgt, dass nur ein Photon pro Puls emittiert wird, obwohl zahlreiche Anregungen stattgefunden haben. Die Verwendung und Qualität von mehreren der in Abschnitt 4.1 diskutierten Strukturen als einzelne Photonenquelle wurde bereits untersucht und

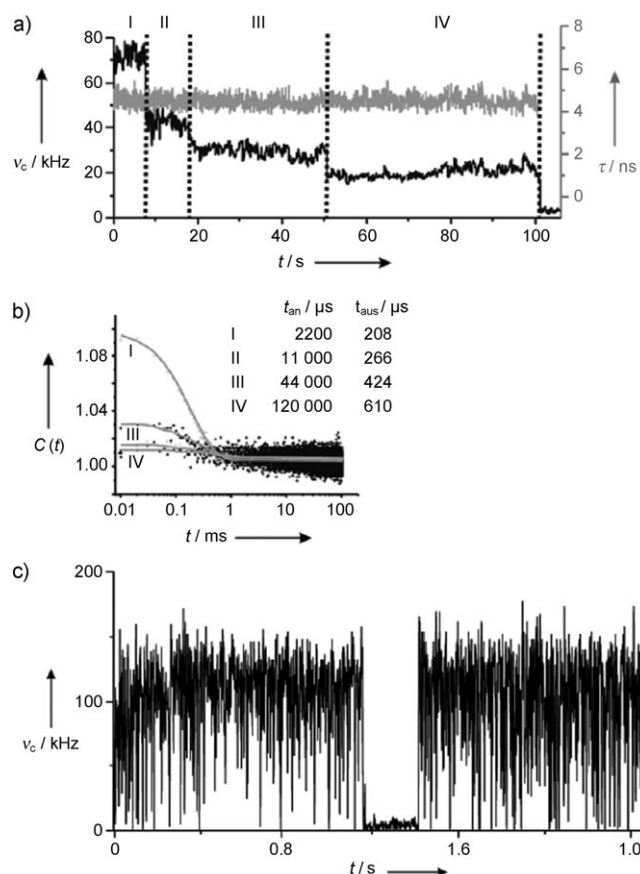


Abbildung 12. a) Fluoreszenzintensitäts-Trajektorie (Zählrate ν_c [kHz] gegen die Zeit t [s]) und Fluoreszenzlebenszeits-Trajektorie (Fluoreszenzlebenszeit τ [ns] gegen Zeit t [s]) eines einzelnen Moleküls des Farbstoffs **23**. b) Die Intensitätskorrelation der zweiten Ordnung der unterschiedlichen Intensitätszustände zeigt deutlich einige aus Tripletzuständen resultierende Aus-Zeiten für unterschiedliche Intensitätszustände. c) Erweiterte Ansicht des ersten Intensitätszustands eines einzelnen Moleküls **23**, das aus Tripletzuständen resultierende kurze Aus-Zeiten und eine lange Aus-Zeit aufweist (bezogen auf die Bildung eines Anions).

quantifiziert.^[28,126,127,129,136–138] Weitere Ansätze, um Einphotonenquellen mithilfe dendronisierter Rylene zu erzeugen, umfassen die so genannte schockwelleninduzierte Partikelbildung von Verbindung **16**, in der die Aggregation des zentralen Farbstoffs unterdrückt ist und dadurch eng angeordnete Partikel mit großen Querschnitten gebildet werden.^[45,46]

Die wiederholte Anregung (wie im Fall von Einzelmolekülexperimenten) von Chromophoren kann ein ISC zum Tripletzustand bewirken. Durch die relativ lange Lebenszeit des Tripletzustands kann ein zweiter Chromophor im selben Dendrimermolekül angeregt werden, während der erste Chromophor sich noch im Tripletzustand befindet. Als Ergebnis entstehen zwei angeregte Zustände, ein S_1 - und ein T_1 -Zustand. Falls der Tripletzustand nun in höhere angeregte Tripletzustände T_n übertritt, die sich in Resonanz mit den $S_1 \rightarrow S_0$ -Übergängen befinden, kann ein Energietransfer vom angeregten Singulettzustand in den energetisch niedriger liegenden Tripletzustand stattfinden.^[126] Dieser Prozess wird oft auch als Singulett-Triplett-Annihilation bezeichnet. Der-

artige Prozesse lassen sich nicht einfach in Volumenexperimenten nachweisen. Sie manifestieren sich direkt in Einzelmolekül-Fluoreszenztrajektorien als kollektive An/Aus-Schritte (vgl. Abbildung 12a).^[126] Eine sorgfältige Analyse der An/Aus-Sprünge, die verschiedenen Intensitätszuständen in Multichromophorsystemen entsprechen, kann quantitative Informationen über das ISC und sogar über das ISC von höheren angeregten Zuständen liefern (vgl. Abbildung 12b).^[129]

Außer den oben genannten An/Aus-Blinking-Prozessen gibt es noch einen zusätzlichen, selteneren Vorgang, der zu längeren Unterbrechungen der Fluoreszenz als der Übergang in den Triplettzustand führt. Lange Aus-Zeiten (in der Größenordnung von Sekunden) werden durch die Bildung eines Radikalanions auf einem der Rylenchromophore hervorgerufen, der anschließend die Fluoreszenz der anderen Chromophore durch einen Energietransfer auslöscht (vgl. Abbildung 12c).

4.3. Lichtsammelsysteme und Energiekaskaden

In Abschnitt 4.1 wurde das Designkonzept zur Einführung von PMI- oder PDI-Chromophoren in das Zentrum, das Gerüst oder in die Peripherie von Polyphenylen-Dendrimern beschrieben. Dieses Konzept wurde auf die Einführung von verschiedenen Rylenfarbstoffen ausgeweitet, z.B. Naphthalin-, PMI- und TDI-Chromophoren, um Lichtsammelkomplexe zu erzielen, die einen gerichteten Transfer der Anregungsenergie ermöglichen.^[124,139] Die Natur hat das Konzept der idealen räumlichen Multichromophoranordnungen zur Perfektion gebracht, wie anhand der Kristallstruktur des Lichtsammelkomplexes 2 (LH2) des Purpurbakteriums *Rhodospseudomonas acidophila* ersichtlich ist.^[140] In biologischen Systemen wird eine Kombination aus Förster-Energietransfer und stark gekoppelten Chromophoranordnungen genutzt, um einen Energietransfer über längere Distanzen zu erzielen.^[141,142] Zusätzlich werden die Chromophorsysteme durch das Vorhandensein von anderen Molekülen, z.B. Carotinoiden, vor Photooxidation (Photobleichen) geschützt.^[143–145] Die Einführung von starken oder schwachen Kopplungen sowie das Vorhandensein von „Schutzfunktionen“ in einem Molekül sind mithilfe präparativer organischer Chemie bislang nur schwer zu verwirklichen, sodass wir uns zuerst der Herstellung maßgeschneiderter Energietransferkaskaden gewidmet haben, in denen FRET-Donor- und FRET-Akzeptormoleküle gezielt räumlich angeordnet wurden.

In einem Photosynthesesystem wird Licht normalerweise durch die Antennensysteme gesammelt und an das Reaktionszentrum weitergeleitet. Aus diesem Grund wurden Farbstoffe, die Licht kurzer Wellenlängen absorbieren, außen platziert, sodass sie ihre Energie an innen liegende Akzeptorchromophore weiterleiten, die Licht längerer Wellenlängen absorbieren. So konnten wir unterschiedliche Rylenfarbstoffe in ähnlicher Anordnung in das Gerüst von rigiden Polyphenylen-Dendrimern einführen. PMI-, PDI- und TDI-Farbstoffe eignen sich, wie bereits dargestellt, aufgrund ihrer relativ großen Absorptionsquerschnitte und hohen Quan-

tenausbeuten hervorragend für die Untersuchung von gerichteten Energietransferprozessen. Die Formstabilität und Rigidität des Dendrimergerüsts sind ferner von essenzieller Bedeutung, um präzise Chromophorabstände einzustellen, sodass eine quantitative Interpretation der erhaltenen Daten ermöglicht wird. Viele andere Dendrimere, die multiple Farbstoffmoleküle tragen, weisen zwar einen gerichteten Energietransfer auf, allerdings wird wegen des Fehlens struktureller Integrität eine quantitative Interpretation der Ergebnisse häufig erschwert.^[146,147]

Bichromophore, z.B. Donor-Akzeptor(D/A)-Diaden, bestehen aus einem PDI-Donormolekül und einem TDI-Akzeptormolekül, die mithilfe eines rigiden Oligophenyl-Spacers unterschiedlicher Länge miteinander verbunden sind.^[148,149] Die Bezeichnung „Diade“ beschreibt einen Bi- oder Multichromophor, der zwei verschiedene Arten von Chromophoren aufweist. Diese Bichromophore wurden nun als Modellsysteme eingesetzt, die eine bessere Interpretation der komplexeren dendritischen Multichromophore ermöglichen (vgl. Abbildung 13). Gleichzeitig konnte der Einfluss der räumlichen Orientierung zwischen den Chromophoren auf den Energietransferprozess nachgewiesen werden.^[148,149]

Die Geometrie dieser linearen Makromoleküle ist hingegen nicht ideal für einen effizienten Energietransfer. Insbesondere ist es schwierig, einen Energiegradienten für eine gerichtete Weiterleitung von Lichtenergie über längere Distanzen zu erzielen.^[150] Trotz allem konnte bereits ein „lineares“ System erhalten werden, das ein rigides DNA-Gerüst und fünf verschiedene Farbstoffe aufweist und einen Energietransfer über 13.6 nm ermöglicht, wobei ein Spektralbereich von über 200 nm abgedeckt wurde.^[151,152] Inspiriert durch die geometrische Präzision der Anordnung in natürlichen Lichtsammelsystemen konnten dendritische Multichromophore realisiert werden, die eine kugelförmige Architektur mit einer großen Oberfläche aufweisen und mit einer Vielzahl von Chromophoren ausgestattet wurden.^[153] Kugelförmige dendritische Lichtsammelsysteme wurden anhand zweier unterschiedlicher Strategien entworfen: Der erste Ansatz umfasste die Lokalisation von drei PMI-Farbstoffen in der Peripherie eines Polyphenylen-Dendrimers der ersten Generation, die kurzwelliges Licht absorbieren, sowie eines TDI-Farbstoffs, der langwelliges Licht aufnimmt (Abbildung 13a). In einem zweiten Ansatz wurde der TDI-Chromophor in das Zentrum eines Dendrimers eingefügt und von vier oder acht terminalen PMI-Farbstoffen umgeben (Abbildung 13b,c). **28–30** stellen drei molekulare PMI-TDI-Diaden dar, die beiden Designkonzepten entsprechen. Die Diade **28** mit drei PMIs und einem TDI-Chromophor wurde über ein konvergentes Dendrimerwachstum erhalten, das eine unsymmetrische Verteilung der funktionellen Gruppen auf der Dendrimeroberfläche ermöglicht. Solch eine definierte Verteilung der Substituenten beruht auf einem Desymmetrisierungsschritt als präparativem Schlüsselschritt, indem ein nichtsymmetrischer Tetraphenylmethankern wie **17** verwendet wird. Diese Diade verhält sich als synthetische Antenne und Lichtsammeleinheit, da ein gerichteter Energietransfer von den PMI-Chromophoren zum TDI-Chromophor hin stattfindet.^[43,48,124,125,130,134,154,155]

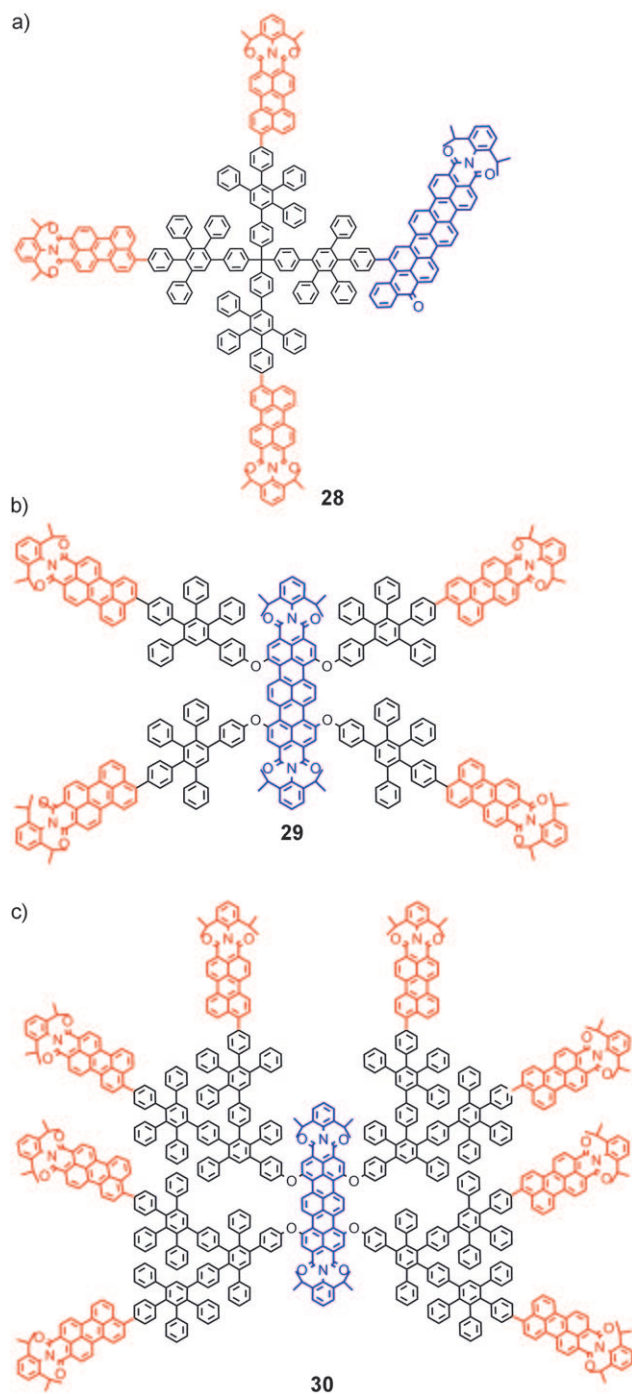


Abbildung 13. a) Dendritische Diaden **28** mit drei PMI-Farbstoffen und einem TDI-Farbstoff in der Peripherie; b) erste und c) zweite Generation der Polyphenylen-Dendrimere **29** und **30** mit einem TDI-Chromophor im Zentrum und vier oder acht PMI-Chromophoren in der Peripherie.

