

Steigerung der Interkombinationseffizienz in Phenothiazinfarbstoffen durch Einlagerung in DNA**

Juan J. Nogueira,* Markus Oppel und Leticia González*

Abstract: Phenothiazinfarbstoffe werden als Photosensibilisatoren in der photodynamischen Therapie eingesetzt. Ihr Wirkmodus ist eng an die Erzeugung von angeregten Triplettzuständen durch Interkombination geknüpft. Das Verständnis der Faktoren, welche die Interkombination beeinflussen, ist daher essenziell zur Verbesserung der Wirksamkeit der photodynamischen Therapie. Wir setzen eine Kombination aus quantenmechanischen und molekülmechanischen Rechenverfahren ein, um die Effekte einer wässrigen und einer DNA-Umgebung auf den Mechanismus der Interkombination in Methylenblau zu untersuchen. Dabei stellt sich heraus, dass die Erzeugung von Triplettzuständen stark von der Umgebung beeinflusst wird. Während die Interkombination in Wasser ausschließlich durch vibronische Spin-Bahn-Kopplungen ausgelöst wird, findet sich in DNA-Umgebung ein weiterer, durch elektronische Spin-Bahn-Kopplung vermittelter Weg. Konkurrierende, in DNA-Umgebungen ebenfalls mögliche Ladungstransferprozesse können daher unterdrückt werden, um die Wirksamkeit der photodynamischen Therapie zu erhöhen.

Photodynamische Therapie (PDT) ist ein Ansatz zur Behandlung von Krebs und Infektionen,^[1] der durch seinen nichtinvasiven Charakter^[2] eine mögliche Alternative zu herkömmlichen Antitumorthérapien darstellt. Die Erzeugung von Triplettzuständen durch Interkombination („intersystem crossing“, ISC) ist dabei der Schlüsselprozess, der die, letztendlich zum Zelltod führenden, oxidativen Schädigungen auslöst. Dabei kann sowohl ein Elektronentransfer auf benachbarte Biomoleküle (Typ I) als auch ein Energietransfer auf Sauerstoffmoleküle der Umgebung (Typ II) Auslöser des Prozesses sein (Abbildung 1). Daher lässt sich der therapeutische Effekt des Photosensibilisators mit der Quantenausbeute der ISC korrelieren, und letztere hängt stark von den Wechselwirkungen zwischen dem Sensibilisator und den Zielmolekülen ab.

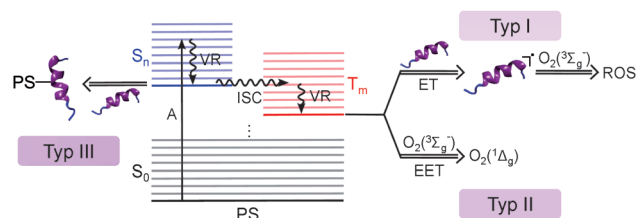


Abbildung 1. Mechanismen der Photosensibilisierung: Ein Photosensibilisator (PS) wird nach Absorption von Strahlung (A) in den hellen Zustand S_n angeregt. Schwingungsrelaxation (VR) deaktiviert den PS in den Schwingungsgrundzustand. Nun können verschiedene Prozesse stattfinden: Interkombination (ISC) zu Triplettzuständen T_m (Typ I und II) oder eine chemische Reaktion mit Biomolekülen der Umgebung (Typ III). Im ersten Fall kann der PS im Triplettzustand einen Elektronentransfer (ET, Typ I) oder einen Transfer der Anregungsenergie (EET, Typ II) in die Umgebung auslösen, was letztendlich zum Zelltod führt.

Unter anderem werden auf Phenothiazinfarbstoffen basierende Photosensibilisatoren (Abbildung 2a) in der PDT gegen Tumorzellen^[3–5] und Mikroorganismen^[6–8] eingesetzt.

