

---

# Auf dem Weg zu multifunktionalen Bodipy-Farbstoffen

---

Dissertation  
zur Erlangung des Grades  
des Doktors der Naturwissenschaften  
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes

von

Caroline Hoffmann, M. Sc.

Saarbrücken

2021

Tag des Kolloquiums: 09.02.2022

Dekan: Prof. Dr. Jörn Erik Walter

Berichterstatter: Prof. Dr. Gregor Jung  
Prof. Dr. Andreas Speicher

Vorsitz: Prof. Dr. Johann Jauch

Akad. Mitarbeiter: Dr. Bernd Morgenstern

# Danksagung

Hier möchte ich die Gelegenheit nutzen, mich bei den Menschen zu bedanken, die mir in meinem Leben bis jetzt zur Seite gestanden haben und auch immer für mich da waren.

Ein großer Dank geht an meinen Doktorvater Prof. Dr. Gregor Jung, der mir mit diesem interessanten und vielfältigen Thema die Möglichkeit geboten hat, meine Doktorarbeit bei ihm zu gestalten. Besonders nennenswert sind hier sein stetes Interesse an meiner Arbeit und das offene Ohr, sowie das unglaubliche Vertrauen, das er die letzten Jahre in mich gesteckt hat und mir damit dazu verhalf, mich (teilweise) zu einem Schmetterling zu entwickeln.

Danken möchte ich auch Prof. Dr. Andreas Speicher, der mir als wissenschaftlicher Begleiter gerne mit Rat und Tat zur Seite stand. Auch seiner Bereitschaft die Zweitbegutachtung zu übernehmen möchte ich hier danken.

Meinen Dank möchte ich hier auch an Prof. Dr. Alexander Titz richten, der mir in Diskussionen immer hilfreiche Tipps gegeben hat.

Für eine erfolgreiche Zusammenarbeit und zahlreiche schöne Diskussionen möchte ich mich auch bei Tobias Stemler und Mark Bartholomä bedanken.

Darüber hinaus möchte ich Dr. Volker Huch, in seinem wohlverdienten Ruhestand, für die Bereitstellung der Kristallstrukturen über die Jahre hinweg danken. Auch seinem Nachfolger Dr. Bernd Morgenstern gilt ein besonderer Dank für seinen unermüdlichen Einsatz bei der Analyse der Kristalle und seine Hilfsbereitschaft. Für die Messungen der Massenspektren möchte ich meinen Dank an Dr. Klaus Hollemeyer richten.

Während des Studiums habe ich viele neue Freunde kennengelernt, denen ich hier ebenfalls danken möchte und einige noch namentlich nennen will. Andrea Pyttlik möchte ich danken, die auch in einer sehr schweren Zeit zu mir gestanden und sich immer nach dem aktuellen Stand erkundigt hat. Yannik Heider danke ich für die schöne Zeit, die wir in einem gemeinsamen Abzug in den Organik-Praktika hatten. Lukas Klemmer, Thomas Büttner und Yvonne Kaiser möchte ich für die schöne gemeinsame Zeit ebenfalls danken. Insbesondere Thomas und Yvonne möchte ich noch für die NMR-Messungen danken, die ihr ermöglicht habt. Auch bei Julia Buchheit möchte ich mich bedanken für all die gemeinsamen Praktika und Stunden, die wir auf der Uni zusammen verbracht haben.

Allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern vom AK Jung möchte ich hier auch ein Dank aussprechen. So war die Labor-, Büro- und Freizeit mit Anne, Ann-Christin, Daniel, Johannes, Julia, Mara, Matthias, Sascha, Stephan und Viktoria immer eine schöne und oft kurzweilige Sache, die ich nicht missen möchte. Insbesondere meinen Synthese-Mädels möchte ich hier für schöne Diskussionen und auch für das ein oder andere Feierabend-Bierchen danken. Vor

allem auch Matthias und Sascha bin ich sehr dankbar, die mir in spektroskopischen Fragen immer gerne mit Rat und Tat zur Seite standen. Ich möchte auch die Gelegenheit nutzen hier ein besonderes Dankeschön an Minh zu richten, der mich in meiner Bachelorzeit als Betreuer nicht nur wichtige Dinge fürs Labor, sondern auch fürs Leben gelehrt hat und der darüber hinaus auch während meiner Promotion immer für Diskussionen oder Spieleabende zur Verfügung stand. Meinen drei Bachelor-Studenten, Julia, Mara und Sebastian, möchte ich hier sagen, dass sie wirklich gute und angenehme Betreuungen ermöglicht haben.

Allen Freunden die mich während meines bisherigen Lebens begleitet und unterstützt haben gebührt ebenfalls ein großes Dankeschön. Vor allem hervorheben möchte ich hier Rebecca, Jonas, Katrin, Tim und Pascal die mich immer tatkräftig unterstützt haben und ohne die mancher Abend eher langweilig gewesen wäre.

Vor allem möchte ich hier aber auch meiner Familie danken. Meinen Eltern, die mich immer in allem unterstützt und mir immer den Rücken freigehalten haben, meinem Bruder, der immer auf seine kleine Schwester aufgepasst hat, meinem Freund, der immer für mich da war und Verständnis gezeigt hat, auch wenn die freie Zeit während des Studiums häufig sehr selten war und auch allen anderen Familienmitgliedern, die immer an meiner Seite standen. Ich bin sehr froh ein Teil dieser Familie zu sein, auf die ich mich immer hundertprozentig verlassen kann. Wir haben als Familie schon so viel gemeistert, sind durch schwere Zeiten gegangen und haben dennoch immer zusammengehalten.





## Zusammenfassung

Multifunktionalisierte Farbstoffe sind von großem Interesse, da häufig mit einer Messung nicht alle Daten gleichzeitig erhalten werden können. Mit multifunktionalen Farbstoffen ergibt sich die Möglichkeit mehrere unterschiedliche Messmethoden in einem Molekül zu kombinieren. In der vorliegenden Dissertation konnten multifunktionale Bodipy-Farbstoffe synthetisiert werden. Es konnten trifunktionale Saccharid-Sonden, Kontrastmittel und immobilisierbare Bodipys hergestellt werden. Sowohl die  $\beta$ -Position als auch die  $\text{BF}_2$ -Einheit wurden auf dem Weg zu multifunktionalen Farbstoffen verwendet. Es konnten zwei  $\beta$ -Boronsäure-Bodipys (BBB) hergestellt werden, die selektiv Diole binden und infolgedessen ihre Fluoreszenzeigenschaften ändern. Zudem war es durch die  $\beta$ -Funktionalisierung möglich, zeitaufgelöste Fluoreszenz Anisotropiemessungen als neues Analysewerkzeug zur Unterscheidung von Oligomerisierungsgraden zu verwenden. Ein Bodipy mit einem Silan in  $\beta$ -Position wurde ebenfalls dargestellt. Dadurch wurde die Immobilisierung eines Bodipys auf Glasoberflächen realisiert, mit dem zukünftig Messungen auf Einzelmolekülniveau zur Reaktionsverfolgung durchführbar sein könnten. Zudem war auch die Synthese eines trifunktionalen Bodipys auf Basis der  $\text{BF}_2$ -Einheit erfolgreich. So konnten in einem Kooperationsprojekt vier  $^{18}\text{F}$ -markierte Bodipys mit PSMA-Liganden synthetisiert werden, von denen einer gute Chancen aufweist, zukünftig als trifunktionales Kontrastmittel angewandt zu werden.

## Abstract

Multifunctional dyes are of great interest because often not all data can be obtained simultaneously with one measurement. However, if multifunctional dyes are used, it is possible to combine several different measurement methods in one molecule. In the present dissertation, multifunctional Bodipy-dyes could be synthesized. Trifunctional saccharide probes, contrast agents, and immobilizable Bodipys could be obtained. Both the  $\beta$ -position and the  $\text{BF}_2$ -moiety were used in the route to multifunctional dyes. Two  $\beta$ -boronic acids Bodipys (BBB) were developed which are able to selectively bind diols and consequently change their fluorescence properties. In addition, the  $\beta$ -functionalization makes time-resolved fluorescence anisotropy measurements possible as a new analysis tool to differentiate between oligomerization grade. A Bodipy with a silane in the  $\beta$ -position was also displayed. This realized the immobilization of a Bodipy dye on glass surfaces, setting the stage for a tool that may allow future measurements to be performed at the single-molecule level for reaction tracking. In addition, the synthesis of a trifunctional Bodipy based on the  $\text{BF}_2$ -unit was also successful. Thus, four  $^{18}\text{F}$ -labeled Bodipys with PSMA ligands were synthesized in a cooperation project. One of the compounds has good chances of being used as a trifunctional contrast agent in the future.