Im Unterschied zu den dendritischen Diaden **28** zeichnen sich die Diaden **29** und **30** mit einem TDI-Chromophor im Zentrum und mehreren PMI-Chromophoren in der Peripherie durch eine hohe Photostabilität aus und eignen sich somit besonders für Studien an Einzelmolekül. Für diese Multichromophorsysteme konnte ein effizienter, gerichteter Energietransfer entlang eines Energiegradienten von der Peripherie in Richtung Dendrimierzentrum beobachtet

werden. Interessanterweise wurde für **29** mithilfe zweier Farboxperimente (getrennte Donoren und Akzeptoren) nachgewiesen, dass das Ausbleichen der PMI-Chromophore in Konkurrenz mit dem nahezu quantitativen Energietransfer zwischen den PMI- und TDI-Farbstoffen steht. Dies lässt darauf schließen, dass das Ausbleichen von Farbstoffen über den Singulettzustand eines Moleküls verläuft.^[156] In den Fluoreszenztrajektorien einzelner Moleküle von **29** und **30** findet man eine simultane Emission in den Donor- und Akzeptorkanälen in den späteren Abschnitten der Trajektorien. Eine detaillierte Studie an einem defokussierten Weitfeldmikroskop zeigte, dass ungünstig orientierte Donormoleküle (in Bezug auf den Akzeptorfarbstoff) am ehesten für die beobachtete, simultane Emission verantwortlich sind und nicht, wie oft angenommen, eine Blockade der Excitonen.^[9,157]

Eine der wohl aufwändigsten Architekturen, die für einen vektoriellen Energietransfer entworfen wurden, ist das kugelförmige Polyphenylen-Dendrimer der dritten Generation **31** (Abbildung 14), das einen TDI-Farbstoff als Kern, PMI-Chromophore im Gerüst und NMI-Chromophore in der Peripherie trägt. Dieser Nanoemitter zeichnet sich durch ein hohes Maß an Komplexität aus, da alle räumlichen Anordnungen, die Abstände zwischen den Chromophoren und ihre Absorptions- und Emissionsspektren sorgfältig aufeinander abgestimmt wurden.^[158] Auf diesem Weg konnte eine effiziente dendritische Triade geschaffen werden, die Licht über das gesamte sichtbare Spektrum absorbiert und einen schrittweisen Energietransfer über große Distanzen von der Peripherie über das Dendrimergerüst in Richtung Dendrimierzentrum ermöglicht.

Derartige Multichromophore weisen eine ähnliche strukturelle Komplexität auf, wie man sie bei den natürlichen Lichtsammelkomplexen findet.^[51,158] Eine Studie an Einzelmolekülen zeigte weiterhin, dass ein Wettbewerb zwischen dem kaskadenartig verlaufenden Energietransfer über die NMI-PMI-TDI-Chromophore sowie ein gerichteter Transfer zwischen den NMI-TDI-Chromophoren stattfindet, der wahrscheinlich auf den spektralen Überlapp des Emissionsspektrums von NMI und der $S_0 \rightarrow S_2$ -Absorptionsbande des TDI zurückzuführen ist.^[51]

In natürlichen Anordnungen ist das Antennensystem zumeist an ein Redoxzentrum gekuppelt, in dem der Elektronentransfer stattfindet. Somit sollte die Verknüpfung eines Antennen- sowie eines Redoxzentrums ein vielversprechendes Designkonzept sein, das folgende Vorteile bietet: 1) Der Absorptionsquerschnitt ist vergrößert, wodurch sich, anders als bei einer direkten Anregung des Reaktionszentrums, die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass ein Photon durch die Antenne eingefangen wird. Dies sorgt dafür, dass die Reaktionszentren viel schneller getaktet sind. 2) Die Antenne weist ein breiteres Absorptionsspektrum als das Reaktionszentrum auf, sodass Photonen mit unterschiedlichen Energien Elektronentransferreaktionen induzieren können. Somit war der nächste logische Schritt der, ein artifizielles Reaktionszentrum zu entwerfen und mit dem Antennensystem zu verknüpfen, sodass ein Elektronentransfer stattfinden kann. In der Regel verlaufen die Elektronentransferprozesse schnell, in der Größenordnung von Pikosekunden, sodass die Fluoreszenz

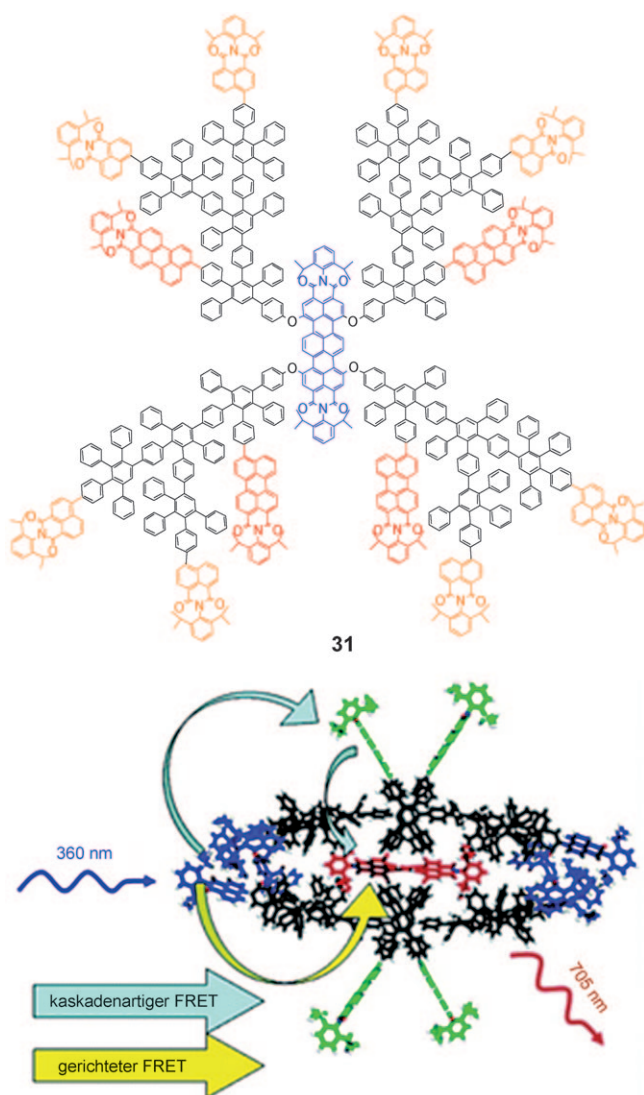


Abbildung 14. Links: Chemische Struktur der Triade **31**, die acht NMI-Chromophore in der äußeren Hülle, vier PMI-Chromophore im Gerüst und einen TDI-Chromophor im Zentrum aufweist. Rechts: In der dreidimensionalen Struktur von **31** illustrieren die Pfeile den Energietransferprozess in Richtung des TDI-Zentrums nach Anregung der NMI-Chromophore.

reszenz bei diesem Vorgang letztlich gelöscht wird. Ultraschnelle Anregungs-Abfrage(Pump-probe)-Messungen werden oft verwendet, um Elektronenkinetiken zu verfolgen oder um die Kinetiken von Elektronentransferreaktionen in Volumenmessungen abzuleiten. Am einzelnen Molekül sind Elektronentransferprozesse viel schwieriger zu analysieren, da hierbei die Fluoreszenz ausgelöscht wird.

5. Redoxaktive Chromophore und Multichromophoranordnungen

5.1. Elektronentransfer in Rylen-Systemen

Für einen Elektronentransfer (ET) wird ein Elektronendonator und Elektronenakzeptor benötigt. Der ET ist dadurch

charakterisiert, dass seine Effizienz exponentiell mit steigenden Donor- und Akzeptorabständen abnimmt. Ein sehr effizienter FRET führt zum Auftreten von Fluoreszenz, die hauptsächlich vom Akzeptorchromophor emittiert wird, während ein hoch effizienter Elektronentransfer in der Regel eine starke Auslöschung der Fluoreszenz des emittierenden Chromophors bewirkt. In Volumenexperimenten wurden Systeme auf Basis von Rylenchromophoren beschrieben, in denen der Elektronentransfer mithilfe schneller spektroskopischer Techniken untersucht wurde.^[159,160] Im Unterschied zu FRET-Untersuchungen am Einzelmolekül sind Studien, die sich mit dem photoinduzierten Elektronentransfer am einzelnen Molekül beschäftigen (dieser Elektronentransfer findet statt, wenn sich der Donor aufgrund der Absorption eines Photons im angeregten Zustand befindet), wegen der in Abschnitt 4.3 angesprochenen, starken Fluoreszenzlöschung sehr selten.

Eine der wenigen literaturbekannten Arbeiten zu diesem Thema beruhte auf PDI, das durch eine selbstorganisierte Monoschicht (SAM) von der Indiumzinnoxid(ITO)-Elektrode abgetrennt vorliegt (SAM; Abbildung 15a). Die SAM verhindert einen direkten Kontakt zwischen PDI und der Elektrodenoberfläche, um den Elektronenprozess zwischen photoangeregtem PDI und der Elektrode zu verlangsamen, sodass eine Emission immer noch beobachtet werden kann. Wie in Abschnitt 3 dargelegt, zeigen einzelne PDI-Chromophore in der Regel nur sehr wenige Blinking-Vorgänge, was in Abbildung 15b für PDI auf Quarz exemplarisch dargestellt ist. Werden PDI-Chromophore mit einer ITO-Elektrode in engen Kontakt gebracht, steigt die Zahl der Blinking-Vorgänge drastisch an, wie in Abbildung 15c am Beispiel von PDI, das sich zufällig angeordnet in einer SAM befindet, gezeigt.^[161] Das Auftreten von längeren (mehr als 20 ms) Auszeiten steht in eindeutigen Zusammenhang mit dem Abstand der ITO-Elektrode, was darauf schließen lässt, dass sich Blinking-Vorgänge aus einem Elektronentransfer in Richtung der ITO-Elektrode ergeben. Weitere Studien auf Grundlage dieses Konzeptes könnten zu einem tieferen Verständnis des Einflusses der Länge und Art (konjugiert gegenüber nicht-konjugiert) der Linker-Gruppe auf Elektronentransfargeschwindigkeiten beitragen. Derartige Fragestellungen sind hoch relevant für molekular orientierte Elektronentransferexperimentatoren sowie Theoretiker.

Ein spezieller Fall des ET ergibt sich, wenn lokal angeregte Zustände (LES) und der ladungsgetrennte Zustand (CSS) jeweils eine ähnliche Energie aufweisen. Für den Fall, dass die strahlungslose Inaktivierung des CSS zum Grundzustand (GS) ineffizient ist, wird nach der Anregung der LES zumeist über einen vorwärts gerichteten ET zum CSS inaktiviert (Abbildung 16). Der CSS klingt somit über den LES mittels „rückwärts gerichteten“ ET ab. Als Resultat wird die emittierte Fluoreszenz verzögert, es kann aber in der Regel eine hohe Quantenausbeute beibehalten werden.^[162–164]

Mit dem Ziel, den photoinduzierten Elektronentransfer über Fluoreszenz genauer zu untersuchen, wurden dendritische Architekturen auf Basis des Bausteinkonzeptes aus Abschnitt 4 entworfen. Diese ermöglichen es, elektronenabgebende und elektronenaufnehmende Substituenten in das Zentrum sowie in die Peripherie von Polyphenylen-Dendri-

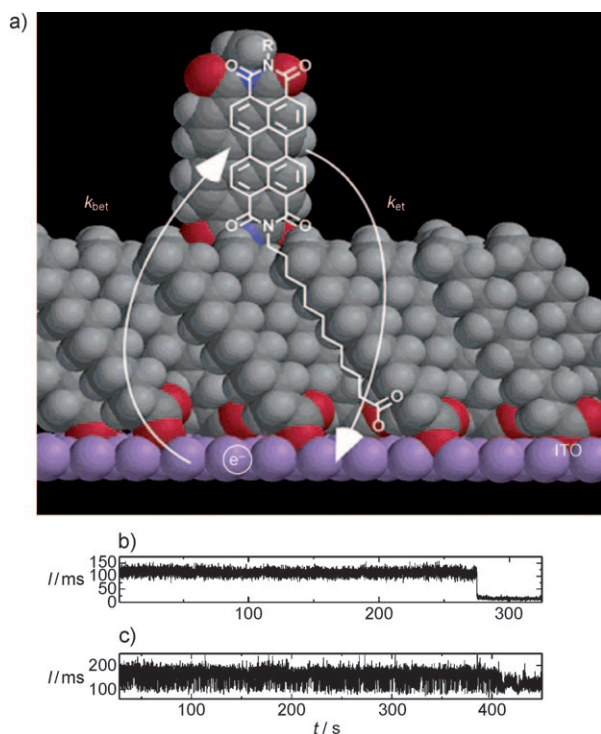


Abbildung 15. a) Zwischen zwei Flächen befindliches Elektronentransfersystem auf Basis eines PDI-Farbstoffes mit einer Alkylkette, die einen Carbonsäureterminus trägt und sich selbständig in Form einer gemischten Monoschicht auf der ITO-Elektrode anordnet (R = 1-Hexylheptyl). b) Fluoreszenztrajektorien (Zählweise in 20 ms; bei $t = 275$ s findet eine irreversible Photooxidation (photobleaching) des PDI-Chromophors statt) für einen PDI-Chromophor auf Quarz und c) in einer SAM auf ITO.