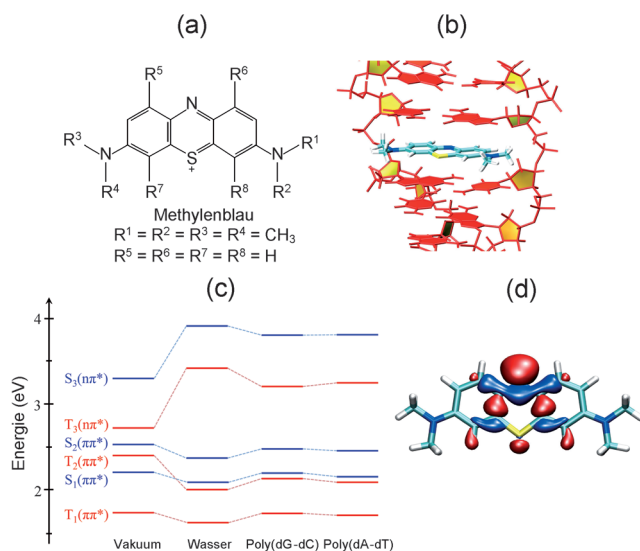


Abbildung 2. Struktur, Energien und Orbitale von Methylenblau (MB). a) Allgemeine Strukturformel von Phenothiazinen und Substituenten von MB. b) MB eingelagert in Poly(dG-dC), mit paralleler Ausrichtung der aromatischen Ringe des Farbstoffs und der Nukleobasen. Farbcodierung der Atome: cyan: C, blau: N, gelb: S, weiß: H. Farbcodierung der Molekülteile: Guanin und Cytosin: rot, Zucker: gelb. c) Vertikale Anregungsenergien und Charaktere der drei niedrigsten Singulett- und Triplettzustände von MB in der Gasphase, in wässriger Lösung, in Poly(dG-dC) und in Poly(dA-dT); siehe auch Tabelle S1. d) Nichtbindendes Orbital, welches zu den $S_3(n\pi^*)$ - und $T_3(n\pi^*)$ -Zuständen beiträgt.

[*] Dr. J. J. Nogueira, Dr. M. Oppel, Prof. L. González
Institut für Theoretische Chemie, Universität Wien
Währinger Straße 17, 1090 Wien (Österreich)
E-Mail: nogueira.perez.juanjose@univie.ac.at
leticia.gonzalez@univie.ac.at
Homepage: <http://www.theochem.univie.ac.at>

[**] J.J.N. bedankt sich bei der EU für die finanzielle Unterstützung durch ein Marie-Curie-Individualstipendium (Ausschreibung FP7-PEOPLE-2012-IEF), Projekt „PHOTOBLUE“ (Projektnummer 327412). Die Ergebnisse wurden teilweise mithilfe des Vienna Scientific Clusters (VSC) erzielt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201411456> zu finden.

Ihre planare Struktur ermöglicht eine Bindung an DNA durch eine parallele Einlagerung zwischen den Nukleinbasen (Abbildung 2b). Zahlreiche spektroskopische Studien^[9–12] bestätigen dabei die Einlagerung als den bevorzugten Bindungsmodus von Phenothiazinderivaten. Unter den vielen Phenothiazinen ist Methylenblau (MB) das bei Weitem am häufigsten untersuchte Derivat im Zusammenhang mit PDT.^[2] MB löst Typ-II-Prozesse aus, indem es Singulett-Sauerstoff $O_2(^1\Delta_g)$ (mit einer Quantenausbeute von 0.52 in Wasser) erzeugt. Innerhalb der Zelle hat Singulett- $O_2(^1\Delta_g)$ eine kurze Lebensdauer (0.01–0.02 μs),^[14] weshalb der Kontakt zwischen dem Photosensibilisator und den Biomolekülen sehr wichtig für die Wirksamkeit der PDT-Behandlung ist.