---

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	vi
1. Einleitung und Zielsetzung.....	1
1.1. Einleitung.....	1
1.2. Zielsetzung .....	3
2. Kenntnisstand.....	5
2.1. Bodipy-Farbstoffe .....	5
2.1.1. Nomenklatur, Eigenschaften und Verwendung .....	5
2.1.2. Synthese des Bodipy-Grundgerüsts.....	6
2.1.3. Elektronische Struktur und Funktionalisierungen .....	7
2.1.3.1. Substitution der meso-Position.....	11
2.1.3.2. Substitution der $\alpha$ -Position .....	12
2.1.3.3. Substitution der $\beta$ -Position .....	14
2.1.3.4. Substitution der $\gamma$ -Position.....	17
2.1.3.5. Substitution der $\text{BF}_2$ -Einheit .....	18
2.1.3.6. Sonstige Substitutionen.....	20
2.2. Saccharid-Sonden .....	21
2.2.1. Kohlenhydrate .....	21
2.2.1.1. Monosaccharide: Nomenklatur und Struktur.....	21
2.2.1.2. Polysaccharide: Nomenklatur und Struktur.....	25
2.2.1.3. Funktion und Verwendung von Sacchariden .....	26
2.2.2. Boronsäuren und ihre Ester .....	28
2.2.2.1. Historie.....	28
2.2.2.2. Grundlagen der Boronatester-Bildung .....	30
2.2.2.3. Fluoreszierende Boronsäure-basierte Saccharid-Sonden .....	33
2.3. Immobilisierungsstrategien .....	35
2.3.1. Adsorption .....	36

---

2.3.2. Einschluss und Verkapselung .....	37
2.3.3. Kovalente Bindung.....	37
2.3.4. Metall- oder Chelatbindung.....	39
2.3.5. Quervernetzung.....	40
2.3.6. Ein Anwendungsbeispiel für immobilisierte Moleküle .....	40
2.4. Charakterisierungen mittels Fluoreszenzspektroskopie .....	41
2.4.1. pK <sub>a</sub> - und K <sub>B</sub> -Bestimmungen .....	41
2.4.1.1. pK <sub>a</sub> -Bestimmungen .....	41
2.4.1.2. K <sub>B</sub> -Bestimmungen .....	44
2.4.2. Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung .....	45
2.4.3. Fluoreszenz-Anisotropie .....	47
2.4.3.1. Stationäre Fluoreszenz-Anisotropie.....	49
2.4.3.2. Zeitaufgelöste Fluoreszenz-Anisotropie.....	51
3. Ergebnisse und Diskussion .....	54
3.1. α- versus β-Bodipy-Derivat .....	54
3.1.1. Synthese .....	54
3.1.2. Fluoreszenzeigenschaften von Styryl-Bodipys .....	57
3.2. β-Substitution .....	60
3.2.1. Borylierte Bodipys.....	60
3.2.1.1. Synthese und Charakterisierung der BBBs .....	61
3.2.1.2. Elektronische Eigenschaften von <b>6</b> , <b>7</b> , <b>10</b> , <b>11</b> und <b>12</b> .....	75
3.2.1.3. Analyse der BBBs .....	80
3.2.1.3.1. Elektronische Eigenschaften von gBBB <b>8</b> und rBBB <b>13</b> .....	80
3.2.1.3.2. pH-Abhängigkeit der elektronischen Spektren von <b>8</b> und <b>13</b> .....	82
3.2.1.3.3. pH-Abhängigkeit der Fluoreszenzlebenszeiten von <b>8</b> und <b>13</b> .....	84
3.2.1.3.4. Saccharid-Bindung von gBBB <b>8</b> und rBBB <b>13</b> .....	85
3.2.1.3.4.1. Bestimmung von Bindungsaffinitäten K <sub>B</sub> .....	86

---

3.2.1.3.4.2.	Auswirkungen auf Fluoreszenzquantenausbeute $\Phi_{\text{FI}}$ und Fluoreszenzlebenszeit $\tau_{\text{FI}}$ .....	91
3.2.1.3.4.3.	Bestimmung von Säurekonstanten $\text{pK}_a$ .....	94
3.2.1.3.4.4.	Korrelation von Bindungsaffinität $K_B$ und Säurekonstante $\text{pK}_a$ .....	96
3.2.1.3.4.5.	Messungen der Fluoreszenzanisotropie .....	97
3.2.2.	Silanisierte Bodipys .....	101
3.2.2.1.	Synthese eines immobilisierbaren Bodipys .....	102
3.2.2.2.	Elektronische Eigenschaften von <b>21</b> , <b>22</b> und <b>25</b> .....	114
3.2.2.3.	Immobilisierung auf Glasoberflächen .....	116
3.3.	$\text{BF}_2$ -Substitution .....	122
3.3.1.	Synthese, Charakterisierung und elektronische Eigenschaften .....	124
3.3.2.	$^{18}\text{F}$ -Markierungen und Fluoreszenz-Analyse .....	128
3.3.3.	Zerfallsanalysen .....	129
4.	Zusammenfassung und Ausblick .....	135
5.	Experimenteller Teil .....	138
5.1.	Allgemeine Angaben .....	138
5.2.	Synthesen .....	143
5.2.1.	Synthese von 5,7-Dimethyl-2-styryl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>3</b> ..	143
5.2.2.	Synthese von 2-Brom-5,7-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>6</b> ..	144
5.2.3.	Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(4,4,5,5-tetra-methyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>7</b> .....	145
5.2.4.	Synthese von 2-Boronsäure-5,7-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>8</b> .....	146
5.2.5.	Synthese von 2-Brom-5-(4-methoxy)-styryl-7-methyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>10</b> .....	147
5.2.6.	Synthese von 5-(4-Allyloxy)-styryl-2-brom-7-methyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>11</b> .....	148

---

5.2.7. Synthese von 5-(4-Methoxy)-styryl-7-methyl-2-(4,4,5,5-tetra-methyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>12</b> .....	149
5.2.8. Synthese von 2-Boronsäure-5-(4-methoxy)-styryl-7-methyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>13</b> .....	150
5.2.9. Synthese von 2-Brom-1,3-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>15</b>	151
5.2.10. Synthese von 1,3-Dimethyl-2-ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>16</b> .....	152
5.2.11. Synthese von 3-Brom-5,7-dimethyl-6-ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>17</b> .....	153
5.2.12. Synthese von 5,7-Dimethyl-6-ethyl-2-formyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>21</b> .....	154
5.2.13. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(ethan-1-ol)-6-ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>22</b> .....	155
5.2.14. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-vinyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>25</b> .....	156
5.2.15. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(triethoxysilyl)ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen <b>18</b> und <b>26</b> .....	157
5.2.16. Synthese von 1,3,7,9-Tetramethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen-butansäure <b>27</b> .....	158
5.2.17. Synthese von 1,3,7,9-Tetramethyl-4,4'-dinitrophenoxy-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen-nitrophenoxybutanoate <b>29</b> .....	159
6. Literatur- und Quellenverzeichnis .....	160
7. Wissenschaftliche Beiträge.....	176
7.1. Zeitschriften .....	176
7.2. Konferenzen .....	176
A. Anhang .....	178
A.1. Synthese weiterer Bodipy-Farbstoffe.....	178
A.2. NMR-Spektren .....	179
A.3. MS-Spektren .....	205

---

---

A.4. UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektroskopie – Farbstoffe .....	218
A.5. UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektren – Saccharid-Sonden .....	220
A.6. Kristallstrukturen .....	238



---

## Abkürzungsverzeichnis

<b>abs.</b>	absolutiert	<b>EDC·HCl</b>	1-Ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl) carbodiimide-hydrochlorid
<b>Abs</b>	Absorption		
<b>Aceton-d<sub>6</sub></b>	Deuteroacetone		
<b>AIBN</b>	Azobis(isobutyronitril)	<b>EE</b>	Ethylacetat
<b>Anr</b>	Anregung	<b>Em</b>	Emission
		<b>eq</b>	<i>Equivalents</i> , engl.
<b>BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub></b>	Bortrifluorid-Diethyletherat		Äquivalente
<b>Bodipy</b>	Borondipyrrromethen	<b>ESI</b>	Elektrosprayionisation
<b>B<sub>2</sub>pin<sub>2</sub></b>	Bis(pinakolato)diboron	<i>et al.</i>	und andere
<b>Bu</b>	Butyl	<b>EtOH</b>	Ethanol
<b>bzw.</b>	beziehungsweise	<b>EtO-</b>	Ethoxy
<b>°C</b>	Grad Celsius	<b>FLIM</b>	<i>Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy</i> , engl.
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Deuteriochloroform		Fluoreszenzlebensdauer-mikroskopie
<b>d</b>	Tag		
<b>dba</b>	dibenzylidenaceton	<b>FWHM</b>	<i>Full Width at Half Maximum</i> , engl.
<b>DBT</b>	Dibutylzinndilaurat		Halbwertsbreite
<b>DC</b>	Dünnschicht- chromatographie		
<b>DCC</b>	Dicyclohexylcarbodiimid	<b>g</b>	gramm
<b>DCE</b>	Dichlorethan	<b>ges.</b>	gesättigt
<b>DCM</b>	Dichlormethan		
<b>dest.</b>	destilliert	<b>h</b>	Stunde
<b>Det</b>	Detektion	<b>Hz</b>	Hertz
<b>DFT</b>	<i>Density Functional Theory</i> , engl. Dichtefunktionaltheorie	<b>HOAc</b>	Essigsäure
		<b>HOMO</b>	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> , engl. das höchste besetzte Orbital eines Moleküls
<b>DIPEA</b>	Diisopropylethylamin		
<b>DMAP</b>	4-Dimethylaminopyridin		
<b>DMF</b>	Dimethylformamid		