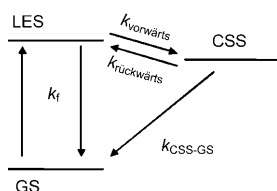


Abbildung 16. Vorwärts und rückwärts gerichteter Elektronentransfer, der eine verzögerte Fluoreszenz zur Folge hat. LES = lokaler angeregter Zustand, GS = Grundzustand, CSS = ladungsgetrennter Zustand, $k_{\text{vorwärts}}$ = Geschwindigkeitskonstante des vorwärts gerichteten Elektronentransfers, $k_{\text{rückwärts}}$ = Geschwindigkeitskonstante des rückwärts gerichteten Elektronentransfers, $k_{\text{CSS-GS}}$ = Geschwindigkeitskonstante des Übergangs vom ladungsgetrennten Zustands zum Grundzustand.

meren einzuführen.^[165] Im Hinblick auf die exponentielle Abstandsabhängigkeit des ET-Prozesses ist die strukturelle Rigidität des Dendrimergerüsts ein Kernelement, um den Abstand zwischen Donor- und Akzeptoreinheiten zu steuern. Auf diesem Weg konnten molekulare Diaden hergestellt werden, die aus Elektronendonoren bestehen, die kovalent über Polyphenylen-Linker an einen PDI-Farbstoff geknüpft wurden, der als Akzeptor wirkt.^[165] Redoxaktive Triphenylamin(TPA)-Gruppen, die häufig als Lochtransporter (HT) und Elektronendonormaterialien verwendet werden,^[166,167]

wurden in die bay-Region von PDI eingefügt (Abbildung 17).^[165] Der Abstand zwischen dem PDI-Elektronenakzeptor und den TPA-Donoren wurde durch ansteigende Dendrimergenerationen im Nanometermaßstab variiert. Dieses Designkonzept profitiert wiederum besonders von der rigiden dendritischen Hülle, da die elektronische Kopplung zwischen PDI- und TPA-Substituenten ansteigt und Selbstauslöschung durch Aggregation des PDI-Chromophors unterdrückt ist.^[43]

Einzelne Moleküle von **32–34** wurden in Polystyrol eingebettet. Die individuellen Donor-Akzeptor-Moleküle zeigen einen reversiblen Elektronentransfer, wie an der verzögerten Fluoreszenz ersichtlich ist, die mit einer hohen emittierten Photonenanzahl verläuft.^[164] Bei Überwachung der Fluoreszenzabklingzeiten konnten Fluktuationen sowohl im vorwärts als auch im rückwärts gerichteten Elektronentransfer über Zeiträume von Millisekunden bis Sekunden beobachtet werden. Hierbei wurde deutlich, dass die beobachteten Fluktuationen einerseits durch Konformationsänderungen in der Dendrimerstruktur und andererseits durch Reorientierung der Polymerketten in der Umgebung der beobachteten einzelnen Moleküle hervorgerufen werden. Konformationsänderungen konnten mit der Libration in Zusammenhang gebracht werden, welche die Änderung des Torsionswinkels von benachbarten Phenylringen in den Dendrimerästen nahe der Donoreinheiten, die die Ladung weiterleiten, umfasst. Diese Torsionsbewegungen haben eine Änderung in der Through-Bond-Donor-Akzeptor-Kopplung zum Ergebnis, die folglich Fluktuationen in den Abklingzeiten im Millisekundenbereich induziert. Die Reorientierungen von Polymerketten resultieren aus den Änderungen in der lokalen Polarität der Donoren und somit den Änderungen der Solvation des CSS.

Bisher wurden überwiegend materialwissenschaftliche Aspekte der Rylenfarbstoffe diskutiert, wobei die Farbstoffe ausschließlich in sehr unpolaren Umgebungen studiert wurden, die sehr gut zum ausgedehnten aromatischen Gerüst dieser Farbstoffklasse passen. Eine wesentliche Frage, die bislang allerdings noch nicht behandelt wurde, betrifft die Verwendung von Rylenfarbstoffen in wässriger Umgebung und hierbei besonders die Frage, ob ihre herausragenden Eigenschaften zur Klärung biologischer Fragestellungen genutzt werden können.

6. Rylenfarbstoffe für Anwendungen in biologischen Systemen

6.1. Wasserlöslichkeit

Fluoreszenztechniken eignen sich ideal zur Verfolgung vieler fundamentaler biologischer Prozesse.^[8] Ein Farbstoff, der für solche Anwendungen genutzt wird, sollte sich durch die folgenden Eigenschaften auszeichnen: Er sollte 1) anregbar sein, ohne dass dabei die biologische Matrix ebenfalls angeregt wird, 2) löslich in den entsprechenden Puffersystemen sein, 3) einen hohen molaren Extinktionskoeffizienten sowie 4) hohe Fluoreszenzquantenausbeuten aufweisen. Weiterhin wird eine funktionelle Gruppe benötigt, die eine

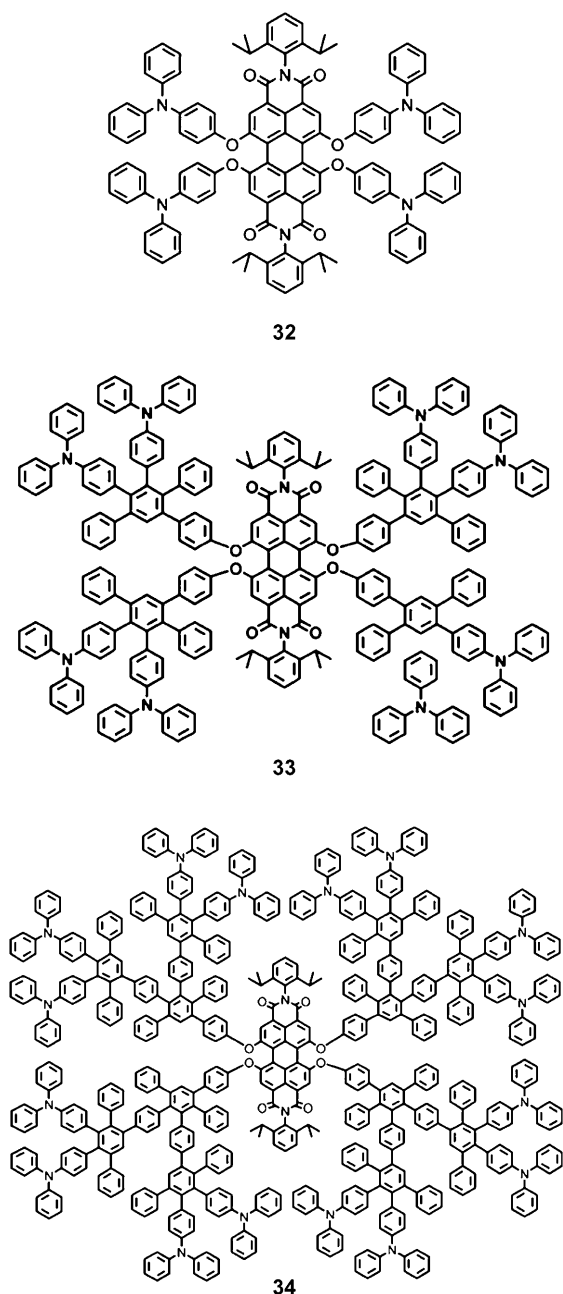


Abbildung 17. Erste, zweite und dritte Generation von Polyphenylen-Dendrimern (**32**, **33** bzw. **34**) mit einem PDI-Chromophor im Zentrum und entsprechend vier, acht und sechzehn TPA-Gruppen in der Peripherie.

spezifische Markierung ermöglicht.^[8] Bislang wurden Rylenfarbstoffe hauptsächlich in organischen Lösungsmitteln genutzt, da sie wegen ihres lipophilen Charakters in einer polaren Umgebung Aggregate bilden und wegen ihres ausgehenden aromatischen Gerüsts in der Regel nicht wasserlöslich sind. Dementsprechend ist die Einführung von wasserlöslichen Gruppen unter Erhaltung der hohen Fluoreszenzquantenausbeuten eine besonders anspruchsvolle Aufgabe.^[42] Perylenchromophore mit hydrophilen Substituenten wie Sulfonsäuregruppen^[42,168] oder quartären Amino-^[42] sowie Kronenether, Polyethylenoxid (PEO)^[169,170]

oder Peptidketten,^[170] die mit dem Chromophor verknüpft sind, lösen sich zwar in Wasser, die entsprechend substituierten Farbstoffe weisen allerdings fast keine Fluoreszenz mehr auf.^[42] Ein PMI-Chromophor mit einer langen PEO-Kette (PMI-PEO) zeigte beispielsweise zwar eine gute Löslichkeit sowohl in polaren als auch in unpolaren Lösungsmitteln, allerdings führte die starke Neigung des PMI zur Aggregatbildung zu einem Fluoreszenzverlust in polaren Lösungsmitteln.^[169] Interessanterweise spiegelten die Fluoreszenzquantenausbeuten die Polarität des umgebenden Mediums wider. So wurden in hydrophoben Umgebungen hohe Fluoreszenzquantenausbeuten gefunden, während diese in polaren Lösungsmitteln schrittweise aufgrund von Aggregatbildung sanken. Auf diese Weise konnte PMI-PEO als Nanoreporter für Polaritätsänderungen in seiner direkten Umgebung Anwendung finden und weiterhin für Experimente zur Zellfärbung genutzt werden. So gelang die selektive Anfärbung von Zellmembranen bei In-vitro-Experimenten, da in wässriger Lösung geringe Fluoreszenzquantenausbeuten und in hydrophober Umgebung (z.B. Membranen) eine hohe Fluoreszenz auftreten.^[10,19] Diese Tatsache wurde für ein PMI-Derivat mit einer einzelnen Carbonsäuregruppe genutzt (**35**, PMI-COOH;^[169] siehe Abbildung 18a). Dieses Amphiphil wurde ebenfalls für die Wechselwirkung mit Membranen entwickelt. Das planare, aromatische Gerüst des PMI hat eine hohe Antriebskraft, sich in Lipidschichten einzulagern, während die Carbonsäuregruppe eingeführt wurde, um die negativ geladenen Phosphorsäuregruppen der Membranoberfläche zu imitieren. **35** hat einen Extinktionskoeffizienten von ca. $38000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ bei 500 nm und nahezu quantitative Fluoreszenzausbeuten in organischen Lösungsmitteln. Allerdings fluoresziert **35** wegen der Aggregatbildung von PMI in polaren Lösungsmitteln, wie weiter oben in diesem Abschnitt beschrieben, fast nicht. Die Aggregatbildung zeigt sich durch Rotverschiebung der Emissionspeaks, stark reduzierte Fluoreszenzquantenausbeuten sowie eine längere Abklingzeit verglichen mit den entsprechenden Werten für das PMI-Monomer.^[123] Es wurde außerdem beobachtet, dass die Photostabilität und damit Lebensdauer des angeregten Zustands von **35** in einer Membran wesentlich höher bzw. länger sind als die von kommerziell erhältlichen Membranfarbstoffen.^[171] Wird **35** zu einem Wachstumsmedium für Zellen gegeben, beginnen die Zellmembranen wegen der Wechselwirkung stark zu fluoreszieren. Die Abklingzeit von eingelagertem **35** hing bei Modellsystemen aus unilamellaren Riesenvesikeln stark von der Phase der verwendeten Phospholipide (Flüssigphase gegenüber kristalliner Phase) ab.^[171] Diese Beobachtung könnte durch Packungsunterschiede sowie Unterschiede im freien Volumen zwischen den unterschiedlichen Phasen erklärt werden.^[171,172] Die Empfindlichkeit dieses Farbstoffs gegenüber seiner lokalen Umgebung, die mit Änderungen seiner Lebenszeit einhergeht, lässt bereits darauf schließen, dass sich mithilfe von Fluoreszenzlebensdauer-Imaging (FLIM) die Packung in Zellmembranen und vor allem Lipid-Rafts erforschen lassen. Lipid-Rafts sind Cholesterin-reiche Mikrodomänen in Zellmembranen, von denen angenommen wird, dass sie eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion spielen. In Abbildung 18c,d sind Bilder der Intensität (grau) und Lebenszeit