Da MB, und Phenothiazine im Allgemeinen, bevorzugt nichtkovalent an DNA binden, wurden Elektronenstrukturrechnungen an in DNA eingelagertes MB durchgeführt. Es wurde die Interkalation für zwei verschiedene DNA-Stränge (solvatisierte Dodecamere, bestehend aus alternierenden Guanin-Cytosin- oder Adenin-Thymin-Sequenzen) simuliert. Diese Ergebnisse wurden mit denen für MB im Vakuum und in wässriger Lösung verglichen. Wie unsere Analyse zeigt, hängt die Photophysik von MB wesentlich von seiner Umgebung ab, mit drastischen Konsequenzen für die PDT. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse sehen wir Möglichkeiten, in DNA eingebettetes MB so zu modifizieren, dass sich die ISC und damit die Wirksamkeit der PDT stark erhöhen.

Bei den Rechnungen kam ein kombiniertes quanten- und molekülmechanisches (QM/MM) Verfahren zum Einsatz. Der Farbstoff wurde dabei quantenmechanisch mit der MSCASPT2-Methode („multistate complete active space second-order perturbation“^[15]) berechnet und die Umgebung mithilfe eines Amber-Kraftfelds beschrieben.^[16] Die vertikalen Anregungsenergien wurden durch Mittelung über 50 Konfigurationen einer 40-ns-Trajektorie des elektronischen Grundzustandes berechnet^[17] (siehe Abschnitt S1 der Hintergrundinformationen). Abbildung 2c zeigt die vertikalen Anregungsenergien und die Charaktere der drei niedrigsten Singulett- und Triplettzustände (siehe auch Tabelle S1). Die Anregungsenergien variieren stark mit der Umgebung. Für den Farbstoff gelöst in Wasser beobachtet man eine Rotverschiebung der $\pi\pi^*$ -Zustände um 0.1 bis 0.4 eV und eine Blauverschiebung der $n\pi^*$ -Zustände um 0.6 bis 0.7 eV, jeweils relativ zur Vakuumenergie. Der gleiche Trend, wenn auch weniger stark ausgeprägt, lässt sich nach Einbettung des Farbstoffs in DNA beobachten. Das in den Doppelstrang eingebettete MB ist daher partiell von den Umgebungseffekten abgeschirmt. Die gute Übereinstimmung der Anregungsenergie des spektroskopisch hellen $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustands in wässriger Lösung, 2.09 eV, mit dem experimentellen Wert von 1.9 eV bestätigt die Ergebnisse.^[18]

Normalerweise erwartet man eine effiziente Interkombination wenn die beteiligten Singulett- und Triplettzustände an einem Punkt im Phasenraum energetisch entartet oder zumindest fast entartet sind, und die entsprechende Spin-Bahn-Kopplung („spin-orbit coupling“, SOC) nicht vernachlässigbar ist. Gemäß der Regel von El-Sayed^[19] treten starke SOCs zwischen Zuständen mit unterschiedlichem Charakter auf. Aufgrund dieser Annahmen und unter Berücksichtigung von $S_1(\pi\pi^*)$ als spektroskopisch heller Zustand lässt sich eine ISC

zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ erwarten. Wie aus Abbildung 2c ersichtlich, erhöht sich die Energiedifferenz zwischen diesen beiden Zuständen von 0.51 eV im Vakuum auf 1.34 eV in wässriger Lösung. Eingebettet in DNA liegen die Werte dazwischen – 1.00 eV für Poly(dG-dC) und 1.09 eV für Poly(dA-dT). Die Vergrößerung der Energiedifferenz in wässriger Lösung (und zu einem geringeren Anteil in DNA) ist eine direkte Folge der Rotverschiebung des $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustandes und der Blauverschiebung des $T_3(n\pi^*)$ -Zustandes. Erklären lässt sich die Stabilisierung des $\pi\pi^*$ -Zustandes in Wasser durch einen Blick auf die Dipolmomente der verschiedenen Zustände. Wie in Tabelle S2 zu sehen, nehmen die Dipolmomente der $S_1(\pi\pi^*)$ -, $S_2(\pi\pi^*)$ -, $T_1(\pi\pi^*)$ - und $T_2(\pi\pi^*)$ -Zustände im Vergleich zum S_0 -Wert zu. Dies hat eine Verringerung der Anregungsenergie und damit eine Stabilisierung dieser Zustände zur Folge. Andererseits findet man kleinere Dipolmomente für die $T_3(n\pi^*)$ - und $S_3(n\pi^*)$ -Zustände, wodurch deren Energie erhöht wird. Die starke Erhöhung der $n\pi^*$ -Energie deutet auf einen zusätzlichen Effekt hin, nämlich die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen dem N-Atom des zentralen Rings von MB (Abbildung 2a) und einem benachbarten Wassermolekül. Diese Wechselwirkung stabilisiert das nichtbindende Orbital (Abbildung 2d), das für den Übergang vom Grundzustand in den $n\pi^*$ -Zustand eine wichtige Rolle spielt. Dies führt letztendlich zu einer zusätzlichen Blauverschiebung. Die Bildung der Wasserstoffbrücken wird nach Einbettung von MB in die Nukleinsäurekette erschwert, da nun der Farbstoff von den umgebenden Lösungsmittelmolekülen abgeschirmt wird (siehe weitere Details in Abschnitt S1). Die verringerte Wasserstoffbrückenbildung nach Einbettung in DNA, im Vergleich zur wässrigen Lösung, bewirkt eine kleinere Blauverschiebung der $n\pi^*$ -Zustände.