---

<b>IRF</b>	<i>Instrument Response Function</i> , engl. Instrumenteantwortfunktion	<b>NMR</b>	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> , engl. Kernspinresonanz
		<b>ns</b>	nanosekunde
<b>J</b>	Kopplungskonstante		
<b>John Phos</b>	(2-Biphenyl)-di-tert.-butylphosphin	<b>PBF<sub>4</sub>Cy<sub>3</sub></b>	Tricyclohexylphosphonium-tetrafluoroborat
		<b>PE</b>	Petrolether
<b>KOAc</b>	Kaliumacetat	<b>PET</b>	Positronen-Emissions-Tomographie
<b>K<sub>B</sub></b>	Bindungskonstante	<b>Ph</b>	Phenyl
<b>λ</b>	Wellenlänge	<b>pK<sub>a</sub></b>	Säurekonstante
<b>LUMO</b>	<i>Lowest Occupied Molecular Orbital</i> , engl. das niedrigste unbesetzte Orbital eines Moleküls	<b>ppm</b>	parts per million
		<b>ps</b>	pikosekunde
		<b>PSMA</b>	Prostata-spezifisches Membranantigen
<b>M</b>	Molar = Mol·L <sup>-1</sup>	<b>Pt/C</b>	Platin auf Kohle
<b>max</b>	maximum	<b>RB(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Ionenform der Boronsäure
<b>Me</b>	Methyl	<b>RB(OH)<sub>2</sub></b>	Säureform der Boronsäure
<b>MeOH</b>	Methanol	<b>RF</b>	Rückfluss
<b>MeO-</b>	Methoxy	<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>mg</b>	milligramm		
<b>MHz</b>	Megahertz	<b>s</b>	Sekunde
<b>min</b>	Minute	<b>S<sub>0</sub></b>	elektronischer Grundzustand
<b>mL</b>	milliliter	<b>S<sub>1</sub></b>	erster angeregter Zustand
<b>mmol</b>	millimol	<b>S<sub>EAr</sub></b>	elektrophile Aromatensubstitution
<b>NBS</b>	N-Bromsuccinimid	<b>S<sub>N</sub></b>	nukleophile Substitution
<b>NHS</b>	N-Hydroxysuccinimid	<b>S<sub>NAr</sub></b>	nukleophile Aromatensubstitution
<b>NIS</b>	N-Iodsuccinimid		
<b>nm</b>	nanometer		
<b>NMP</b>	N-Methyl-2-pyrrolidon		

---

---

<b>TCSCP</b>	<i>Time Correlated Single Photon Counting</i> , engl. Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung
<b>TD</b>	<i>Time Dependent</i> , engl. Zeitabhängig
<b>TEA</b>	Triethylamin
<b>TFA</b>	Trifluoressigsäure
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TMS</b>	Trimethylsilyl
<b>TIRF</b>	<i>Total Internal Fluorescence Microscopy</i> , engl. Interne Totalreflexionsfluoreszenz-mikroskopie
<b>UV-Vis</b>	ultraviolettes bis sichtbares Lichtspektrum
<b>usw.</b>	und so weiter
<b>wt. %</b>	<i>Weight Percent</i> , engl. Gewichtsprozent
<b>XPhos</b>	2-Dicyclohexylphosphino-2', 4', 6'-trisopropylbiphenyl
<b>z.B.</b>	zum Beispiel



---

# 1. Einleitung und Zielsetzung

## 1.1. Einleitung

Fluoreszenzfarbstoffe sind in der heutigen Welt essenziell geworden, da sie in den unterschiedlichsten Bereichen dafür sorgen, dass einem im wahrsten Sinne des Wortes „ein Licht aufgeht“. So werden diverse Vertreter unter anderem in der Medizin, Biochemie und Biologie, in der Chemie und Physik eingesetzt.

Eine sehr vielfältige Klasse unter solchen Fluoreszenzfarbstoffen stellen die Bodipys (Borondipyrromethen = 4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen) dar, aufgrund ihrer ausgezeichneten spektroskopischen und synthetischen Eigenschaften (Abbildung 1).<sup>[1–5]</sup>

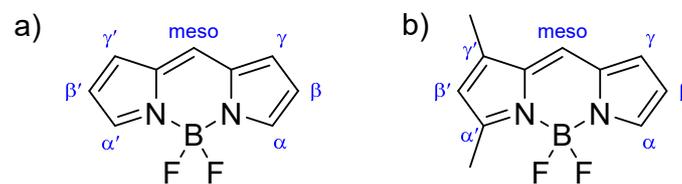


Abbildung 1: a) Bodipy-Grundgerüst und b) Grundgerüst eines unsymmetrischen Bodipys.

Seit ihrer ersten Entdeckung 1968 wurden sie bereits zahlreich funktionalisiert und in den verschiedensten Bereichen, wie z. B. Life Science, eingesetzt.<sup>[6]</sup> Eine synthetische Herausforderung stellen jedoch bis heute vor allem die unsymmetrischen Bodipy-Derivate dar, die in der  $\beta$ -Position funktionalisiert vorliegen (Abbildung 1). Besonders interessant ist diese Position allerdings aufgrund der günstigen Lage des Übergangsdipolmomentes. Dieses liegt horizontal entlang der langen  $C_2$ -Achse zwischen den  $\beta$ - und  $\beta'$ -Positionen.<sup>[7]</sup> So könnten neue Analysewerkzeuge unter Ausnutzung des Übergangsdipolmomentes hergestellt und die Facetten-Vielfalt der Farbstoffklasse noch weiter erhöht werden.

Zum Beispiel könnte die Anwendung in der Biologie bzw. Medizin als Zuckersonde durch selektive Unterscheidung der Zucker vorangetrieben werden. Zucker sind die Hauptenergie-lieferanten des menschlichen Körpers und gehören in der heutigen Gesellschaft immer mehr zu einem Grundnahrungsmittelbestandteil der Menschen. Allerdings führt ein stark erhöhter Zuckerkonsum häufig zu Krankheiten, wie Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2, kardio-vaskulären Krankheiten, Demenz oder Leberzirrhose.<sup>[8,9]</sup> Der deutsche pro-Kopf-Zucker-konsum liegt in den letzten Jahrzehnten im Schnitt bei  $\sim 35$  kg/Jahr (Abbildung 2). Dies entspricht einem täglichen Konsum von 95 g Zucker/Tag und liegt damit deutlich über dem Wert von 50 g Zucker/Tag, den die WHO für einen Erwachsenen maximal empfiehlt.<sup>[10]</sup> Solche Studien zeigen, wie wichtig es erscheint, dass Zucker im Körper erkannt und frühzeitig Maßnahmen ergriffen werden können. Eine Unterscheidung der Saccharide und

---

eine selektive Fluoreszenzmarkierung ist seit Jahren ein Thema, an dem weltweit geforscht wird. Als sehr erfolgreich haben sich fluoreszierende Boronsäuren herauskristallisiert, die in der Lage sind, mit Zuckern und anderen Diolen Boronatester zu bilden. Dadurch erfahren Fluorophore Änderungen in ihren spektroskopischen Eigenschaften, womit z. B. Zucker selektiv nachgewiesen werden können.

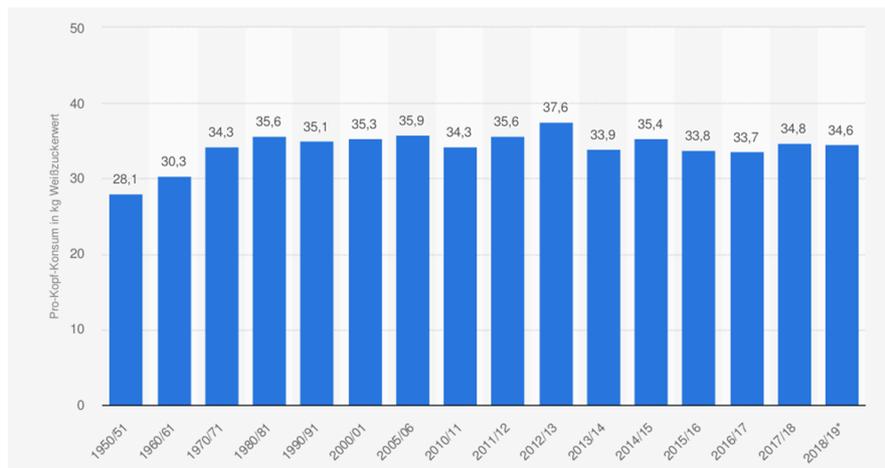


Abbildung 2: Pro-Kopf-Zuckerkonsum in Deutschland in den Jahren 1950/51 - 2018/19 (in kg Weißzuckerwert).<sup>[11]</sup>

Wünschenswert sind hierbei multifunktionelle Farbstoffe, die selektiv Moleküle markieren können und neben ihrer fluoreszierenden Eigenschaft, noch zusätzliche Funktionalitäten mit sich bringen. So könnten auf Basis multifunktionaler Farbstoffe nicht nur Zucker, sondern auch Tumorzellen selektiv markiert werden, oder die Verfolgung von chemischen Reaktionen auf Einzelmolekülniveau mit immobilisierbaren Farbstoffen wäre mit solchen multifunktionalisierten Farbstoffen denkbar. Postulierte Reaktionsmechanismen könnten entweder bestätigt oder widerlegt und kinetische Daten extrahiert werden.

Zunächst erfolgt die Zielsetzung der vorliegenden Dissertation und die Beschreibung der theoretischen Grundlagen, welche aus den synthetischen Strategien für Bodipy-Farbstoffe, der Beschreibung der Zuckerchemie und Saccharid-Sonden, der Auflistung unterschiedlicher Immobilisierungstechniken, sowie den verwendeten fluoreszenzspektroskopischen Charakterisierungen besteht. In den darauffolgenden Kapiteln werden die Synthese, Charakterisierung und Anwendung der multifunktionalen Zielverbindungen dieser Arbeit dargelegt. Ein Fazit, gefolgt von dem experimentellen Teil der Arbeit und dem Anhang aller Daten, bilden den Abschluss der Dissertation.

Teilergebnisse und Graphiken wurden bereits veröffentlicht<sup>[12,13]</sup> oder sind zur Veröffentlichung eingereicht.<sup>[14]</sup>

---

## 1.2. Zielsetzung

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Synthese und Anwendung neuer multifunktionaler Bodipy-Farbstoffe. In vorhergehenden Arbeiten im Arbeitskreis konnte die  $\alpha$ -Funktion erfolgreich für die Synthese multifunktionaler Bodipy-Derivate genutzt werden. Auch die meso-Position der Bodipys ist in der Literatur bereits ausführlich untersucht, sodass in der vorliegenden Dissertation die Multifunktionalität über die  $\beta$ -Funktion und  $\text{BF}_2$ -Einheit erreicht werden soll.