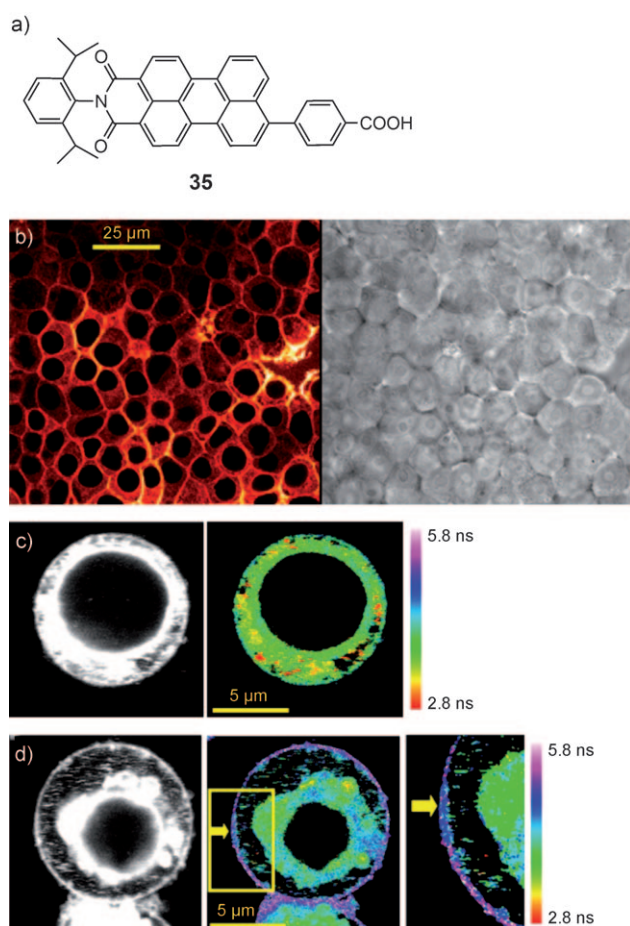


Abbildung 18. a) Struktur des amphiphilen PMI-COOH-Farbstoffs **35**. b) Fluoreszenz- (links) und Transmissionsbilder (rechts) von HeLa-Zellen auf einem Objektträger, der mit **35** behandelt wurde. c) Bilder der Fluoreszenzintensität (grau) und der Fluoreszenzlebenszeit (bunt), die für **35** für eine Jurkat-Zelle nach der Extraktion des Cholesterins mit Methyl- β -cyclodextrin erhalten wurden. d) Bilder der Fluoreszenzintensität (grau) und der Fluoreszenzlebenszeit (bunt), die für **35** in einer Jurkat-Zelle erhalten wurden, deren vernetzte CD3-Membranrezeptoren zuvor durch spezifische Antikörper (4 μ L Maus-anti-CD3-Antikörper (Sigma)) stimuliert worden waren. Der gelbe Pfeil zeigt auf eine Region, in der sich die Lebenszeit von **35** anders als im Rest der Membran verhält. Dies wird der Bildung eines großen Lipid-Rafts zugeschrieben. Alle FLIMs haben die gleiche Skalenaufteilung von 2.8–5.8 ns.

von mit **35** angefärbten Jurkat-Zellen abgebildet. Abbildung 18c präsentiert Bilder einer Zelle, deren Cholesterin erschöpft ist, während in Abbildung 18d Bilder einer Zelle dargestellt sind, die große Rafts enthält. Die Lebenszeitbilder zeigen deutliche Unterschiede in der Abklingzeit zwischen beiden Zellen und sogar in Teilen einer Zelle (vergrößerte Aufnahme rechts in Abbildung 18d). Dieses Experiment rechtfertigt nicht nur die Verwendung von Rylensfarbstoffen in der biologischen Forschung, sondern ermutigte uns auch, weitere Strategien zur Anknüpfung polarer Substituenten an das Rylengerüst zu entwickeln.

Der bislang erfolgreichste Ansatz, um Wasserlöslichkeit und hohe Fluoreszenzquantenausbeuten zu erreichen, beruhte auf der Einführung hydrophiler Substituenten in die

bay-Region des Chromophors.^[173] Gute spektroskopische Eigenschaften zeigten vor allem PDI-Derivate mit vier Sulfonsäure- (**36**), Pyridinium- (**37**) oder quartären Aminogruppen.^[42] Interessanterweise wies das TDI-Analogon mit vier Sulfonsäuregruppen in der bay-Region wegen seines erweiterten aromatischen Gerüsts im Unterschied zum PDI-Farbstoff eine hohe Tendenz auf, nichtfluoreszierende Aggregate zu bilden.^[10,19] Zusätzlich zeigte auch dieser Farbstoff eine hohe Affinität zu lipophilen Umgebungen und dort eine hohe Photostabilität. Diese Besonderheit wurde zur Fluoreszenzmarkierung von Lipidmembranen und Membranen, die Kompartimente wie künstliche Liposomen oder Endosomen enthalten, in lebenden HeLa-Zellen eingesetzt (Abbildung 19).^[10,19]

Anders als zahlreiche andere Farbstoffe eignen sich in Polymerfilme eingebettete Rylenemitter ausgezeichnet für Einzelmolekülexperimente. In diesem Zusammenhang zeigte eine Einzelmolekülstudie in Polymerfilmen unter Verwendung von **36** exzellente Photostabilität und ein geringes Photobleichen. Die Photostabilität liegt weit über der Stabilität anderer gebräuchlicher wasserlöslicher Farbstoffe, so wie Oxazin-1, Sulforhodamin B und ein wasserlösliches Perylen-diimid-Derivat.^[10,19] Kürzlich wurde ein neuer Chromophortyp der WS-TDI-Familie, **37**, hinzugefügt – das erste bekannte Analogon, das in Wasser keine Aggregate bildet und daher fluoresziert^[9] und dessen vielversprechende photophysikalische Eigenschaften erhalten bleiben.^[9] Grundlegend für die Anwendung von Rylensfarbstoffen als Biomarkern ist die Einführung von geladenen Substituenten in die bay-Region der Rylenchromophore, was in Abschnitt 6.2 thematisiert wird.

6.2. Monofunktionelle Perylenfarbstoffe für die Proteinmarkierung

Die Markierung von Proteinen mithilfe von chemischen oder molekularbiologischen Methoden ist für die Erforschung von Proteinfunktionen essenziell. Fluoreszenzsonden ermöglichen insbesondere die Detektion von molekularen Wechselwirkungen, Beweglichkeiten und Konformationsänderungen.^[174] Besonders FRET hat sich für die Untersuchung von Konformationsverteilungen und -dynamiken von Biomakromolekülen als wertvolles Hilfsmittel erwiesen.^[175] Eine wesentliche Voraussetzung für solche Untersuchungen ist die Möglichkeit einer ortsgerichteten Einführung fluoreszierender Reporter in eine festgelegte Position im Protein.

Heutzutage steht eine Vielzahl an Chromophoren für die Markierung von Biomolekülen zur Verfügung. Organische Farbstoffe, Metall-Liganden-Komplexe, Lanthanoidchelate und Fluorophore biologischen Ursprungs wie Phycobiliproteine oder genetisch veränderte Proteine wie auch Nanokristallchromophore wurden als Biomarker verwendet.^[8] Fluoreszenzsonden wie Bodipy-^[6], Alexa-^[176] oder ATTO-Derivate^[177] vereinen hohe Fluoreszenzquantenausbeuten, moderate bis gute Löslichkeiten und ein niedriges, unspezifisches Adsorptionsverhalten. Daher wurden die Farbstoffe insbesondere für Experimente in polarer Umgebung wie Wasser, Puffer oder im Zytoplasma für vielfältige

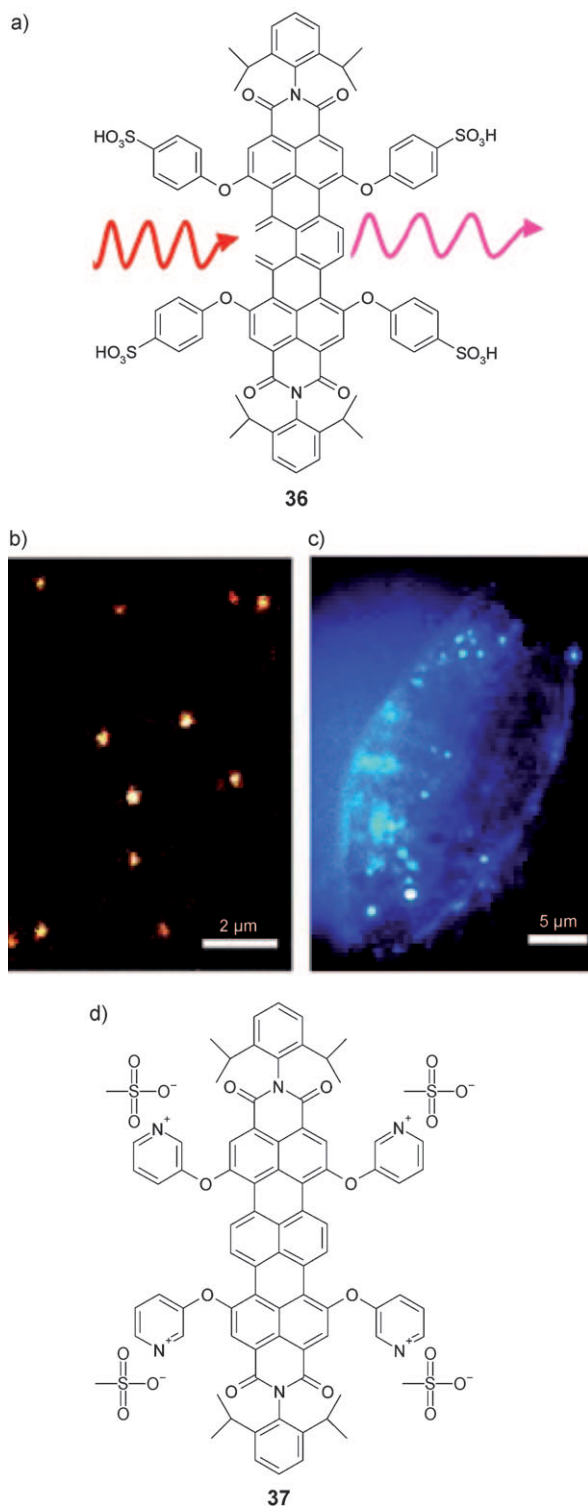


Abbildung 19. a) Strukturformel von **36**. b) Fluoreszenzbild von einzelnen Molekülen von **36**, die in eine Polymermatrix eingebettet wurden. c) Aufnahme der Lipidmembranen der Kompartimente in lebenden HeLa-Zellen nach Zugabe von **36**. d) Strukturformel von **37**.

Anwendungen wie auch in der SMS eingesetzt.^[178] Trotz bemerkenswerter Fortschritte bei der Entwicklung verbesserter PDI- und TDI-Sonden durch maßgeschneiderte Funktionalisierungen werden Rylenfarbstoffe auf dem Gebiet der

Markierung von Biomolekülen bislang nur selten verwendet (Abbildung 20).

Eine wichtige Besonderheit von Rylenfarbstoffen ist die Möglichkeit, verschiedene funktionelle Gruppen unabhängig in der Imidstruktur oder in der *bay*-Region zu platzieren.^[33,39] Darüber hinaus ermöglicht es die Imidstruktur, zwei verschiedene Substituenten einzuführen, wodurch auch eine „Monofunktionalisierung“, d.h. die Anheftung einer einzelnen reaktiven Gruppe in dieser Position möglich ist.^[179,180] Auf diese Weise wurden PDI- und TDI-Farbstoffe erhalten, die außer vier Sulfonsäuregruppen noch eine funktionelle Gruppe für Biokonjugationsreaktionen tragen, z.B. Carbonsäure- oder Aminogruppen für die Bildung von Amidbindungen mit Lysin-, Glutaminsäure- oder Asparaginsäureresten.^[180] Die Chromophore **38–40** sind gut wasserlöslich und haben hohe Fluoreszenzquantenausbeuten. Das höhere Homologe WS-TDI **41** absorbiert oberhalb von 600 nm und ist daher sehr gut für Einzelmolekülexperimente sowie für Experimente an lebenden Zellen geeignet. Biokonjugate aus **41** und DNA zeigten beispielsweise eine hohe Beständigkeit gegen den Photoabbau sowie reduziertes Photo-Blinking.^[19] Die Einführung einer Cysteinpunktmutation an einer gewünschten Position auf der Oberfläche eines rekombinanten Proteins ist einer der häufigsten Ansätze für die selektive Proteinmarkierung. In diesem Fall muss das Chromophor eine mit Thiolen reagierende Gruppe enthalten. PDI **40** mit einer Maleimidgruppe (Abbildung 20) eignet sich als Fluo-

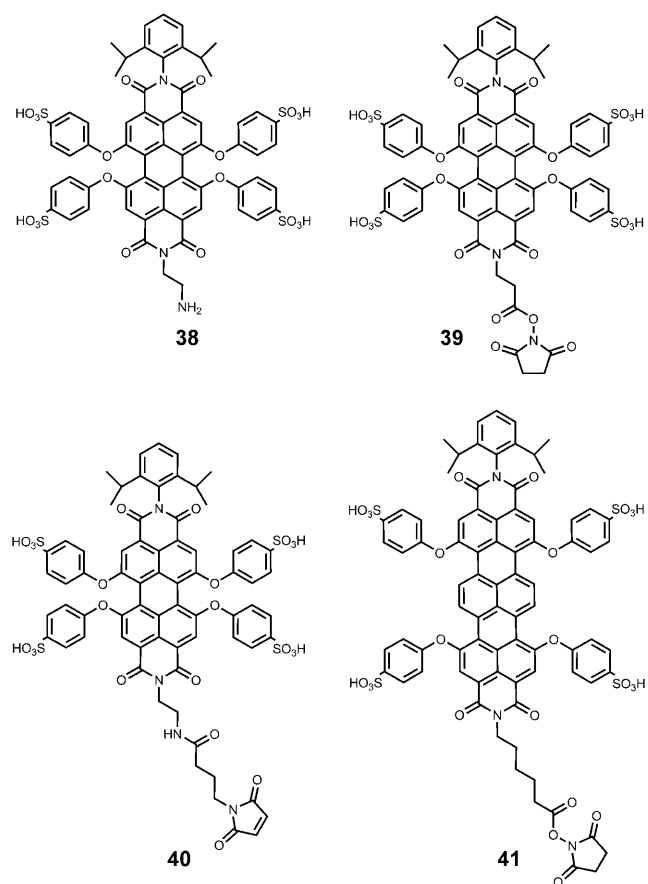


Abbildung 20. Überblick über verschiedene PDI- und TDI-Biomarker.

reszenzsonde für die Adressierung reaktiver Thiolgruppen.^[180] Oft werden Proteine in der Molekularbiologie mit einem Oligohistidininterminus exprimiert, der die Isolierung und Reinigung mithilfe entsprechender Säulen, die Nitrilotriessigsäure(NTA)-Gruppen tragen, erleichtert. Diese Art der Markierung kann auch für eine Funktionalisierung mit Chromophoren genutzt werden, die analoge funktionelle Gruppen tragen. Die Funktionalisierung mit einer einzelnen NTA-Gruppe innerhalb der Imidstruktur von PDI (PDI-NTA **42**; Abbildung 21) ermöglicht die spezifische Markierung von Proteinen mit einem Oligohistidinende in Gegenwart von Ni^{2+} -Ionen.^[179]

Im Unterschied zu vielen bekannten NTA-funktionalisierten Chromophoren, von denen früher berichtet wurde, werden die photophysikalischen Eigenschaften von PDI-NTA nicht durch die Komplexbildung mit Nickelionen beeinträchtigt.^[181–183] Die erfolgreiche Markierung der ATP-Synthetase konnte unter Verwendung von **42** demonstriert werden.^[179] In diesem Zusammenhang wurde beobachtet, dass **42** sich nicht nur durch eine gleich bleibende Emissionswellenlänge, sondern auch durch eine hohe Emissionsintensität in Gegenwart von Nickelionen auszeichnet, wodurch sich derartige Chromophore besonders für die Untersuchung von Proteindynamiken auf Einzelmolekülebene eignen. Ferner sind solche Fluoreszenzreporter mit einem Molekulargewicht von 1555 g mol^{-1} verhältnismäßig klein, wodurch Einschränkungen, wie sie durch die Größe von z. B. autofluoreszierenden Proteinen oder Quantenpunkten bedingt sind, umgangen werden können. Das PDI-NTA-Chromophor hat ein großes Potenzial für die Charakterisierung der Funktionen, Dynamiken und Wechselwirkungspartner von Proteinen.