Die im Vergleich zur wässrigen Lösung kleinere $S_1(\pi\pi^*)$ - $T_3(n\pi^*)$ -Energiedifferenz des in DNA eingebetteten MBs lässt eine effizientere ISC zwischen dem $S_1(\pi\pi^*)$ - und dem $T_3(n\pi^*)$ -Zustand vermuten. Zur Überprüfung dieser Hypothese werden Strukturen jenseits der Franck-Condon-Region untersucht. Dazu wurden die Energien und die elektronischen SOCs entlang eines linear interpolierten Pfades zwischen den optimierten $S_1(\pi\pi^*)$ - und $T_3(n\pi^*)$ -Strukturen berechnet. Wie Abbildung 3 zeigt, sind die Energieprofile des Farbstoffs im Vakuum und eingebettet in DNA sehr ähnlich, während sie sich stark von den Kurven für die wässrige Lösung unterscheiden. Sowohl im Vakuum als auch in DNA eingebettet findet sich eine Kreuzung zwischen den $S_1(\pi\pi^*)$ - und $T_3(n\pi^*)$ -Zuständen, welche die ISC verstärkt. Im Wasser verschwindet, aufgrund der Erhöhung der Energie des $T_3(n\pi^*)$ -Zustandes durch die sich bildenden Wasserstoffbrücken, diese Kreuzung. Der DNA-Hohlraum bildet also eine Mikroumgebung, welche, ähnlich dem Vakuum, den Farbstoff vom externen Lösungsmittel abschirmt – ein Effekt, der vor kurzem auch in einer theoretischen Arbeit an 4',6-Diamidino-2-phenylindol beschrieben wurde.^[20] Obwohl die elektronischen SOCs entlang der linear interpolierten Pfade (Abbildung 3) nicht sehr ausgeprägt sind (1–8 cm^{-1}), sollten sie trotzdem ISC sowohl im Vakuum als auch in DNA-Umgebung auslösen, solange $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ energetisch benachbart sind. Tatsächlich genügen SOC-Werte zwischen 0.1