Bei den  $\beta$ -funktionalisierten Bodipy-Derivaten handelt es sich um schwer zugängliche Derivate, da in  $\beta$ -Position die schwächste positive Formalladung vorliegt und somit Funktionalisierungen mit Nukleophilen in dieser Position erschwert sind.<sup>[1]</sup> Zudem werden unsymmetrische Bodipy-Derivate ohne Methylgruppen an der gleichen Pyrrol-Einheit wie die vorzunehmenden Funktionalisierungen angestrebt (z.B. Abbildung 3). Dadurch können sterische Wechselwirkungen der ansonsten benachbarten Methylgruppen bei der Verwendung der funktionellen Gruppe in  $\beta$ -Position z.B. als Sonden-Moleküle verhindert werden.

Zunächst soll aufbauend auf den Vorarbeiten zur Funktionalisierung der  $\alpha$ -Position<sup>[15-17]</sup> von Marcel Wirtz bestimmt werden, wie sich eine Änderung der Substitution eines konjugierten Substituenten von der  $\alpha$ - zur  $\beta$ -Position auf die Eigenschaften des Bodipys auswirkt. Zu diesem Zweck wird zunächst die Synthese des  $\beta$ -styrylierten Bodipys angestrebt. Ziel ist, einen Vergleich mit dem bereits literaturbekannten  $\alpha$ -Derivat<sup>[17,18]</sup> hinsichtlich der elektronischen Eigenschaften zu schaffen (Abbildung 3a). Aufbauend auf diesen Ergebnissen sollen  $\beta$ -funktionalisierte Bodipy-Derivate als multifunktionelle Derivate hergestellt werden. Es werden sowohl die Synthese eines  $\beta$ -borylierten (Abbildung 3b), als auch eines  $\beta$ -silanisierten Bodipy-Derivats angestrebt (Abbildung 3c). Der  $\beta$ -borylierte Bodipy soll Fluoreszenz (grün) mit Targeting-Funktion für Diole (blau) und Fluoreszenz-Anisotropie-Änderungen (rot) in einem Molekül vereinen. Auch über die  $\beta$ -Silanisierung sollen trifunktionelle Moleküle erreicht werden. Auf den Grundlagen der Fluoreszenz (grün) und Immobilisierbarkeit (blau) kann z.B. in Anlehnung an die Arbeiten von A. Rybina und M. Wirtz eine zusätzliche Doppelbindung (rot) eingebracht werden.<sup>[15]</sup> Zukünftige Messungen auf Einzelmolekül-Niveau sollen dabei die Folge sein, um zum Beispiel kinetische Daten über Reaktionsverläufe zu erhalten.

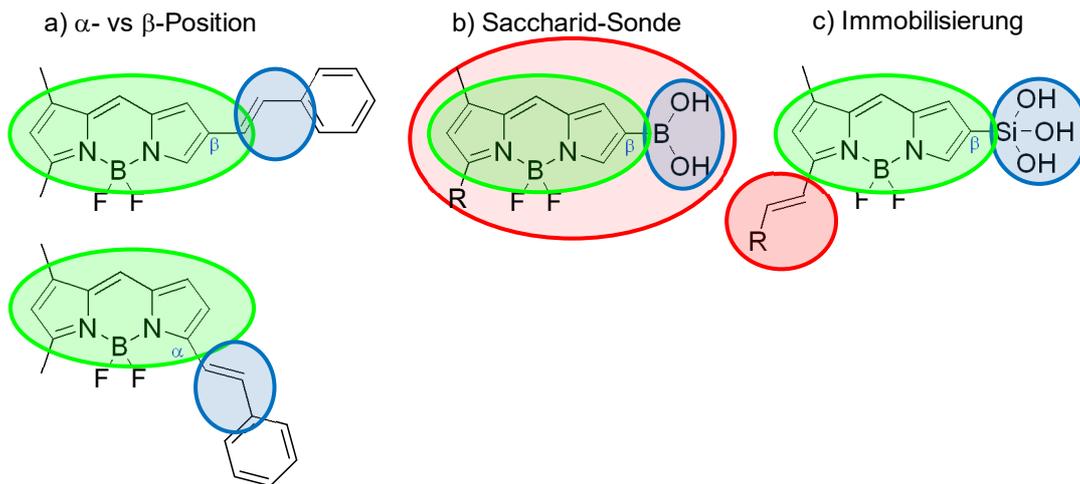


Abbildung 3: Zielstrukturen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Bodipy-Derivate der vorliegenden Dissertation. Die verwendeten Farbkodierungen repräsentieren die Di- bzw. Trifunktionalität der Moleküle.

Es soll auch die Möglichkeit untersucht werden, durch Austausch der  $\text{BF}_2$ -Einheit bei einem klassischen meso-funktionalisierten Bodipy-Derivat<sup>[19,20]</sup> einen multifunktionellen Bodipy-Farbstoff darzustellen (Abbildung 4). Grund für diese Art der Funktionalisierung ist, dass zum einen die Einführung einer gut knüpfbaren Carboxyl-Gruppe in der meso-Position literaturbekannt ist und zum anderen die  $\beta$ -Positionen für zukünftige weitere Synthesen zu einem tetrafunktionalen Kontrastmittel z.B. durch Gruppen, die die Wasserlöslichkeit weiter erhöhen, noch frei wären. Als Targeting-Funktion sollen verschiedene PSMA-Liganden (prostataspezifisches Membranantigen) verwendet und auf ihre Transport-Eigenschaften untersucht werden.  $^{18}\text{F}$ -Markierungen sollen in einer Kooperation mit dem Institut für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums in Homburg durchgeführt werden. Außerdem werden Zerfallsstudien unter sauren und  $^{18}\text{F}$ -Markierungs-Bedingungen (Lewis-Säure katalysiert) angestrebt.

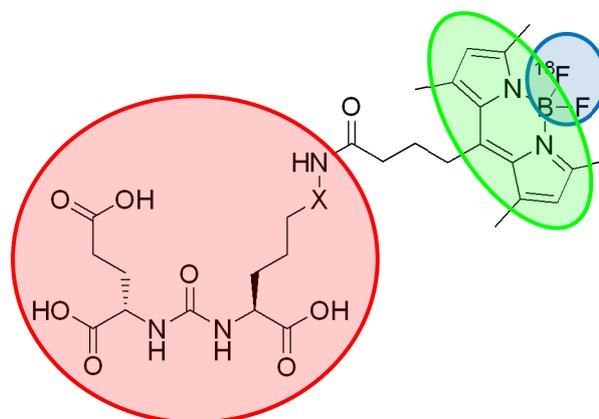


Abbildung 4: Zielstruktur der trifunktionalen  $^{18}\text{F}$ -markierten Bodipy-PSMA Derivate (mit X = unterschiedliche Linker). Die verwendete Farbkodierung repräsentiert die Trifunktionalität des Moleküls: rot = Targeting-Funktion, grün = fluoreszierender Bodipy und blau =  $^{18}\text{F}$ -Markierung.

---

## 2. Kenntnisstand

In den folgenden Abschnitten wird zunächst die verwendete Fluoreszenz-Farbstoffklasse der Bodipys vorgestellt und näher erläutert. Anschließend folgt eine Darstellung der Verwendung von Fluoreszenz-Farbstoffen zum Markieren von Zuckerstrukturen, aufgrund von Wechselwirkungen mit Boronsäuren, mit einer kurzen Einführung in die Zuckerchemie. Zusätzlich werden mögliche Immobilisierungstechniken von Molekülen auf unterschiedlichen Trägermaterialien aufgezeigt. Abschließend folgt eine Übersicht der hauptsächlich verwendeten fluoreszenzspektroskopischen Charakterisierungsmethoden.

### 2.1. Bodipy-Farbstoffe

#### 2.1.1. Nomenklatur, Eigenschaften und Verwendung

Bei den erstmals von Treibs und Kreuzer im Jahre 1968<sup>[6]</sup> synthetisierten Fluoreszenzfarbstoffen 4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenen, oft abgekürzt als Bodipy, handelt es sich um kleine Moleküle mit starker Absorption im UV-Bereich.<sup>[1]</sup> Die Grundstruktur eines Bodipys ist von einem s-Indacen abgeleitet und wird mit den gängigen beiden Nomenklaturen in Abbildung 5 aufgezeigt.<sup>[2]</sup>

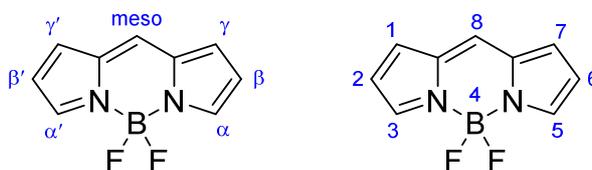


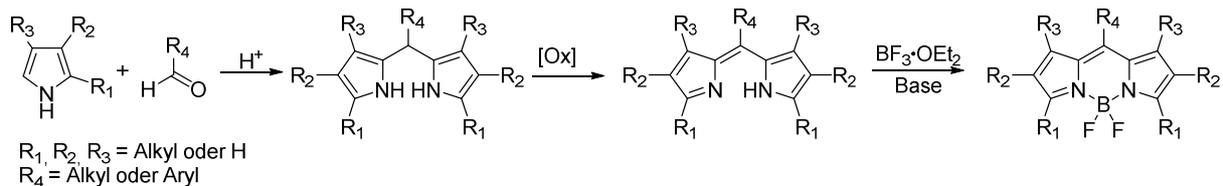
Abbildung 5: Struktur und Nomenklatur (rechts nach IUPAC) von einem Bodipy-Grundgerüst.<sup>[1,2]</sup>

Diese Farbstoff-Klasse zeichnet sich durch spektral scharfe Fluoreszenz-Banden mit gleichzeitig hohen Quantenausbeuten<sup>[2,21]</sup> und hohen Photostabilitäten aus.<sup>[1]</sup> Eine weitere Eigenschaft von Bodipys stellt die gute Löslichkeit in den meisten organischen Lösungsmitteln,<sup>[2]</sup> sowie ihre weitgehende Unabhängigkeit gegenüber Polarität und pH-Wert des verwendeten Lösungsmittels dar.<sup>[1]</sup> Neben den optischen Eigenschaften und der guten Löslichkeit sind sie zudem auch relativ einfach zu synthetisieren, leicht zu funktionalisieren und chemisch sehr stabil.<sup>[1,2]</sup>

Wegen diesen genannten Eigenschaften besitzen Bodipy-Farbstoffe ein sehr breites Anwendungsspektrum. Neuere Gebiete behandeln vor allem Bioimaging<sup>[22–28]</sup>, Laser-Farbstoffe<sup>[29–32]</sup> und OLEDs<sup>[33–36]</sup>, bis hin zu Verwendungen in der Photovoltaik-Branche bei Solarzellen<sup>[37–40]</sup>.