6.3. Einzelproteinspektroskopie

In den vergangenen Jahren konnten einzelne Proteine, Virionen, Wirkstoffe und andere einzelne Biopartikel markiert werden, um so ihren Weg und ihre Wechselwirkungen in lebenden Zellen zu verfolgen sowie den Mechanismus von Zellaufnahme und Zellmigration sowie die Wechselwirkungspartner aufzuklären.^[184] Unter Anwendung des asymmetrischen PDI-Chromophors **39** konnten einzelne Phospholipaseenzyme sogar auf einem fluoreszenzmarkierten Substrat funktionalisiert und visualisiert werden.^[180,185] Unter diesen schwierigen Bedingungen zeichnete sich das PDI **39** durch eine 600-mal längere Lebenszeit als ATTO 647^[177] aus, das oft als ultrastabiler Fluoreszenzreporter beschrieben wird.^[186] Die mit **39** markierten Enzyme ermöglichten die Charakterisierung der Phospholipaseaktivität auf Phospholipid-tragenden Schichten, ihrem natürlichen Substrat.^[185] Über diesen Ansatz konnte zum ersten Mal die Mobilität der Phospholipase mit ihrer katalytischen Aktivität in Beziehung gesetzt werden.^[185] Weiterhin erlaubten diese Untersuchungen eine Validierung des Einflusses der Schichtzusammensetzung und Fluidität auf die Aktivität und Mobilität der Phospholipase (Abbildung 22).^[185]

Wie wir in den vorangegangenen Unterabschnitten gesehen haben, können durch Kombination eines hydrophoben

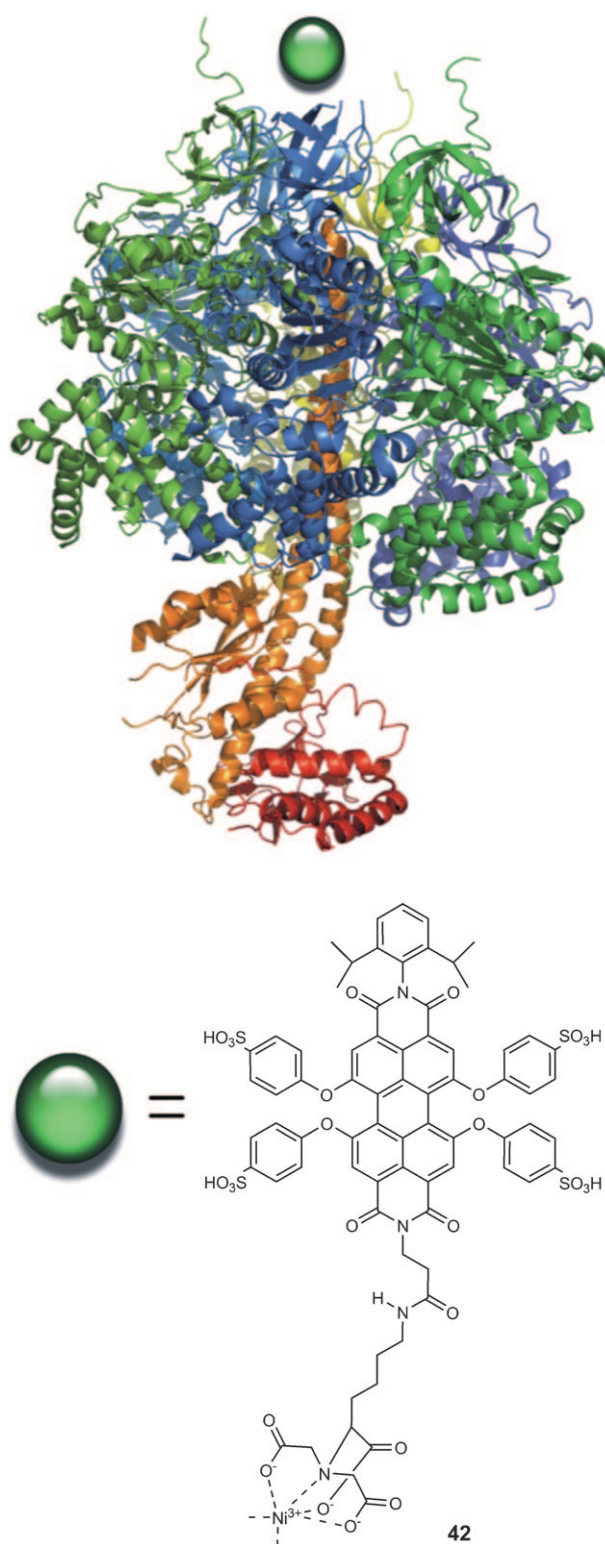


Abbildung 21. Die Markierung eines Proteins mit dem Ni-NTA-funktionalisierten PDI-Farbstoff **42** wurde unter Verwendung einer ATP-Synthetase mit einer Oligohistidinsequenz demonstriert.

Rylengerüsts und polarer Substituenten sehr amphiphile Moleküle gebildet werden. Diese können als Nanoreporter der Polarität ihrer direkten Umgebung fungieren, da sie eine kontrastreiche Darstellung von Membranen ermöglichen.

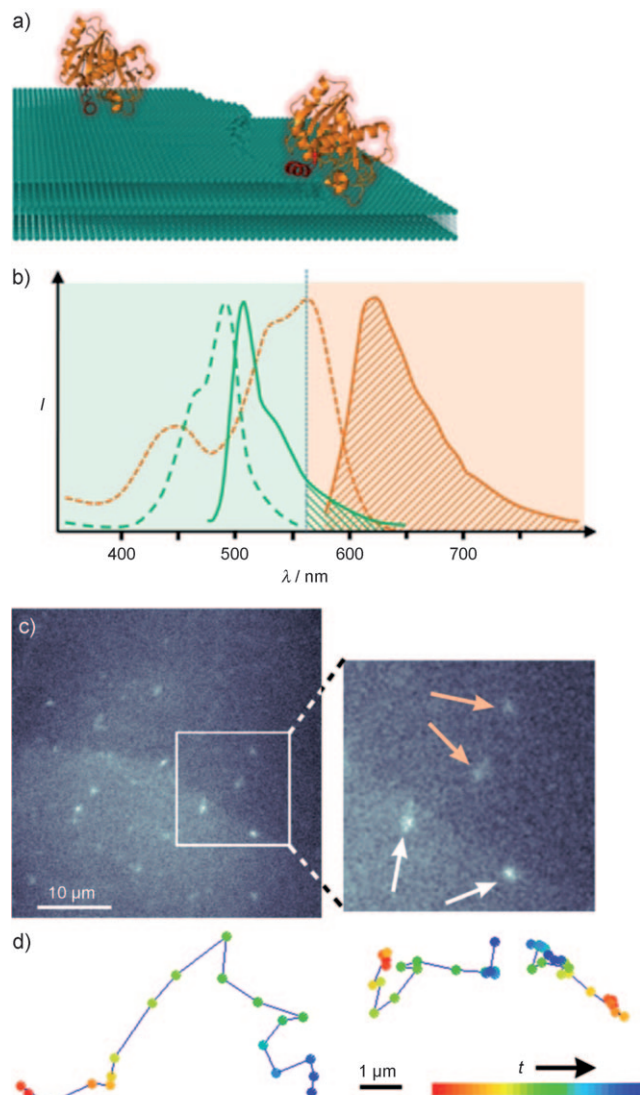


Abbildung 22. Spektroskopische Untersuchungen an einzelnen Phospholipase-Proteinen, die mit PDI **39** markiert wurden und auf das Phospholipid-Substrat Palmitoyllecithin (POPC) gegeben wurden. a) Die Zeichnung zeigt das generelle Konzept des Experiments (die Phospholipid-Schichten sind in Grün, einzelne Phospholipasen in Gelb dargestellt). b) Absorptions- (----) und Emissionsspektren (—) von 3,3'-Diocetadecyloxycarbocyanin-Perchlorat (DiO, grüne Farbgebung; dieser Farbstoff wurde verwendet, um die Substratschichten zu markieren) und PDI **39** (gelbe Farbgebung; zur Markierung einzelner Enzyme). Unter Verwendung der passenden Filter ermöglicht es die Markierung mit PDI, genügend Photonen zu detektieren, um einzelne Enzyme sogar in Gegenwart der Hintergrundfluoreszenz der Schichten zu unterscheiden. c) Markierung der Schichten ermöglicht die Visualisierung der Schritte in den Schichten sowie, in Kombination mit den markierten Enzymen, die Visualisierung der bevorzugten Adsorption von Enzymmolekülen an den Schritten. Dieses Bild wurde nach Akkumulation von acht Frames (400 ms) erhalten. Weißes Quadrat: vergrößertes Bild der rechten Seite, wo zwei Enzyme am Schritt zwischen zwei POPC-Schichten liegen (weiße Pfeile) und zwei Enzyme sich auf einer POPC-Schicht bewegen (orangene Pfeile). d) Trajektorien einzelner Enzyme als Funktion der Zeit. Die linke Trajektorie gehört zu einem Enzym, das sich auf einer POPC-Schicht bewegt, die rechten stammen von Enzymen an der Kante zwischen zwei Schichten. Aus solchen Trajektorien lässt sich die mittlere quadratische Abweichung (MSD) einzelner Enzyme errechnen. Anhand dieser Daten ist es möglich, Diffusionskonstanten einzelner aktiver Enzyme an einer Schichtkante zu berechnen (Werte zwischen 0.07 und $1.7 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$).

Dieser bemerkenswerte Kontrast resultiert daraus, dass diese Nanoemitter lipophile Umgebungen bevorzugen, und wird zusätzlich durch die Aggregatbildung der Chromophore in wässriger Lösung verstärkt. In Abschnitt 6.4 schildern wir, wie hohe subzelluläre Spezifitäten durch die Gegenwart einer Vielzahl von Ladungen erzielt werden können. Derartige wasserlösliche und fluoreszierende Rylenpolyelektrolyte weisen außergewöhnliche subzelluläre Spezifitäten für natürliche Polyelektrolyte auf.