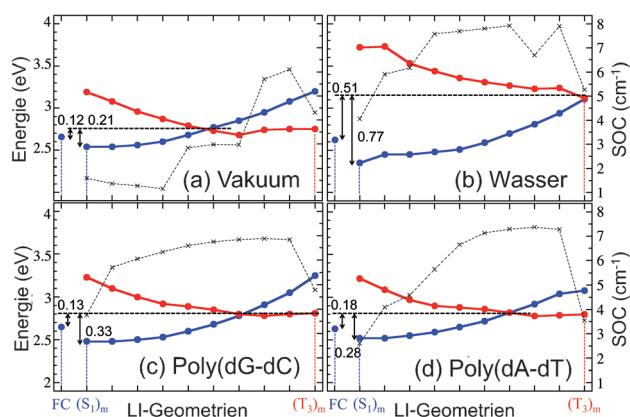


Abbildung 3. Linear interpolierte Pfade (LI) zwischen der minimierten $S_1(\pi\pi^*)$ -Geometrie, $(S_1)_m$, und der minimierten $T_3(n\pi^*)$ -Geometrie, $(T_3)_m$. Die vertikalen Linien entsprechen den Geometrien am Franck-Condon-Punkt (FC), am Minimum des S_1 Zustandes ($(S_1)_m$) beziehungsweise am Minimum des T_3 -Zustandes ($(T_3)_m$). Die Energien der $S_1(\pi\pi^*)$ - und $T_3(n\pi^*)$ -Zustände sind durch rote bzw. blaue Linien dargestellt. Die schwarze Linie zeigt die elektronische Spin-Bahn-Kopplung entlang der LI-Pfade. Die Zahlen im Inneren der Diagramme zeigen die Energiebarrieren (in eV) zum $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustand von der Franck-Condon-Region und vom Minimum des Potentialtopfs. Die Ergebnisse sind dargestellt für Methyleneblau im Vakuum (a), in wässriger Lösung (b), in Poly(dG-dC) (c) und in Poly(dA-dT) (d).

und 5.0 cm^{-1} , um ISC auf einer Nanosekundenzeitskala zu initiieren.^[21]

Nach Anregung in den optisch aktiven Zustand $S_1(\pi\pi^*)$ deaktivieren einige Farbstoffmoleküle zum Schwingungsgrundzustand durch Dissipation der Schwingungsenergie an die Umgebung, während andere Moleküle genügend Schwingungsenergie besitzen, um die Barriere der $S_1(\pi\pi^*)$ - $T_3(n\pi^*)$ -Kreuzung zu überwinden und somit ISC eingehen. Die Barrierenhöhen, bezüglich des Minimums des $S_1(\pi\pi^*)$ -Potentialtopfs sowie des Franck-Condon-Punkts, sind in Abbildung 3 gezeigt. In wässriger Lösung findet man relativ große Barrieren von 0.77 eV (zum Minimum) bzw. 0.51 eV (zum Franck-Condon-Punkt). Im Vakuum und eingebettet in DNA sind diese Barrieren deutlich niedriger, nämlich zwischen 0.15 eV (relativ zum Franck-Condon-Punkt) bzw. 0.30 eV (relativ zum Minimum). Dies lässt ISC zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ im Vakuum und in DNA Umgebung energetisch bevorzugt erscheinen, während es in wässriger Lösung kaum vorhanden sein sollte. Dennoch findet man eine relativ große Quantenausbeute der $O_2(^1\Delta_g)$ -Erzeugung in Wasser (0.52).^[13] Dieser scheinbare Widerspruch löst sich allerdings auf, wenn man bedenkt, dass die Kopplung zwischen elektronischen und vibronischen Freiheitsgraden (vibronische SOC) bei Zuständen gleichen Charakters ebenfalls zur ISC beitragen kann.

Kürzlich wurde in einer theoretischen Arbeit^[22] die Folgerung gezogen, dass bei den eng verwandten Thioninfarbstoffen die Triplettterzeugung in wässriger Lösung ausschließlich auf vibronische Kopplungen, insbesondere Deformationsschwingungen, zwischen den $S_1(\pi\pi^*)$ - und $T_2(\pi\pi^*)$ -Zuständen zurückzuführen ist. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen MB und Thioninen ist es sehr