## 2.1.2. Synthese des Bodipy-Grundgerüsts

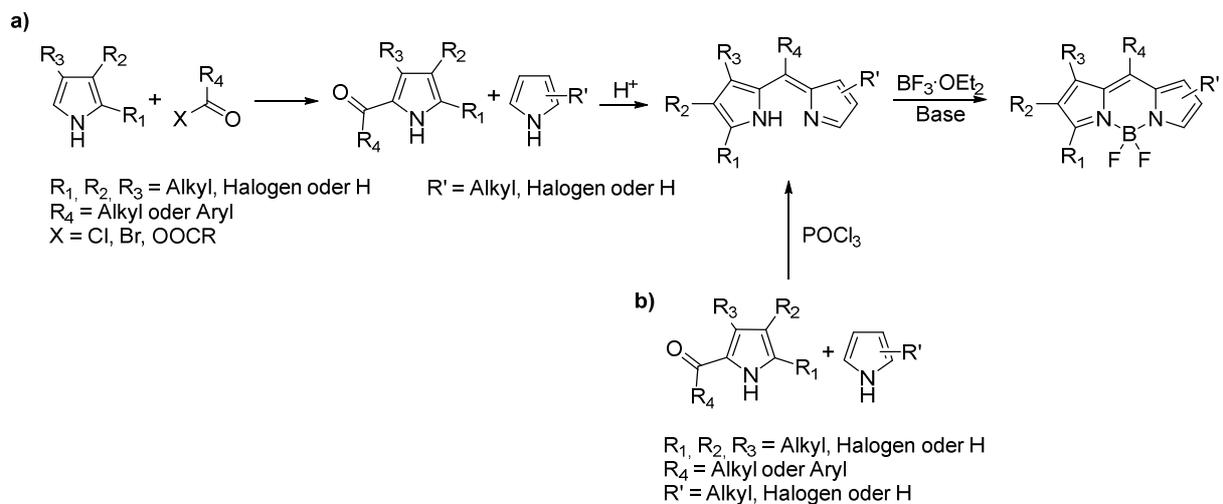
Die Synthese von Bodipys verläuft im Allgemeinen meistens über drei verschiedene Wege. Die erste Variante (Schema 1) führt durch eine Säure-katalysierte Aldehyd-Kondensation mit einem Pyrrol zu symmetrischen Bodipy-Derivaten. Das dabei gebildete Dipyrrromethan wird anschließend oxidiert (mit DDQ oder p-Chloranilin) und durch Zugabe von Base und Bortrifluorid-Diethyletherat zum gewünschten Produkt komplexiert.<sup>[41]</sup>



Schema 1: Synthese von symmetrischen Bodipys mit  $BF_3 \cdot OEt_2$  nach Variante 1.

Bei der zweiten Variante (Schema 2a) erfolgt die Kondensation eines Säurechlorids, Säureanhydrids oder Orthoesters mit einem Pyrrol. Das entstehende acetylierte Pyrrol wird mit einem weiteren Pyrrol-Derivat *in situ* unter sauren Bedingungen umgesetzt. Durch einen Überschuss an Base und Bortrifluorid-Diethyletherat kann erneut ein Bodipy gebildet werden. Anders als bei der ersten Variante können mit der zweiten Variante auch unsymmetrische Bodipys synthetisiert werden.<sup>[41]</sup>

Die dritte Variante (Schema 2b) verwendet Phosphoroxychlorid mit Pyrrolcarbaldehyden und Pyrrolen. Auch hier kann durch Zugabe von Bortrifluorid-Diethyletherat in einer Ein-Topf-Reaktion der gewünschte Chromophor (symmetrisch oder unsymmetrisch) gebildet werden.<sup>[41]</sup>



Schema 2: Synthese des Bodipy-Chromophors nach Variante a) 2 und b) 3.

---

### 2.1.3. Elektronische Struktur und Funktionalisierungen

Substitutionen am Grundgerüst eines Bodipys haben je nach Art des Substituenten und der Position am Bodipy sehr unterschiedliche Auswirkungen auf die Farbstoff-Eigenschaften.<sup>[2,12,42]</sup> Dies liegt in den mesomeren und induktiven Effekten der Substituenten und der dadurch einhergehenden Stabilisierung und Destabilisierung von HOMO (*Highest Occupied Molecule Orbital*) und LUMO (*Lowest Unoccupied Molecule Orbital*) begründet (Abbildung 6).

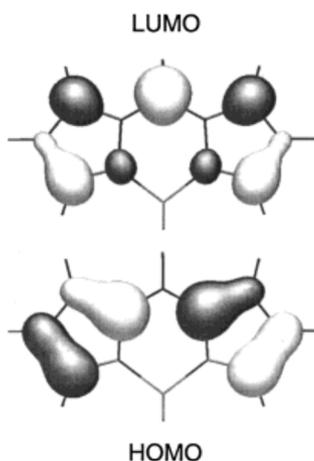


Abbildung 6: Darstellung von berechnetem HOMO- und LUMO-Zustand vom 1,3,5,7-Tetramethyl-Bodipy (schwarz und weiß repräsentieren unterschiedliche Vorzeichen).<sup>[43,44]</sup>

Ein Vergleich der elektronischen Dichten zwischen HOMO- und LUMO-Zustand zeigt, dass diese Dichten durch Anregung umverteilt werden. Im HOMO-Zustand ist die elektronische Dichte hauptsächlich an den Pyrrol-Einheiten lokalisiert. Die Anregung ins LUMO impliziert eine Verschiebung zum zentralen Ring. So trägt z.B. das C-Atom in meso-Position im Grundzustand kaum eine elektronische Dichte und erfährt nach Anregung eine beträchtliche Änderung.<sup>[43,45]</sup>

Ein größerer Abstand zwischen HOMO und LUMO resultiert in einer größeren Energielücke und hat zur Folge, dass eine hypsochrome Verschiebung verursacht wird. Folglich bedeutet ein kleinerer HOMO-LUMO-Abstand eine kleinere Energielücke und damit einhergehend eine bathochrome Verschiebung in Absorptions- und Emissionsspektrum (Abbildung 7).<sup>[1,46,47]</sup>

So führt z. B. eine Aminogruppe in meso-Position zu einer Anhebung der LUMO-Energie und zu einer berechneten Energielücke von 3.24 eV. Das dazugehörige elektronische Spektrum ist blau verschoben im Vergleich zum meso-unsubstituierten Derivat ( $\Delta E = 2.91$  eV). Eine Substitution der gleichen Position durch  $\text{CF}_3$  führt zu einer Herabsenkung des LUMO und zu

einer Energielücke von nur 2.77 eV. Dies resultiert in einem rot verschobenen elektronischen Spektrum.<sup>[48]</sup>

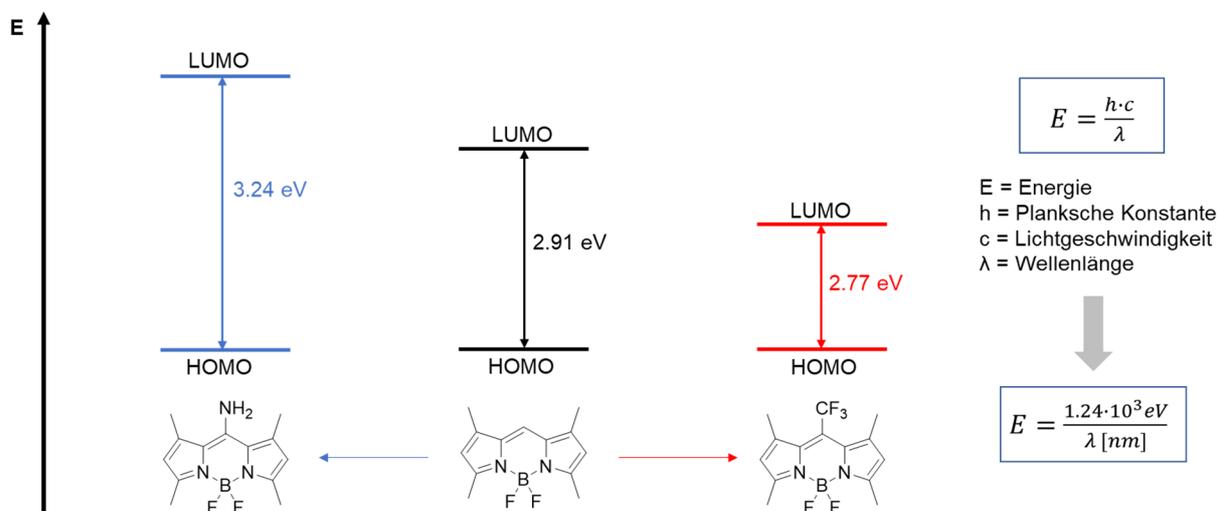


Abbildung 7: HOMO-LUMO-Energiedifferenzen für unterschiedlich meso-substituierte Bodipys.<sup>[48,49]</sup>