6.4. PDI-Polyelektrolyte mit hohen subzellulären Spezifitäten

In der Zellbiologie spielen Ladungen eine wichtige Rolle. Negativ geladene Membranen regulieren die Aufnahme und Ausschleusung von Molekülen und Makromolekülen in Zellen.^[187,188] Das sich im Zellkern befindende Nukleosom setzt sich aus positiv geladenen Histonproteinen, die Oktamere bilden, zusammen und wird für die Aufbewahrung des genetischen Materials von der negativ geladenen DNA umwickelt.^[189] Das Design von Nanoemittern mit einer großen Zahl an positiven oder negativen Ladungen sollte ihre elektrostatische Wechselwirkung mit natürlichen Polyelektrolyten wie der DNA oder den nukleären Proteinen ermöglichen. Über das Schicksal von Polyelektrolyten in Zellen ist bislang nur wenig bekannt. Diesem Mangel an Informationen liegt hauptsächlich die Tatsache zugrunde, dass es häufig nicht gelingt, Eigenschaften wie Nanogröße, Fluoreszenz und Mehrfachladungen in einem Molekül zu kombinieren. Unser Designkonzept beruht auf der Tatsache, dass die Funktionalisierung mit dendritischen Zweigen an einem zentralen Rylenkern die Einführung einer großen Zahl von Substituenten in der Peripherie ermöglicht, wodurch sich komplexe Kern-Schale-Makromoleküle aufbauen lassen. Diese setzen sich aus einem PDI-Chromophor im Zentrum zusammen, das von einer Polyphenylschale umgeben ist. Die Kern-Schale-Struktur eröffnet den Zugang zu makromolekularen Dimensionen und schützt weiterhin den Chromophor, während die äußere Schale mehrere Amino- oder Carboxygruppen trägt (Abbildung 23).^[190–193] Diese Makromoleküle wurden durch Grafting-from-ATRP ausgehend von einem fluoreszierenden Polyphenyl-Makroinitiator synthetisiert. Durch Atomtransferpolymerisation (ATRP) lässt sich die Zahl der Ladungen während der Polymerisation einstellen,^[190–193] und zudem können die Kettenlängen zwischen zehn und fünfzig Monomereinheiten und die Mengen der eingeführten Carbonsäure- und Aminogruppen gezielt variiert werden.^[193] Auf diesem Weg kann eine große Zahl von 80–1280 polaren Gruppen auf der Oberfläche der Makromoleküle eingebaut werden.^[193] Diese PDI-Polyelektrolyte weisen eine hohe Wasserlöslichkeit und gute Fluoreszenzquantenausbeuten auf.^[193] Es zeigte sich, dass PDI-Nanoemitter mit vielen positiven Ladungen, z. B. **44** (Abbildung 23b), zügig in Zellen aufgenommen werden^[192] und spezifisch mit den negativ geladenen Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM; Abbildung 23d) wechselwirken.^[194] Die ECM umgibt Zellen und spielt eine wichtige Rolle bei vielen Aspekten, die das Schicksal einer Zelle betreffen, z. B. bei der Zellwanderung, Stammzelldifferenzierung und Krebsentwicklung. Der den-

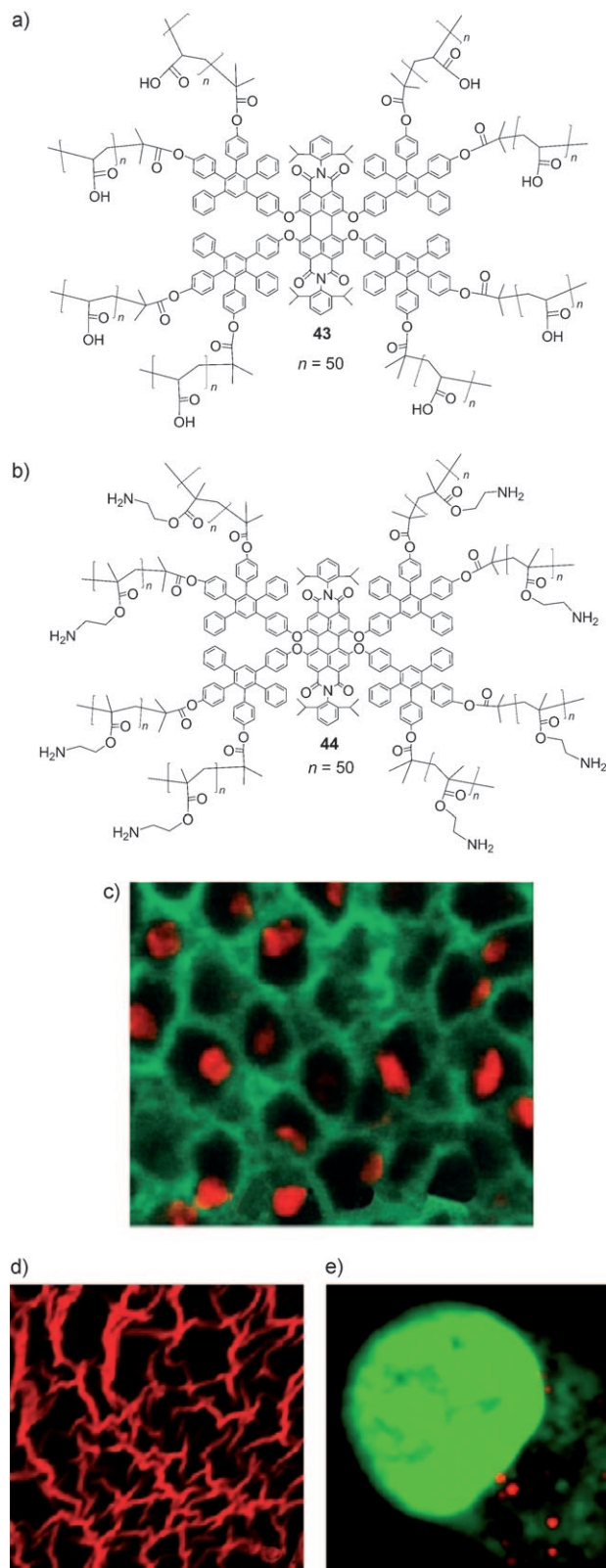


Abbildung 23. a) Kern-Schale-Makromolekül **43** der ersten Generation, das ca. 400 Carbonsäuregruppen in der äußeren Schale enthält. b) Kern-Schale-Makromolekül **44** der ersten Generation mit ca. 400 primären Aminogruppen. c) Konfokale-Mikroskopie-Aufnahme von larvalem *Drosophila*-Gewebe, das mit **43** angefärbt wurde und die exklusive Lokalisation im Zellkern zeigt. d) Konfokale-Mikroskopie-Aufnahme der mit **44** angefärbten ECM in fixierten Flügepithelzellen. e) Aufnahme von **44** nach 15 min Inkubation mit ECV-304-Zellen.

dritische Polyelektrolyt **44** mit ungefähr fünfzig Wiederholungseinheiten ($n = 50$) wurde als erster Chromophor für das Anfärben der ECM über Bindung an negativ geladene Zellbestandteile in fixierten und lebenden Präparaten genutzt.^[194] Aufgrund der spezifischen Wechselwirkung mit positiv geladenen Zellkernproteinen, den so genannten Histonen (Abbildung 23 c), konnten PDI-Kern-Schale-Makromoleküle **43**, die mehrere Carbonsäuregruppen aufweisen, für die selektive Färbung des Zellkerns verwendet werden.

Diese komplexe Bindung wurde exemplarisch an **43** mit dem positiv geladenen, Lysin-reichen Histonprotein H1 unter Verwendung der isothermalen Titrationskalorimetrie untersucht.^[193] Sehr niedrige Dissoziationskonstanten im nanomolaren Bereich wiesen auf enge Wechselwirkungen zwischen **43** und H1 hin. Die Intensität der Emissionen des zentralen PDI-Farbstoffes sank interessanterweise nach Bindung an die ECM oder Histonproteine, was die Anwendung dieser interessanten Nanoemitter für Mehrkanal-Fluoreszenzanwendungen ermöglicht.

7. Zusammenfassung

In diesem Aufsatz wurde der Entwurf maßgeschneiderter Rylen-Nanoemitter durch gezielte Funktionalisierung des Chromophorgerüsts beschrieben. Die optischen Eigenschaften von Rylenfarbstoffen, ihre Löslichkeit sowie ihre intra- und intermolekularen Wechselwirkungen lassen sich durch Wahl der funktionellen Gruppen manipulieren. So konnten Rylenemitter mit zwei unterschiedlichen funktionellen Gruppen in der Imidregion ausgestattet sowie die Zahl und Art der Substituenten in der *bay*-Region variiert werden, wodurch sich ein Zugang zu unsymmetrisch substituierten Chromophoren eröffnet, die breite Anwendung für den Aufbau komplexer nanoskopischer Architekturen, als Nanoreporter oder als Fluoreszenzmarker zur spezifischen Proteinmarkierung finden.

Durch gezielte Funktionalisierung konnten leistungsstarke Nanoemitter hergestellt werden, die das gesamte Spektrum des sichtbaren Lichts sowie des Nah-Infrarotbereichs absorbieren, scharfe Absorptions- und Emissionsbanden, hohe Fluoreszenzquantenausbeuten und herausragende Photostabilitäten aufweisen. Die Platzierung von polaren oder geladenen Gruppen in das Chromophorgerüst oder in die nähere Umgebung des Chromophors führt zu einer signifikanten Änderung der optischen Eigenschaften. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass sich Rylen-Nanoemitter dank ihrer hohen Photostabilität als empfindliche Reportermoleküle ihrer lokalen Umgebung eignen. Durch die Verwendung maßgeschneiderter Rylenfarbstoffe ließen sich bereits Polymerdynamiken, Polymerisationskinetiken, Porenstrukturen in mesoporösen Materialien oder Wechselwirkungen mit Membranen gezielt untersuchen.

Das Konzept der Verwendung von Rylenemittern als nanoskopischen Reportermolekülen in einem kleinen, aber definierten Volumen wurde am Beispiel der dendritischen Multichromophore perfektioniert. Die Kombination von mehr als einem Rylenchromophor an einem bestimmten Ort, inmitten eines definierten, nanoskopischen Volumens, gibt

die einzigartige Gelegenheit, systematisch die Abstände von Chromophoren, deren Orientierungen zueinander sowie die spektrale Überlappung zu variieren und den Einfluss dieser wichtigen Parameter auf Energie- und Elektronentransferprozesse am Einzelmolekül zu studieren. Mit diesen komplexen Makromoleküle lässt sich das Verständnis von Phänomenen wie dem Kollektivverhalten von Multichromophoren vertiefen, und zudem werden neue Wege zur Herstellung von verbesserten synthetischen Lichtsammelkomplexen gebildet. Die Kombination von nanometergroßen Rylenemittern und einer flexiblen Hülle, die eine große Zahl positiver oder negativer Ladungen aufweist, eröffnet einen Zugang zu Kern-Schale-Polyelektrolyten, die außerordentliche subzelluläre Spezifitäten zeigen, feste Bindungen mit natürlichen Polyelektrolyten wie DNA oder Histonproteinen im Zellkern eingehen und eine kontrastreiche Anfärbung von Zellen möglich machen.

Ihre Vielseitigkeit und ihre einstellbaren Eigenschaften sollten die Rylenfarbstoffe zu einem Eckpfeiler der zukünftigen Entwicklung von leistungsstarken, funktionalen Farbstoffen machen.

Abkürzungen

| | |
|--------|--|
| SDI | Pentarylenbis(dicarboximid) |
| ATRP | Atomtransferpolymerisation |
| Bodipy | 4,4'-Difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene |
| CSS | ladungsgeladener Zustand |
| CTAB | Cetyltrimethylammoniumbromid |
| DiO | 3,3'-Diocetadecyloxycarbocyanin |
| DSSC | Farbstoff-sensibilisierte Solarzelle |
| ECM | extrazelluläre Matrix |
| ET | Elektronentransfer |
| FCS | Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie |
| FLIM | Fluoreszenzlebensdauer-Imaging |
| FRET | Förster-Resonanzenergietransfer |
| GS | Grundzustand |
| HDI | Hexarylenbis(dicarboximid) |
| HOMO | höchstes besetztes Molekülorbital |
| HT | Lochtransport |
| ISC | intersystem crossing |
| ITO | Indiumzinnoxid |
| LES | lokal angeregter Zustand |
| LH2 | lichtsammelnder Antennenkomplex |
| LUMO | niedrigstes unbesetztes Molekülorbital |
| MSD | mittlere quadratische Abweichung |
| NIR | Nah-Infrarot |
| NMI | Naphthalinmonoimid |
| NTA | Nitrilotriessigsäure |
| PDI | Perylenbis(dicarboximid) |
| PEO | Polyethylenoxid |
| PMI | Perylen-3,4-dicarboximid |
| PMMA | Polymethylmethacrylat |
| PnBMA | Poly(<i>n</i> -butylmethacrylat) |
| POPC | 1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin |
| QDI | Quaterrylenbis(dicarboximid) |
| SAM | selbstorganisierte Monoschicht |

| | |
|--------|--|
| SMS | Einzelmolekülspektroskopie |
| STED | Fluoreszenzlöschung durch stimulierte Emission |
| T_g | Glasübergangstemperatur |
| TDI | Terrylenbis(dicarboximid) |
| TPA | Triphenylamin |
| WFM | Weitfeldmikroskopie |
| WS-TDI | 1,6,7,12-Tetra(4-sulfonylphenoxy)- <i>N,N</i> -(2,6-diisopropylphenyl)terrylen-3,4:9,10-tetracarboxidiimid |

Wir danken allen, die einen Beitrag zu den hier beschriebenen Arbeiten geleistet haben. Diese Arbeit ist Teil des Programms EUROCORES des European Science Foundation Programms SONS und wurde durch Mittel der FWO (Fonds voor wetenschappelijk onderzoek Vlaanderen), der DFG, des EC 6th Framework Programm (ERAS-CT-2003-980409) sowie der EU über das integrierte Projekt NAIMO (Nr. NMP4-CT-2004-500355) gefördert. Wir möchten weiterhin den finanziellen Beitrag des SFB 625 und der DFG im Rahmen des Programms der „Elementarprozesse der organischen Photovoltaik“ Mu 334/31-1 würdigen. T.V. dankt der FWO und dem UNIK – Synthetic Biology Program (Grant 09-065274) für finanzielle Unterstützung. Wir möchten uns ebenfalls für die Unterstützung von Ashlan Musante und Chen Li während der Erstellung des englischen Manuskriptes und bei Dr. Klaus Eisele und Thorolf Weil bei der Verfassung der deutschen Übersetzung bedanken.

Eingegangen am 13. Mai 2009,
veränderte Fassung am 22. Januar 2010
Online veröffentlicht am 25. Oktober 2010

- [1] K. V. Datye, *Colourage Annu.* **1988**, 3, 0.
- [2] J. Lee, *Textile Wet Processing: Preparation, Dyeing and Finishing of Today's Textile Fabrics*, [Conference] **1998**, VIII/0.
- [3] V. G. Agnihotri, *Colourage* **1976**, 23, 1.
- [4] H. Zollinger, *Color Chemistry*, 3. Aufl., Wiley-VCH, New York, **2001**.
- [5] Z. Chen, A. Lohr, C. R. Saha-Möller, F. Würthner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 564.
- [6] G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 1202; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1184.
- [7] N. S. Finney, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, 10, 238.
- [8] U. Resch-Genger, M. Grabolle, S. Cavaliere-Jaricot, R. Nitschke, T. Nann, *Nat. Methods* **2008**, 5, 763.
- [9] S. M. Melnikov, E. K. L. Yeow, H. Uji-i, M. Cotlet, K. Müllen, F. C. De Schryver, J. Enderlein, J. Hofkens, *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 708.
- [10] C. Jung, B. K. Müller, D. C. Lamb, F. Nolde, K. Müllen, C. Bräuchle, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 5283.
- [11] F. Würthner, *Chem. Commun.* **2004**, 1564.
- [12] J. Kirstein, B. Platschek, C. Jung, R. Brown, T. Bein, C. Bräuchle, *Nat. Mater.* **2007**, 6, 303.
- [13] R. Métivier, F. Nolde, K. Müllen, T. Basche, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 98, 047802.
- [14] E. Clar, *Chem. Ber.* **1948**, 81, 52.
- [15] L. Zang, Y. Che, J. S. Moore, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1596.
- [16] X. Meng, W. Zhu, H. Tian, *Opt. Sci. Eng.* **2008**, 133, 129.
- [17] R. Schroeder, B. Ullrich, *OSA Trends Opt. Photonics Ser.* **2002**, 64, 115.