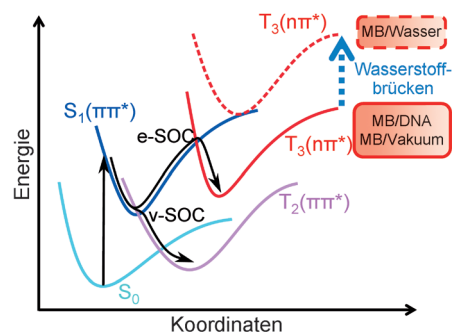


Abbildung 4. Mechanismus der Bildung von Triplett-Methyleneblau (MB) im Vakuum, in Wasser und in DNA. Im Vakuum und in Nukleinsäureumgebung wird die Interkombination vom hellen $S_1(\pi\pi^*)$ in die Triplett-Zustände $T_2(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ durch vibronische beziehungsweise durch elektronische Spin-Bahn-Kopplungen (v-SOC und e-SOC) ausgelöst. Dagegen wird in wässriger Lösung der $T_3(n\pi^*)$ -Zustand durch die Bildung von Wasserstoffbrücken destabilisiert, weshalb nur der Übergang mittels vibronischer Kopplung möglich ist.

wahrscheinlich, dass die im Wasser experimentell beobachtete starke ISC^[13] von MB ebenso durch vibronische Kopplungen zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_2(\pi\pi^*)$ vermittelt wird, wie in Abbildung 4 illustriert. Diese Hypothese wird auch durch die ähnlichen Anregungsenergien des $S_1(\pi\pi^*)$ - und des $T_2(\pi\pi^*)$ -Zustandes (2.09 eV bzw. 2.02 eV) in wässriger Lösung gestützt (Abbildung 2c). In DNA eingebettetes MB sollte diesen Effekt auch zeigen, da auch unsere Moleküldynamiksimulationen^[17] Deformationsschwingungen zeigen und die $S_1(\pi\pi^*)$ - und $T_2(\pi\pi^*)$ -Zustände ebenfalls nahe beieinanderliegen (Abbildung 2c).

Diese Ergebnisse sagen eine Verstärkung der ISC für einen in DNA eingebetteten Farbstoff voraus, da sowohl die rein elektronische SOC zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ als auch die vibronische SOC zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ zur Triplettterzeugung beitragen können (Abbildung 4). Leider steht diese Schlussfolgerung im Widerspruch zu Laserblitzlichtexperimenten, die zeigen, dass die Triplettterzeugung bei Zugabe von Poly(dG-dC) abnimmt.^[23] Diese Ergebnisse lassen sich allerdings durch das Auslöschung des $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustands des Farbstoffs durch einen Elektronentransfer von den Guanineinheiten erklären.^[23] Da das Reduktionspotential von MB im $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustand (1.89 V) größer als das von Guanin (1.53 V) ist, wird die Reduktion des Singulettzustandes des Farbstoffs begünstigt.

Um die Quantenausbeute der Triplettterzeugung (und damit die Effizienz der PDT) nach Einbettung in DNA zu erhöhen, schlagen wir deshalb vor, MB so zu funktionalisieren, dass das Reduktionspotential gesenkt und damit der Elektronentransfer von den Nukleinsäuren blockiert wird. Dies sollte zum Beispiel durch das Einführen von elektronenliefernden Substituenten möglich sein. Dabei sind zwei Faktoren zu berücksichtigen: Erstens sollte die eingesetzte funktionelle Gruppe die Energielücke zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und den Triplett-Zuständen $T_2(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$ nicht vergrößern. Zweitens sollten die Substituenten nicht voluminös sein, da die Interkalation nur für kleine planare Moleküle der bevorzugte Bindungsmodus ist. Größere Moleküle tendieren zur Einlagerung in die kleine oder große Grube der DNA,

wodurch es zur Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Nukleinsbasen und dem funktionalisierten MB kommt. Dies führt, genau wie in wässriger Lösung, zu einer Vergrößerung der Energielücke zwischen $S_1(\pi\pi^*)$ und $T_3(n\pi^*)$.