Wie erst kürzlich von Matulis *et al.* mit quantenmechanischen Rechnungen gezeigt, haben Substituenten mit unterschiedlichen mesomeren und induktiven Effekten, je nach Position am Bodipy, diverse Folgen für die optischen Eigenschaften. Die Gruppe hat auf DFT (*Density Functional Theory*) und TD-DFT (*Time-Dependent Density Functional Theory*) basierten Rechnungen herausgefunden, dass Akzeptoren in der β-Position und Donoren in der meso-Position zu einer blauen Verschiebung von Absorptions- und Emissionsmaxima führen sollen. Der inverse Effekt, eine Rotverschiebung, kann bei Donoren in β- und Akzeptoren in meso- oder α-Position beobachtet werden (Abbildung 8).<sup>[50]</sup>

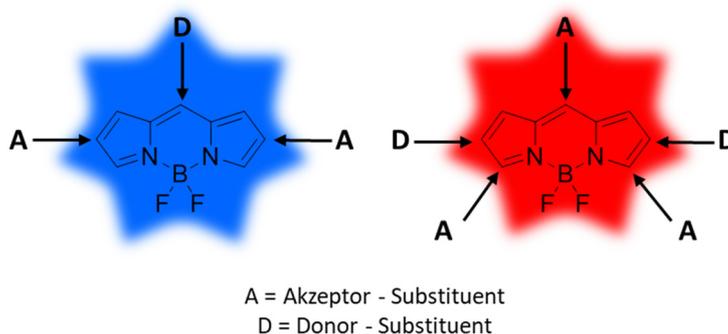


Abbildung 8: Einfluss von Donor- und Akzeptor-Substituenten in verschiedenen Bodipy-Positionen auf die Absorptions- und Emissionsmaxima (Blau- oder Rotverschiebung).<sup>[50]</sup>

Ein Vergleich der quantenmechanisch errechneten Ergebnisse mit exemplarisch ausgewählten experimentellen Daten ist in Tabelle 1 aufgeführt und zeigt Übereinstimmungen von Theorie und Praxis.

Tabelle 1: Ein Vergleich zwischen theoretisch berechneten Daten nach Matulis<sup>[50]</sup> und experimentell erhaltenen Daten der Fluoreszenzmaxima-Verschiebungen von Bodipy-Derivaten.

Substituent	Effekt	Position	spektrale Verschiebung (experimentell)*	spektrale Verschiebung (theoretisch)*
<b>-NH<sub>2</sub></b> <b>-NHR</b> <b>-NR<sub>2</sub></b>	+M	α	Rot <sup>[51]</sup>	-
		β	Rot <sup>[52]</sup>	Rot
	-I	meso	Blau <sup>[31]</sup>	Blau
<b>-NO<sub>2</sub></b>	-M	α	Rot <sup>[53]</sup>	Rot
	-I	β	Blau <sup>[51]</sup>	Blau
<b>-OH</b> <b>-OMe</b>	+M	α	Rot <sup>[54]</sup>	-
		β	Rot <sup>[55]</sup>	Rot
	-I	meso	Blau <sup>[56,57]</sup>	Blau
<b>-CHO</b>	-M	α	Rot <sup>[58]</sup>	Rot
		β	±0 <sup>[59]</sup>	Blau
	-I	meso	Rot <sup>[60]</sup>	Rot
<b>-Cl</b>	+M	β	Rot <sup>[61]</sup>	Rot
	-I	meso	Blau <sup>[57]</sup>	Blau

\* im Vergleich zum unsubstituierten Bodipy-Derivat.

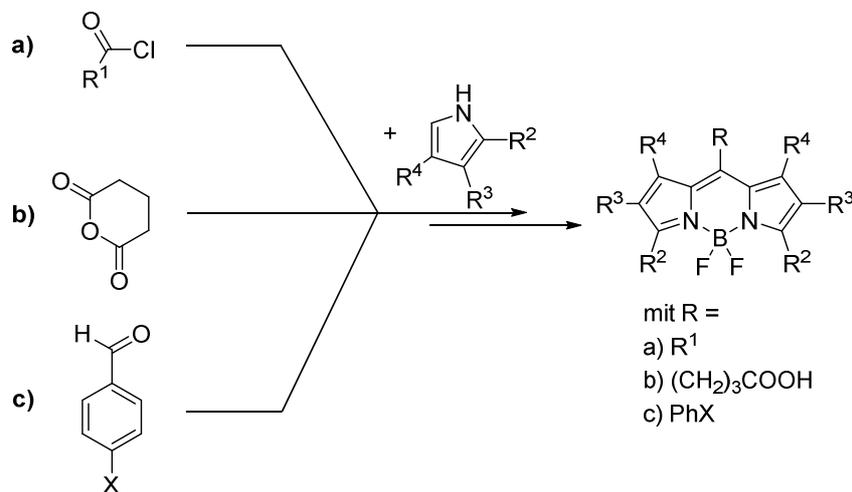
Neben diesen Effekten der elektronenziehenden und –schiebenden Substituenten gibt es auch noch die Möglichkeit, die photophysikalischen Eigenschaften durch eine Ausweitung des chromophoren Systems zu variieren. Hierbei werden weitere konjugierte Doppel- oder Dreifachbindungen an dem Bodipy-Gerüst angebracht (siehe Kapitel 3.1).<sup>[42,46]</sup> Wahlweise können auch komplette zyklische π-Systeme ankondensiert werden.<sup>[62–66]</sup> Bei diesen Substitutionsmustern entstehen aufgrund des ausgeweiteten delokalisierten π-Systems vor allem rot emittierende Bodipys.

Prinzipiell werden zwei Hauptwege unterschieden, mit denen ein Bodipy funktionalisiert werden kann: Prä- oder Postfunktionalisierung (Schema 3).



### 2.1.3.1. Substitution der meso-Position

Die meso-Position ist eine der vielfältigsten Substitutionsstellen, die es im Bodipy gibt. Dabei wird bevorzugt mit Präfunktionalisierungen gearbeitet, indem bei der Synthese des Bodipy-Grundgerüsts substituierte Pyrrole mit Säurechloriden, Anhydriden oder aromatischen Aldehyden umgesetzt werden (Schema 4).



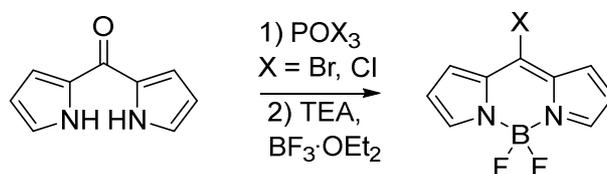
Schema 4: Synthesemöglichkeiten meso-substituierter Bodipy-Derivate aus a) Säurechloriden, b) Anhydriden und c) aromatischen Aldehyden.

Aus Acetylchlorid, wird unter Anwesenheit von Dimethylpyrrol, Bortrifluorid-Diethyletherat und Triethylamin der symmetrische meso-Methyl-Bodipy gebildet (mit jeweils Methylgruppen auch in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Position, Schema 4a).<sup>[69]</sup> Auch aromatische Säurechloride (R<sub>1</sub> = Aryl) können in solchen Reaktionen umgesetzt werden (Schema 4a).<sup>[70]</sup> Dagegen entsteht bei der Verwendung eines aromatischen Aldehyds mit Zusatz von TFA und anschließender Oxidation mit DDQ ein Dipyrrromethen-Gerüst. Dieses kann *in situ* unter Verwendung von Bortrifluorid-Diethyletherat und Diisopropylethylamin zu meso-arylierten Bodipys umgesetzt werden (Schema 4c).<sup>[69,71]</sup> Einer der wohl bekanntesten meso-Bodipy-Vertreter, welcher beispielsweise aus Glutarsäureanhydrid und Dimethylpyrrol unter Anwesenheit von Bortrifluorid-Diethyletherat und Triethylamin unter Erhitzen hergestellt werden kann, ist der meso-carboxylierte Bodipy (Schema 4b).<sup>[19,20]</sup>

Auch die Einbringung von Halogenatomen in die meso-Position ist möglich und erweitert das Feld für Folgereaktionen. Die Synthese basiert auf der oxidativen Umsetzung von Dipyrrylthioketon, unter Anwesenheit von Wasserstoffperoxid, zu einem symmetrischen Dipyrrylketon. Weitere Syntheseschritte mit POCl<sub>3</sub> oder POBr<sub>3</sub> führen unter Anwesenheit von Triethylamin und Bortrifluorid-Diethyletherat zum meso-chlorierten bzw. meso-bromierten

---

gewünschten Bodipy (Schema 5). Die entsprechende Iodierung konnte nur mittels Finkelstein-Reaktion aus chloriertem Bodipy in Aceton und Natriumiodid erreicht werden. Aufgrund dessen kann mit dieser Synthese kein Fluorid-Derivat synthetisiert werden.<sup>[72]</sup>