- [18] A. C. Grimsdale, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5732; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5592.
- [19] C. Jung, N. Ruthardt, R. Lewis, J. Michaelis, B. Sodeik, F. Nolde, K. Peneva, K. Müllen, C. Bräuchle, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 180.
- [20] A. Liscio, G. De Luca, F. Nolde, V. Palermo, K. Müllen, P. Samori, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 780.
- [21] J. P. Schmidtke, R. H. Friend, M. Kastler, K. Müllen, *J. Chem. Phys.* **2006**, *124*, 174704.
- [22] K. Bouchemal, *Drug Discovery Today* **2008**, *13*, 960.
- [23] M. A. Angadi, D. Gosztola, M. R. Wasielewski, *J. Appl. Phys.* **1998**, *83*, 6187.
- [24] Z. Chen, M. G. Debije, T. Debaerdemaeker, P. Osswald, F. Würthner, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 137.
- [25] R. Gomez, J. L. Segura, *Handbook of Organic Electronics and Photonics* **2008**, *3*, 351.
- [26] S. Becker, A. Bohm, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3984.
- [27] F. D. Stefani, C. Kohl, Y. S. Avlasevich, N. Horn, A. K. Vogt, K. Müllen, M. Kreiter, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 6115.
- [28] P. Tinnefeld, K. D. Weston, T. Vosch, M. Cotlet, T. Weil, J. Hofkens, K. Müllen, F. C. De Schryver, M. Sauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14310.
- [29] S. Tasch, E. J. W. List, O. Ekstrom, W. Graupner, G. Leising, P. Schlichting, U. Rohr, Y. Geerts, U. Scherf, K. Müllen, *Appl. Phys. Lett.* **1997**, *71*, 2883.
- [30] S. Tasch, E. J. W. List, C. Hochfilzer, G. Leising, P. Schlichting, U. Rohr, Y. Geerts, U. Scherf, K. Müllen, *Phys. Rev. B* **1997**, *56*, 4479.
- [31] P. Posch, M. Thelakkat, H. W. Schmidt, *Synth. Met.* **1999**, *102*, 1110.
- [32] S. Schols, S. Verlaak, C. Rolin, D. Cheyns, J. Genoe, P. Heremans, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 136.
- [33] N. G. Pschirer, C. Kohl, F. Nolde, J. Qu, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1429; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1401.
- [34] F. Kulzer, M. Orrit, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2004**, *55*, 585.
- [35] H. Langhals, *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1309.
- [36] F. Nolde, J. Qu, C. Kohl, N. G. Pschirer, E. Reuther, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3959.
- [37] H. Quante, K. Müllen, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1487; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1323.
- [38] Y. Geerts, H. Quante, H. Platz, R. Mahrt, M. Hopmeier, A. Bohm, K. Müllen, *J. Mater. Chem.* **1998**, *8*, 2357.
- [39] A. Herrmann, K. Müllen, *Chem. Lett.* **2006**, *35*, 978.
- [40] Y. Avlasevich, S. Mueller, P. Erk, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 6555.
- [41] S. Müller, K. Müllen, *Chem. Commun.* **2005**, 4045.
- [42] C. Kohl, T. Weil, J. Qu, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5297.
- [43] A. Herrmann, T. Weil, V. Sinigersky, U. M. Wiesler, T. Vosch, J. Hofkens, F. C. De Schryver, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4844.
- [44] D. Wöll, H. Uji-I, T. Schnitzler, J. I. Hotta, P. Dedecker, A. Herrmann, F. C. De Schryver, K. Müllen, J. Hofkens, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 795; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 783.
- [45] R. Yasukuni, T. Asahi, T. Sugiyama, H. Masuhara, M. Sliwa, J. Hofkens, F. C. De Schryver, M. Van der Auweraer, A. Herrmann, K. Muller, *Appl. Phys. A* **2008**, *93*, 5.
- [46] R. Yasukuni, M. Sliwa, J. Hofkens, F. C. De Schryver, A. Herrmann, K. Müllen, T. Asahi, H. Masuhara, *Jpn. J. Appl. Phys.* **2009**, *93*, 5.
- [47] E. Fron, R. Pilot, G. Schweitzer, J. Q. Qu, A. Herrmann, K. Müllen, J. Hofkens, M. van der Auweraer, F. C. De Schryver, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 597.
- [48] J. Hofkens, T. Vosch, M. Maus, F. Kohn, M. Cotlet, T. Weil, A. Herrmann, K. Müllen, F. C. De Schryver, *Chem. Phys. Lett.* **2001**, *333*, 255.
- [49] E. Fron, G. Schweitzer, P. Osswald, F. Würthner, P. Marsal, D. Beljonne, K. Müllen, F. C. De Schryver, M. Van der Auweraer, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 1509.
- [50] P. Osswald, F. Würthner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14319.
- [51] M. Cotlet, T. Vosch, S. Habuchi, T. Weil, K. Müllen, J. Hofkens, F. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9760.
- [52] H. Uji-i, S. M. Melnikov, A. Deres, G. Bergamini, F. De Schryver, A. Herrmann, K. Müllen, J. Enderlein, J. Hofkens, *Polymer* **2006**, *47*, 2511.
- [53] C. Li, J. Schoeneboom, Z. Liu, N. G. Pschirer, P. Erk, A. Herrmann, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 878.
- [54] W. E. Moerner, M. Orrit, *Science* **1999**, *283*, 1670.
- [55] S. M. Nie, D. T. Chiu, R. N. Zare, *Science* **1994**, *266*, 1018.
- [56] D. A. VandenBout, W. T. Yip, D. H. Hu, D. K. Fu, T. M. Swager, P. F. Barbara, *Science* **1997**, *277*, 1074.
- [57] P. Tinnefeld, M. Sauer, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2698; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2642.
- [58] F. C. De Schryver, T. Vosch, M. Cotlet, M. Van der Auweraer, K. Müllen, J. Hofkens, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 514.
- [59] C. Eggeling, J. Widengren, R. Rigler, C. A. M. Seidel, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 2651.
- [60] T. Basché, S. Kummer, C. Bräuchle, *Nature* **1995**, *373*, 132.
- [61] D. Wöll, E. Braeken, A. Deres, F. C. De Schryver, H. Uji-i, J. Hofkens, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 313.
- [62] X. Michalet, S. Weiss, *C. R. Phys.* **2002**, *3*, 619.
- [63] M. Orrit, *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 10938.
- [64] P. F. Barbara, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 503.
- [65] D.-P. Hertel, *Chem. Unserer Zeit* **2008**, *42*, 192.
- [66] P. Schlichting, B. Duchscherer, G. Seisenberger, T. Basche, C. Bräuchle, K. Müllen, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2388.
- [67] M. W. Holman, R. C. Liu, L. Zang, P. Yan, S. A. DiBenedetto, R. D. Bowers, D. M. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16126.
- [68] J. Hernando, P. A. J. de Witte, E. van Dijk, J. Kortrik, R. J. M. Nolte, A. E. Rowan, M. F. Garcia-Parajo, N. F. van Hulst, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4137; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4045.
- [69] J. P. Hoogenboom, J. Hernando, E. van Dijk, N. F. van Hulst, M. F. Garcia-Parajo, *ChemPhysChem* **2007**, *8*, 823.
- [70] J. N. Clifford, T. D. M. Bell, P. Tinnefeld, M. Heilemann, S. M. Melnikov, J. Hotta, M. Sliwa, P. Dedecker, M. Sauer, J. Hofkens, E. K. L. Yeow, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 6987.
- [71] E. K. L. Yeow, S. M. Melnikov, T. D. M. Bell, F. C. De Schryver, J. Hofkens, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 1726.
- [72] F. Cichos, C. von Borczyskowski, M. Orrit, *Curr. Opin. Coll. Interf. Sci.* **2007**, *12*, 272.
- [73] F. Köhn, J. Hofkens, R. Gronheid, M. Van der Auweraer, F. C. De Schryver, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 4808.
- [74] W. T. Yip, D. H. Hu, J. Yu, D. A. Vanden Bout, P. F. Barbara, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 7564.
- [75] K. D. Weston, P. J. Carson, H. Metiu, S. K. Buratto, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 7474.
- [76] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, H. F. Hess, *Science* **2006**, *313*, 1642.
- [77] S. Bretschneider, C. Eggeling, S. W. Hell, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 218103.
- [78] C. Flors, J. Hotta, H. Uji-I, P. Dedecker, R. Ando, H. Mizuno, A. Miyawaki, J. Hofkens, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13970.
- [79] J. Fölling, V. Belov, R. Kunetsky, R. Medda, A. Schönle, A. Egner, C. Eggeling, M. Bossi, S. W. Hell, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6382; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6266.
- [80] J. Fölling, M. Bossi, H. Bock, R. Medda, C. A. Wurm, B. Hein, S. Jakobs, C. Eggeling, S. W. Hell, *Nat. Methods* **2008**, *5*, 943.
- [81] M. Heilemann, E. Margeat, R. Kasper, M. Sauer, P. Tinnefeld, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3801.