Zusammengefasst zeigen unsere QM/MM-Untersuchungen unterschiedliche ISC-Mechanismen in Wasser und in DNA. In wässriger Lösung wird die elektronische SOC durch Bildung von Wasserstoffbrücken mit dem umgebenden Lösungsmittel unterdrückt. Dies lässt nur noch die vibronische SOC als Auslöser der ISC übrig. Dagegen wird der Farbstoff durch Einlagerung in DNA von den Lösungsmittelmolekülen abgeschirmt, wodurch neben der vibronischen auch die elektronische SOC aktiviert wird, was zu einer Verstärkung der ISC führt. Experimentell^[23] lässt sich dieser Effekt nicht beobachten, da der $S_1(\pi\pi^*)$ -Zustand durch Elektronentransfer zu den Nukleinsbasen deaktiviert wird. Daher sollte sich die Wirksamkeit von MB als PDT-Reagens deutlich steigern lassen, wenn der Elektronentransfer durch eine strukturelle Funktionalisierung des Farbstoffs mit kleinen Elektronendonorsubstituenten blockiert wird.

Stichwörter: Interkombination · Photochemie · Photodynamische Therapie · QM/MM · Wasserstoffbrücken

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 4375–4378
Angew. Chem. **2015**, 127, 4450–4453

-
- [1] A. E. O'Connor, W. M. Gallagher, A. T. Byrne, *Photochem. Photobiol.* **2009**, 85, 1053.
- [2] J. P. Tardivo, A. Del Giglio, C. S. De Oliveira, D. S. Gabrielli, H. C. Junqueira, D. B. Tada, D. Severino, R. De Fátima Turchiello, M. S. Baptista, *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2005**, 2, 175.
- [3] G. J. Fowler, R. C. Rees, R. Devonshire, *Photochem. Photobiol.* **1990**, 52, 489.
- [4] K. J. Mellish, R. D. Cox, D. I. Vernon, J. Griffiths, S. B. Brown, *Photochem. Photobiol.* **2002**, 75, 392.
- [5] K. Orth, D. Russ, G. Beck, A. Rück, H. G. Beger, *Langenbecks Arch. Surg.* **1998**, 383, 276.
- [6] T. Dai, V. J. Bil De Arce, G. P. Tegos, M. R. Hamblin, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 5710.
- [7] X. Ragàs, T. Dai, G. P. Tegos, M. Agut, S. Nonell, M. R. Hamblin, *Lasers Surg. Med.* **2010**, 42, 384.
- [8] T. W. Wong, Y. Y. Wang, H. M. Sheu, Y. C. Chuang, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, 895.
- [9] P. Paul, G. S. Kumar, *J. Fluoresc.* **2012**, 22, 71.
- [10] P. Paul, G. Suresh Kumar, *Spectrochim. Acta Part A* **2013**, 107, 303.
- [11] E. Tuite, J. M. Kelly, *Biopolymers* **1995**, 35, 419.
- [12] E. Tuite, B. Nordin, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7548.
- [13] J. M. Fernandez, M. D. Bilgin, L. I. Grossweiner, *J. Photochem. Photobiol. B* **1997**, 37, 131.
- [14] K. Hirakawa, T. Hirano, *Photochem. Photobiol.* **2008**, 84, 202.
- [15] J. Finley, P. Å. Malmqvist, B. O. Roos, L. Serrano-Andrés, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 288, 299.
- [16] J. Wang, P. Cieplak, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.* **2000**, 21, 1049.
- [17] J. J. Nogueira, L. González, *Biochemistry* **2014**, 53, 2391.
- [18] L. Z. Zhang, G. Q. Tang, *J. Photochem. Photobiol. B* **2004**, 74, 119.
- [19] S. K. Lower, M. A. El-Sayed, *Chem. Rev.* **1966**, 66, 199.
- [20] A. Biancardi, T. Biver, F. Secco, B. Mennucci, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, 15, 4596.
- [21] M. Klessinger in *Theoretical Organic Chemistry—Theoretical and Computational Chemistry* (Hrsg.: C. Párkányi), Elsevier, Amsterdam, **1998**, S. 581.
- [22] A. Rodríguez-Serrano, V. Rai-Constapel, M. C. Daza, M. Doerr, C. M. Marian, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, 11, 1860.
- [23] J. M. Kelly, W. J. van der Putten, D. J. McConnell, *Photochem. Photobiol.* **1987**, 45, 167.

Eingegangen am 26. November 2014
Online veröffentlicht am 6. Februar 2015