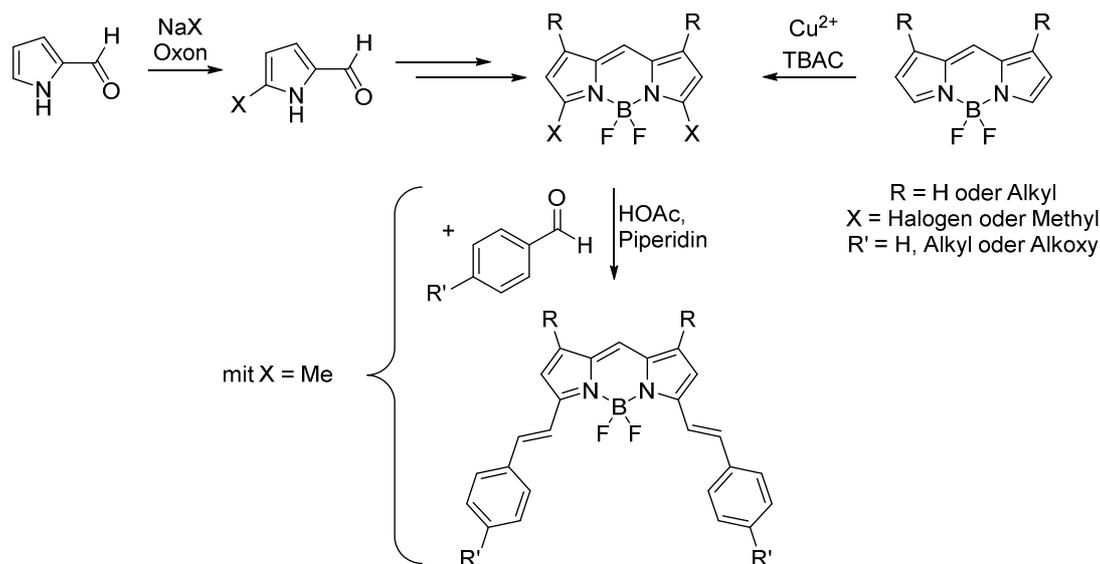


Schema 5: Synthese von meso-halogenierten Bodipy-Derivaten.<sup>[72]</sup>

Durch Halogenierungs-Substituenten können Postfunktionalisierungen, wie nukleophile aromatische Substitutionen und Palladium-katalysierte Kreuzkupplungen (zum Beispiel Suzuki, Stille, Sonogashira, Heck und Negishi) angeschlossen werden.<sup>[5,57,72]</sup> Dadurch können Doppel- und Dreifachbindungen oder beliebige Aromaten eingeführt und Strukturen synthetisiert werden, die aufgrund sterischer oder elektronischer Eigenschaften nicht mit der Präfunktionalisierung realisierbar sind. Dies kann insbesondere auch als Alternative bei der Darstellung multifunktionaler Farbstoffe von Interesse sein.

### 2.1.3.2. Substitution der $\alpha$ -Position

Die Positionen 3 und 5 des Bodipys, die sogenannten  $\alpha$ -Positionen, sind neben der meso-Position, die am bestuntersuchtete Stelle zur Einbringung von verschiedenen Substituenten. Die drei vielfältigsten Varianten der Postmodifikation stellen die Synthese des einfachen Bodipy-Grundgerüsts ohne Substituenten, die Synthese der methylierten Bodipys und die Synthese des halogenierten Bodipys voraus.<sup>[5]</sup> Die präfunktionalisierten Bodipy-Derivate mit einer oder zwei Methylgruppen (in Position 3 und/oder 5) oder mit ein oder zwei Halogenatomen (in Position 3 und/oder 5) können dabei leicht mittels derivatisierter Pyrrole durch die üblichen Bodipy-Kondensationen hergestellt werden (Schema 6).



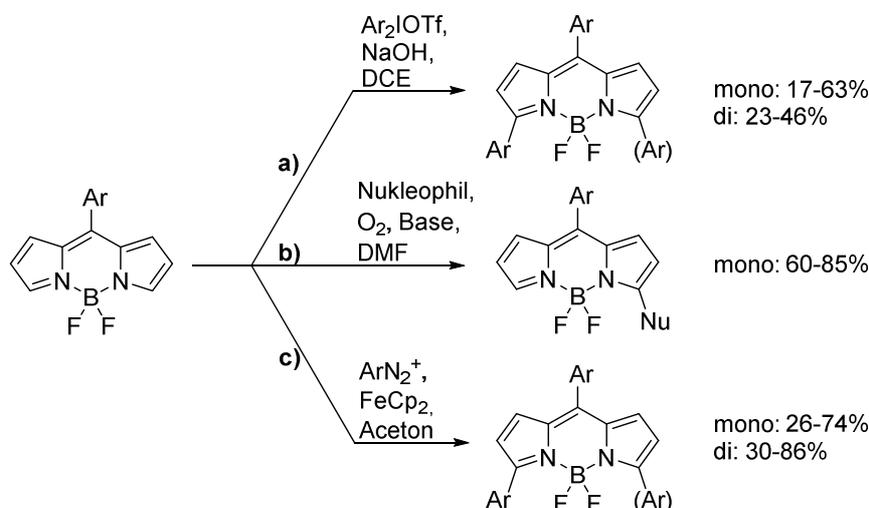
Schema 6: Synthesemöglichkeiten für  $\alpha$ -substituierte Bodipys.<sup>[67,73,74]</sup>

Die Postfunktionalisierungen, die im Anschluss vorgenommen werden können, sind dabei die vielfältigeren Synthesen, wie auch mit Hilfe von Abbildung 9 verdeutlicht wird. Insbesondere wenn am Grundgerüst des Bodipys die Methylgruppen verankert sind, können dort Postderivatisierungen durchgeführt werden. Eine effiziente Umwandlung ist dabei die Umsetzung mit aromatischen Aldehyden in Knoevenagel-artigen Kondensationen (Schema 6).<sup>[74–80]</sup> Mit solchen Substitutionen wird gleichzeitig auch eine Rotverschiebung der Fluoreszenz in Folge des ausgeweiteten konjugierten  $\pi$ -Systems erreicht.

Als effiziente Methode, wenn keine Methylgruppen in der  $\alpha$ -Position vorhanden sind, hat sich das Einfügen von Halogenatomen (prä- oder postfunktionalisiert) erwiesen (Schema 6).<sup>[67,73]</sup> Diese dienen anschließend in Postderivatisierungen als Edukte für eine Vielzahl von Folgereaktionen. Am vielfältigsten sind dabei nukleophile Aromatensubstitutionen ( $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ ) und Palladium-katalysierte Kreuzkupplungen um diverse Reste am Bodipy-Gerüst einzubringen.<sup>[68,81–86]</sup>

Eine seltener angewendete Postderivatisierung (Schema 7) geht von  $\alpha$ -unsubstituierten Bodipys aus. Beispiele zeigen eine direkte metallfreie selektive Arylierung in  $\alpha$ -Position, bei Anwesenheit von Diaryliodonium-Triflat (Schema 7a), oder eine basenkatalysierte, direkte, oxidative, nukleophile Substitution (Schema 7b).<sup>[87,88]</sup> Bei Variante a können sowohl mono- als auch diarylierte Derivate erhalten werden. Die Ausbeuten der disubstituierten Bodipys betragen bis zu 10% weniger verglichen zu den monosubstituierten Derivaten.<sup>[87]</sup> Mit der zweiten Variante können nur monoarylierte Derivate erhalten werden. Allerdings werden diese, je nach Nukleophil, in sehr guten Ausbeuten zwischen 60-85% erhalten.<sup>[88]</sup> Auch radikalische Arylierungen von Bodipys unter Zusatz von Ferrocen und Aryldiazoniumsalzen

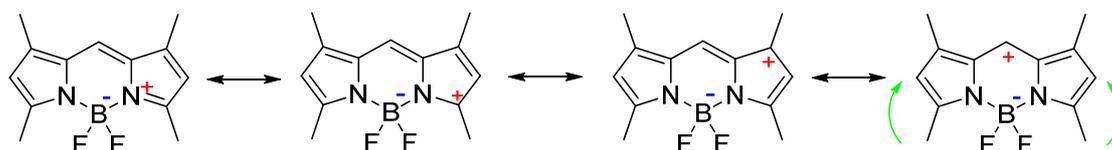
führen zu Mono- oder Di-Arylen in  $\alpha$ -Position (Schema 7c).<sup>[89]</sup> Teilweise können hier höhere Ausbeuten für die mono- und disubstituierte Derivate erreicht werden als mit Variante a.



Schema 7: Postfunktionalisierungsbeispiele für  $\alpha$ -unsubstituierte Bodipy-Derivate.<sup>[87-89]</sup>

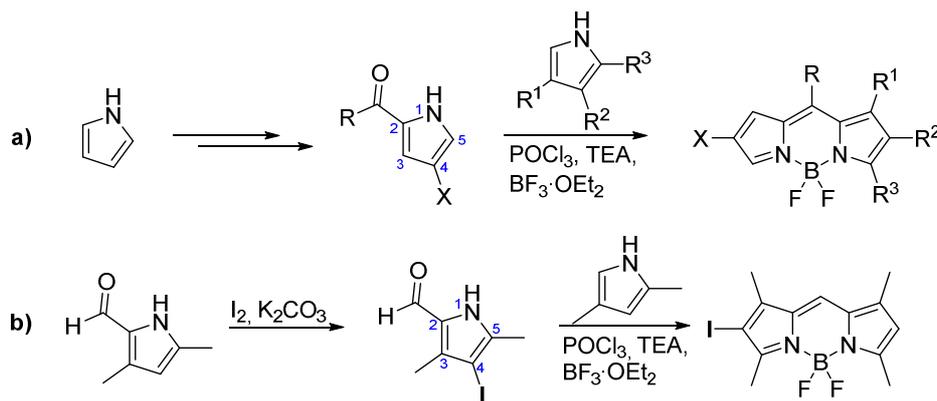
### 2.1.3.3. Substitution der $\beta$ -Position

Werden die mesomeren Strukturen des Bodipy-Grundgerüsts betrachtet, tragen Position 2 und 6, die sogenannten  $\beta$ -Positionen, die am wenigsten positive Formalladung (Schema 8). Demzufolge sollten elektrophile Substitutionen bevorzugt in  $\beta$ -Position und nukleophile Substitutionen eher in  $\alpha$ - (oder  $\gamma$ -) Position erfolgen.<sup>[1]</sup>