- [82] M. Heilemann, S. van de Linde, M. Schüttelpelz, R. Kasper, B. Seefeldt, A. Mukherjee, P. Tinnefeld, M. Sauer, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6266; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6172.
- [83] S. W. Hell, *Science* **2007**, *316*, 1153.
- [84] S. T. Hess, T. P. K. Girirajan, M. D. Mason, *Biophys. J. Biophysical Journal* **2006**, *91*, 4258.
- [85] S. van de Linde, U. Endesfelder, A. Mukherjee, M. Schüttelpelz, G. Wiebusch, S. Wolter, M. Heilemann, M. Sauer, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 465.
- [86] M. J. Rust, M. Bates, X. W. Zhuang, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 793.
- [87] S. van de Linde, M. Sauer, M. Heilemann, *J. Struct. Biol.* **2008**, *164*, 250.
- [88] J. Vogelsang, T. Cordes, P. Tinnefeld, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 486.
- [89] P. G. Debenedetti, F. H. Stillinger, *Nature* **2001**, *410*, 259.
- [90] A. P. Bartko, R. M. Dickson, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 11237.
- [91] A. P. Bartko, R. M. Dickson, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 3053.
- [92] R. M. Dickson, D. J. Norris, W. E. Moerner, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *81*, 5322.
- [93] A. P. Bartko, K. W. Xu, R. M. Dickson, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 026101.
- [94] L. A. Deschenes, D. A. Vanden Bout, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 5850.
- [95] C. Y. J. Wei, Y. H. Kim, R. K. Darst, P. J. Rossky, D. A. Vanden Bout, *Phys. Rev. Lett.* **2005**, *95*, 173001.
- [96] P. Dedecker, B. Muls, A. Deres, H. Uji-i, J. Hotta, M. Sliwa, J. P. Soumillion, K. Müllen, J. Enderlein, J. Hofkens, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1079.
- [97] C. Jung, J. Kirstein, B. Platschek, T. Bein, M. Budde, I. Frank, K. Müllen, J. Michaelis, C. Bräuchle, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1638.
- [98] A. Zürner, J. Kirstein, M. Döblinger, C. Bräuchle, T. Bein, *Nature* **2007**, *450*, 705.
- [99] S. W. Hell, J. Wichmann, *Optics Letters* **1994**, *19*, 780.
- [100] B. Harke, J. Keller, C. K. Ullal, V. Westphal, A. Schoenle, S. W. Hell, *Optics Express* **2008**, *16*, 4154.
- [101] T. A. Klar, S. Jakobs, M. Dyba, A. Egner, S. W. Hell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 8206.
- [102] O. Siiman, A. Jitianu, M. Bele, P. Grom, E. Matijevic, *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *309*, 8.
- [103] M. B. J. Roelfaers, G. De Cremer, H. Uji-i, B. Muls, B. F. Sels, P. A. Jacobs, F. C. De Schryver, D. E. De Vos, J. Hofkens, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 12603.
- [104] M. B. J. Roelfaers, B. F. Sels, H. Uji-i, F. C. De Schryver, P. A. Jacobs, D. E. De Vos, J. Hofkens, *Nature* **2006**, *439*, 572.
- [105] R. Ameloot, M. Roelfaers, M. Baruah, G. De Cremer, B. Sels, D. De Vos, J. Hofkens, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 453.
- [106] S. Jansson, *Encycl. Biol. Chem.* **2004**, *2*, 567.
- [107] P. Horton, A. V. Ruban, R. G. Walters, *Annu. Rev. Pl. Phys. Pl. Mol. Biol.* **1996**, *47*, 655.
- [108] R. MacColl, *J. Struct. Biol.* **1998**, *124*, 311.
- [109] R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 509.
- [110] S. Berciaud, L. Cognet, G. A. Blab, B. Lounis, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 257402.
- [111] S. Berciaud, L. Cognet, B. Lounis, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 2160.
- [112] S. Berciaud, L. Cognet, P. Tamarat, B. Lounis, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 515.
- [113] B. Lounis, M. Orrit, *Rep. Prog. Phys. Rep. Progr. Phys.* **2005**, *68*, 1129.
- [114] M. Treguer, F. Rocco, G. Lelong, A. Le Nestour, T. Cardinal, A. Maali, B. Lounis, *Solid State Sci. Solid State Sciences* **2005**, *7*, 812.
- [115] F. Vögtle, N. Werner, G. Richardt, *Dendritische Moleküle: Konzepte, Synthesen, Eigenschaften, Anwendungen*, 1. Aufl., Vieweg + Teubner, **2007**.
- [116] R. E. Bauer, C. G. Clark, Jr., M. Klapper, L. Zhi, K. Müllen, *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.* **2007**, *48*, 49.
- [117] H. Zhang, P. C. M. Grim, P. Foubert, T. Vosch, P. Vanoppen, U. M. Wiesler, A. J. Berresheim, K. Müllen, F. C. De Schryver, *Langmuir* **2000**, *16*, 9009.
- [118] A. C. Grimsdale, T. Vosch, M. Lor, M. Cotlet, S. Habuchi, J. Hofkens, F. C. De Schryver, K. Müllen, *J. Lumin.* **2005**, *111*, 239.
- [119] D. J. Liu, S. De Feyter, M. Cotlet, A. Stefan, U. M. Wiesler, A. Herrmann, D. Grebel-Koehler, J. Q. Qu, K. Müllen, F. C. De Schryver, *Macromolecules* **2003**, *36*, 5918.
- [120] H. Wolf-Klein, C. Kohl, K. Müllen, H. Paulsen, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3526; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3378.
- [121] T. Gensch, J. Hofkens, A. Heirmann, K. Tsuda, W. Verheijen, T. Vosch, T. Christ, T. Basche, K. Müllen, F. C. De Schryver, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3970; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3752.
- [122] J. Hofkens, L. Latterini, G. De Belder, T. Gensch, M. Maus, T. Vosch, Y. Karni, G. Schweitzer, F. C. De Schryver, A. Herrmann, K. Müllen, *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *304*, 1.
- [123] J. Hofkens, M. Maus, T. Gensch, T. Vosch, M. Cotlet, F. Kohn, A. Herrmann, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9278.
- [124] M. Maus, R. De, M. Lor, T. Weil, S. Mitra, U. M. Wiesler, A. Herrmann, J. Hofkens, T. Vosch, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7668.
- [125] T. Vosch, J. Hofkens, M. Cotlet, F. Kohn, H. Fujiwara, R. Gronheid, K. Van Der Biest, T. Weil, A. Herrmann, K. Müllen, S. Mukamel, M. Van der Auweraer, F. C. De Schryver, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4779; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4643.
- [126] T. Vosch, M. Cotlet, J. Hofkens, K. Van der Biest, M. Lor, K. Weston, P. Tinnefeld, M. Sauer, L. Latterini, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 6920.
- [127] S. Masuo, T. Vosch, M. Cotlet, P. Tinnefeld, S. Habuchi, T. D. M. Bell, I. Oesterling, D. Beljonne, B. Champagne, K. Müllen, M. Sauer, J. Hofkens, F. C. De Schryver, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 16686.
- [128] W. Schroeyers, R. Vallee, D. Patra, J. Hofkens, S. Habuchi, T. Vosch, M. Cotlet, K. Müllen, J. Enderlein, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14310.
- [129] P. Tinnefeld, J. Hofkens, D. P. Herten, S. Masuo, T. Vosch, M. Cotlet, S. Habuchi, K. Müllen, F. C. De Schryver, M. Sauer, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 1786.
- [130] T. Weil, U. M. Wiesler, A. Herrmann, R. Bauer, J. Hofkens, F. C. De Schryver, K. Müllen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8101.
- [131] I. Oesterling, K. Müllen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4595.
- [132] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55.
- [133] J. Hofkens, M. Cotlet, T. Vosch, P. Tinnefeld, K. D. Weston, C. Ego, A. Grimsdale, K. Müllen, D. Beljonne, J. L. Bredas, S. Jordens, G. Schweitzer, M. Sauer, F. C. De Schryver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13146.
- [134] M. Maus, S. Mitra, M. Lor, J. Hofkens, T. Weil, A. Herrmann, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 3961.
- [135] G. De Belder, G. Schweitzer, S. Jordens, M. Lor, S. Mitra, J. Hofkens, S. De Feyter, M. Van der Auweraer, A. Herrmann, T. Weil, K. Müllen, F. C. De Schryver, *ChemPhysChem* **2001**, *2*, 49.
- [136] M. Sliwa, C. Flors, I. Oesterling, J. Hotta, K. Müllen, F. C. De Schryver, J. Hofkens, *J. Phys. Condens. Matter* **2007**, *19*, 445004.
- [137] C. Flors, I. Oesterling, T. Schnitzler, E. Fron, G. Schweitzer, M. Sliwa, A. Herrmann, M. van der Auweraer, F. C. de Schryver, K. Müllen, J. Hofkens, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 4861.
- [138] T. D. M. Bell, S. Habuchi, S. Masuo, I. Oesterling, K. Müllen, P. Tinnefeld, M. Sauer, M. van der Auweraer, J. Hofkens, F. C. De Schryver, in *Conference of the Physical Chemistry Division of the Royal-Australian-Chemistry-Institute*, Hobart (Australia), **2004**, S. 1169.

- [139] C. Hippius, I. H. M. van Stokkum, M. Gsanger, M. M. Groeneveld, R. M. Williams, F. Würthner, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 2476.
- [140] G. McDermott, S. M. Prince, A. A. Freer, A. M. Hawthornthwaite-Lawless, M. Z. Papiz, R. J. Cogdell, N. W. Isaacs, *Nature* **1995**, *374*, 517.
- [141] G. D. Scholes, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2003**, *54*, 57.
- [142] R. Jimenez, S. N. Dikshit, S. E. Bradforth, G. R. Fleming, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 6825.
- [143] J. Yang, M. Park, Z. S. Yoon, T. Hori, X. B. Peng, N. Aratani, P. Dedecker, J. I. Hotta, H. Uji-i, M. Sliwa, J. Hofkens, A. Osuka, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1879.
- [144] M. Park, M. C. Yoon, Z. S. Yoon, T. Hori, X. B. Peng, N. Aratani, J. I. Hotta, H. Uji-i, M. Sliwa, J. Hofkens, A. Osuka, D. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3539.
- [145] K. Becker, P. G. Lagoudakis, G. Gaefke, S. Hoger, J. M. Lupton, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 3520; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3450.
- [146] J. M. Serin, D. W. Brousmiche, J. M. J. Frechet, *Chem. Commun.* **2002**, 2605.
- [147] M. Gingras, V. Placide, J. M. Raimundo, G. Bergamini, P. Ceroni, V. Balzani, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 10357.
- [148] G. Hinze, R. Métivier, F. Nolde, K. Müllen, T. Basché, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 124516.
- [149] G. Hinze, M. Haase, F. Nolde, K. Müllen, T. Basché, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 6725.
- [150] P. G. Van Patten, A. P. Shreve, J. S. Lindsay, R. J. Donohoe, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 4209.
- [151] M. Heilemann, P. Tinnefeld, G. S. Mosteiro, M. G. Parajo, N. F. Van Hulst, M. Sauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6514.
- [152] M. Heilemann, R. Kasper, P. Tinnefeld, M. Sauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16864.
- [153] A. Adronov, J. M. J. Frechet, *Chem. Commun.* **2000**, 1701.
- [154] M. Maus, E. Rousseau, M. Cotlet, G. Schweitzer, J. Hofkens, M. Van der Auweraer, F. C. De Schryver, A. Krueger, *Rev. Sci. Instrum.* **2001**, *72*, 36.
- [155] U. M. Wiesler, T. Weil, K. Müllen, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *212*, 1.
- [156] R. Gronheid, J. Hofkens, F. Kohn, T. Weil, E. Reuther, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2418.
- [157] M. Cotlet, R. Gronheid, S. Habuchi, A. Stefan, A. Barbafina, K. Müllen, J. Hofkens, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13609.
- [158] T. Weil, E. Reuther, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1980; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1900.
- [159] B. K. Kaletas, R. Dobrawa, A. Sautter, F. Würthner, M. Zimine, L. De Cola, R. M. Williams, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 1900.
- [160] M. J. Ahrens, L. E. Sinks, B. Rybtchinski, W. H. Liu, B. A. Jones, J. M. Giaimo, A. V. Gusev, A. J. Goshe, D. M. Tiede, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8284.
- [161] M. W. Holman, R. C. Liu, D. M. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12649.
- [162] T. D. M. Bell, A. Stefan, S. Masuo, T. Vosch, M. Lor, M. Cotlet, J. Hofkens, S. Bernhardt, K. Müllen, M. van der Auweraer, J. W. Verhoeven, F. C. De Schryver, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 942.
- [163] M. Cotlet, S. Masuo, M. Lor, E. Fron, M. Van der Auweraer, K. Müllen, J. Hofkens, F. De Schryver, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6242; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6116.
- [164] M. Cotlet, S. Masuo, G. Luo, J. Hofkens, M. van der Auweraer, J. Verhoeven, K. Müllen, X. S. Xie, F. de Schryver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 14343.
- [165] J. Qu, J. Zhang, A. C. Grimsdale, K. Müllen, F. Jaiser, X. Yang, D. Neher, *Macromolecules* **2004**, *37*, 8297.
- [166] J. E. Moser, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 723.
- [167] Y. Shirota, Y. Kuwabara, H. Inada, T. Wakimoto, H. Nakada, Y. Yonemoto, S. Kawami, K. Imai, *Appl. Phys. Lett.* **1994**, *65*, 807.
- [168] S. Djurovic, N. Iversen, S. Jeansson, F. Hoover, G. Christensen, *Mol. Biotechnol.* **2004**, *28*, 21.
- [169] T. Weil, M. A. Abdalla, C. Jatzke, J. Hengstler, K. Müllen, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 68.
- [170] J. Rodríguez-Hernández, J. Qu, E. Reuther, H.-A. Klok, K. Müllen, *Polym. Bull.* **2004**, *52*, 57.
- [171] A. Margineanu, J. Hotta, R. A. Vallée, M. Van der Auweraer, M. Ameloot, A. Stefan, D. Beljonne, Y. Engelborghs, A. Herrmann, K. Müllen, F. C. De Schryver, J. Hofkens, *Biophys. J.* **2007**, *93*, 2877.
- [172] R. A. L. Vallée, M. Cotlet, M. Van der Auweraer, J. Hofkens, K. Müllen, F. C. De Schryver, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2296.
- [173] J. Qu, C. Kohl, M. Pottek, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1554; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1528.
- [174] B. N. G. Giepmans, S. R. Adams, M. H. Ellisman, R. Y. Tsien, *Science* **2006**, *312*, 217.
- [175] T. Ha, T. Enderle, D. F. Ogletree, D. S. Chemla, P. R. Selvin, S. Weiss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 6264.
- [176] <http://www.invitrogen.com>.
- [177] <http://www.atto-tec.com>.
- [178] S. Thomas, K. Ulrich, R. Daniel, N. Uli, *Single Mol.* **2002**, *3*, 327.
- [179] K. Peneva, G. Mihov, A. Herrmann, N. Zarrabi, M. Borsch, M. Duncan Thomas, K. Müllen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5398.
- [180] K. Peneva, G. Mihov, F. Nolde, S. Rocha, J.-i. Hotta, K. Braeckmans, J. Hofkens, H. Uji-i, A. Herrmann, K. Müllen, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3420; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3372.
- [181] C. R. Goldsmith, J. Jaworski, M. Sheng, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 418.
- [182] S. Lata, M. Gavutis, R. Tampe, J. Piehler, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2365.
- [183] A. N. Kapanidis, Y. W. Ebricht, R. H. Ebricht, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12123.
- [184] C. Joo, H. Balci, Y. Ishitsuka, C. Buranachai, T. Ha, *Annu. Rev. Biochem.* **2008**, *77*, 51.
- [185] S. Rocha, J. A. Hutchison, K. Peneva, A. Herrmann, K. Müllen, M. Skjöt, C. I. Jørgensen, A. Svendsen, F. C. De Schryver, J. Hofkens, H. Uji-i, *ChemPhysChem* **2009**, *10*, 151.
- [186] R. Kasper, M. Heilemann, P. Tinnefeld, M. Sauer, „Towards ultra-stable fluorescent dyes for single-molecule spectroscopy,” in *Biophotonics 2007: Optics in Life Science* (Hrsg.: J. Popp, G. von Bally), Vol. 6633 of *Proceedings of SPIE-OSA Biomedical Optics* (Optical Society of America, **2007**), Paper 6633_71.
- [187] R. Prekeris, J. Klumperman, R. H. Scheller, *Molecules Molecular Cell* **2000**, *6*, 1437.
- [188] M. Belting, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, *28*, 145.
- [189] K. Hizume, S. H. Yoshimura, K. Takeyasu, *Biochemistry* **2005**, *44*, 12978.
- [190] M. Yin, R. Bauer, M. Klapper, K. Müllen, *Macromol. Chem. Phys.* **2007**, *208*, 1646.
- [191] M. Yin, K. Ding, R. Gropeanu, J. Shen, R. Berger, T. Weil, K. Müllen, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 3231.
- [192] M. Yin, C. Kuhlmann, K. Sorokina, C. Li, G. Mihov, E. Pietrowski, K. Koynov, M. Klapper, H. Luhmann, K. Müllen, T. Weil, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1381.
- [193] M. Yin, J. Shen, R. A. Gropeanu, G. O. Pflugfelder, T. Weil, K. Müllen, *Small* **2008**, *4*, 894.
- [194] M. Yin, J. Shen, G. O. Pflugfelder, K. Müllen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7806.