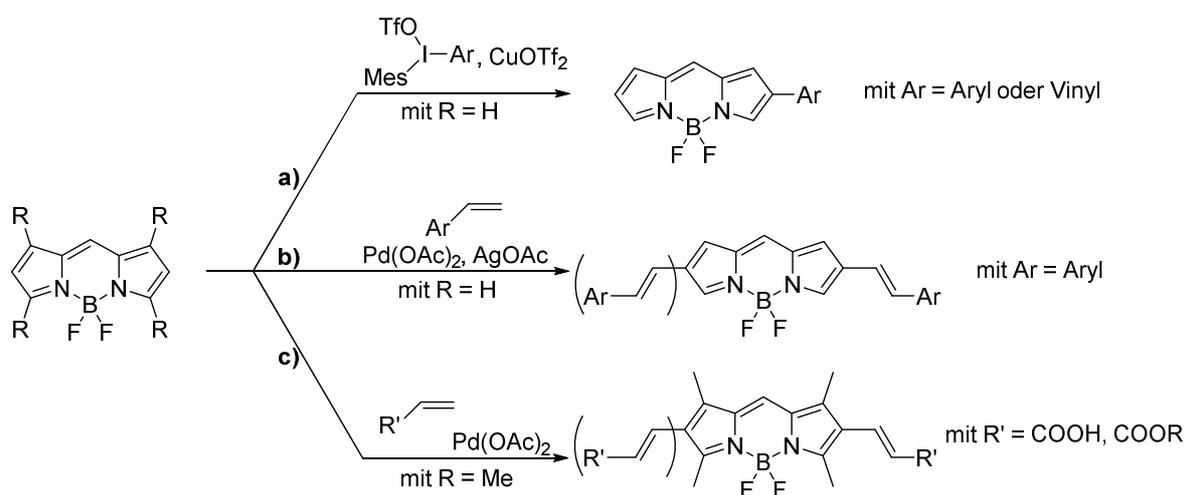
Schema 8: Mesomere Grenzstrukturen des Bodipy-Grundgerüsts.<sup>[1]</sup>

Präfunktionalisierungen können hier durch Einbringen von Substituenten an verwendete Pyrrole in Position 4 (Schema 9) erhalten werden. Mittels dieser Methode können in  $\beta$ -Position zum Beispiel Alkyl-Gruppen (siehe Kapitel 2.1.2) und Halogene<sup>[90,91]</sup> eingeführt werden.



Schema 9: Funktionalisierung von Pyrrolen in Position 4 mit anschließender Bodipy-Kondensation.<sup>[90–92]</sup>

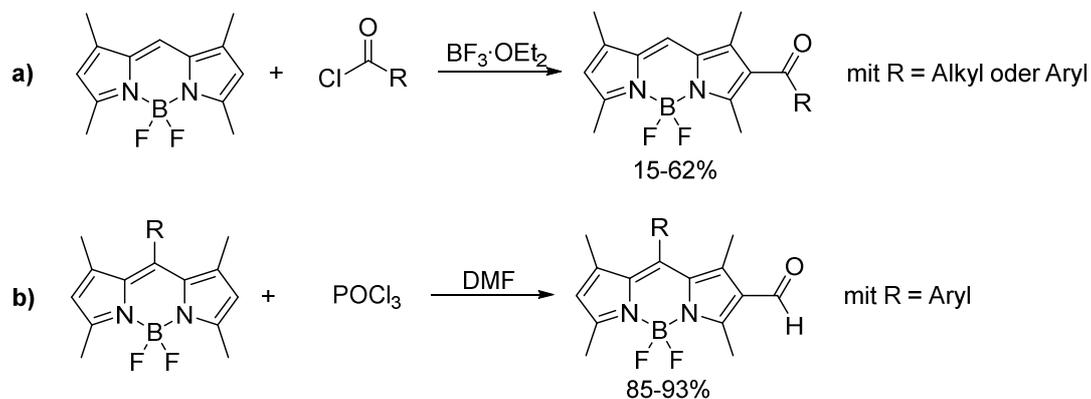
Aufgrund der größeren Elektronendichte im Vergleich zu den anderen Kern-Positionen im Bodipy können hier als Postfunktionalisierungen sehr gut direkte C-H-Funktionalisierungen durchgeführt werden, wie bereits von verschiedenen Forschergruppen in den letzten Jahren zahlreich gezeigt wurde. Dabei werden vor allem durch Palladium- oder Kupfer-katalysierte Reaktionen, Aryl- oder Vinyl-Substituenten in die  $\beta$ -Position eingeführt (Schema 10).<sup>[93–95]</sup> Vorteil bei dieser direkten Art der Postfunktionalisierung ist, dass es keiner vorherigen Substitution des Bodipy-Gerüsts bedarf. Die Ausbeuten liegen allerdings mit durchschnittlich 50% geringer als bei Reaktionen mit vorheriger Halogenfunktionalisierung. Ein Nachteil der Varianten b und c bildet auch die unumgängliche Einführung der konjugierten Doppelbindung in  $\beta$ -Position zur Verknüpfung des Aromaten (vergleiche Kapitel 3.1).<sup>[94,95]</sup>



Schema 10: Postfunktionalisierung der  $\beta$ -Position mittels Vinyl- und Aryl-Substituenten.<sup>[93–95]</sup>

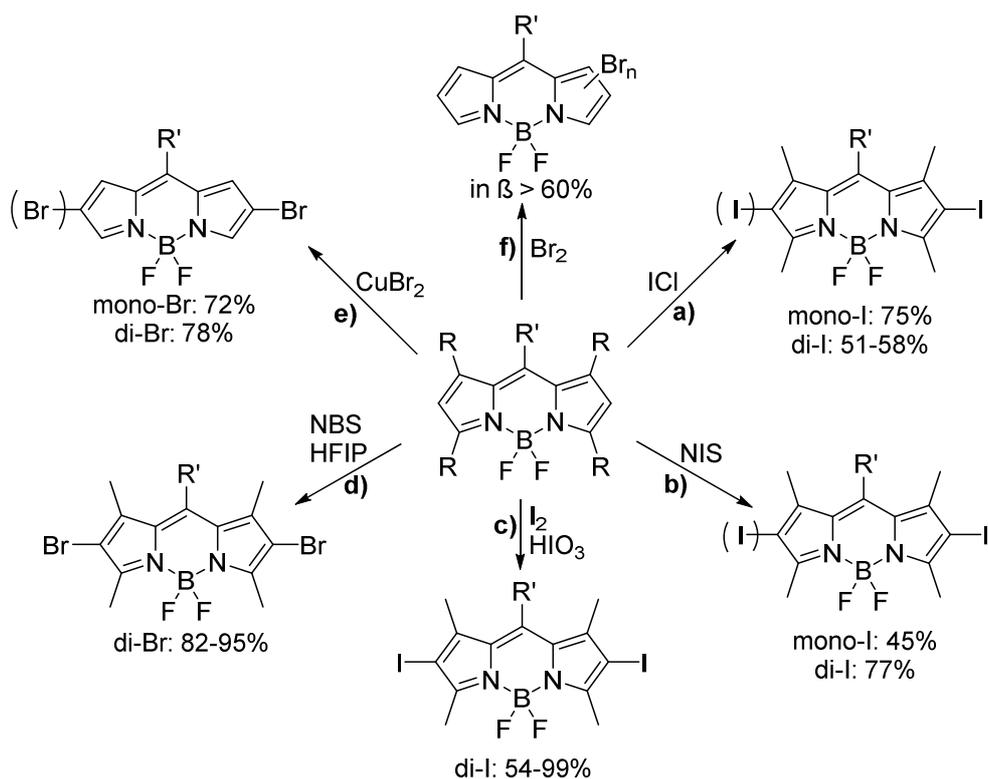
Ebenfalls keiner vorherigen Substitution bedürftend, stellt die direkte Formylierung des Bodipy-Gerüsts in Position 2 und 6 mittels Lewis-Säure katalysierter (Bortrifluorid-

Diethyletherat) elektrophiler Aromatensubstitution mit Acylchloriden dar (Schema 11a).<sup>[59]</sup> Wahlweise kann dies auch mittels  $\text{POCl}_3$  und DMF in einer Vilsmeier–Haack-Reaktion erreicht werden (Schema 11b).<sup>[96]</sup> Bei der zweiten Variante werden allgemein höhere Ausbeuten erreicht, allerdings kann dabei nur ein freier Aldehyd eingeführt werden, während Variante a auch für die Bildung von Ketonen eingesetzt werden kann.



Schema 11: Formylierungs- und Acylierungsreaktionen in der  $\beta$ -Bodipy-Position mit a)  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  und b)  $\text{POCl}_3$ .<sup>[59,96]</sup>

Auch durch Postfunktionalisierungen können Halogen-Atome eingeführt werden. So kann zum Beispiel der Tetramethyl-Bodipy entweder mit Iodchlorid (Schema 12a) oder mit N-Iodsuccinimid (Schema 12b) unter milden Bedingungen in  $\beta$ -Position mono- oder diiodiert werden.<sup>[97,98]</sup> Die Einführung von Iod-Atomen in die  $\beta$ -Position kann auch unter Anwesenheit von Iod und Iodsäure in guten Ausbeuten erfolgen, ist dabei allerdings mit harscheren Bedingungen verknüpft als die beiden bereits genannten Methoden (Schema 12c).<sup>[99,100]</sup> Bromierungen in  $\beta$ -Position lassen sich analog zu Iodierungen mit N-Bromsuccinimid durchführen (Schema 12d).<sup>[101]</sup> Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Kupfer(II)-bromid oder  $\text{Br}_2$  (Schema 12e und f).<sup>[102,103]</sup>



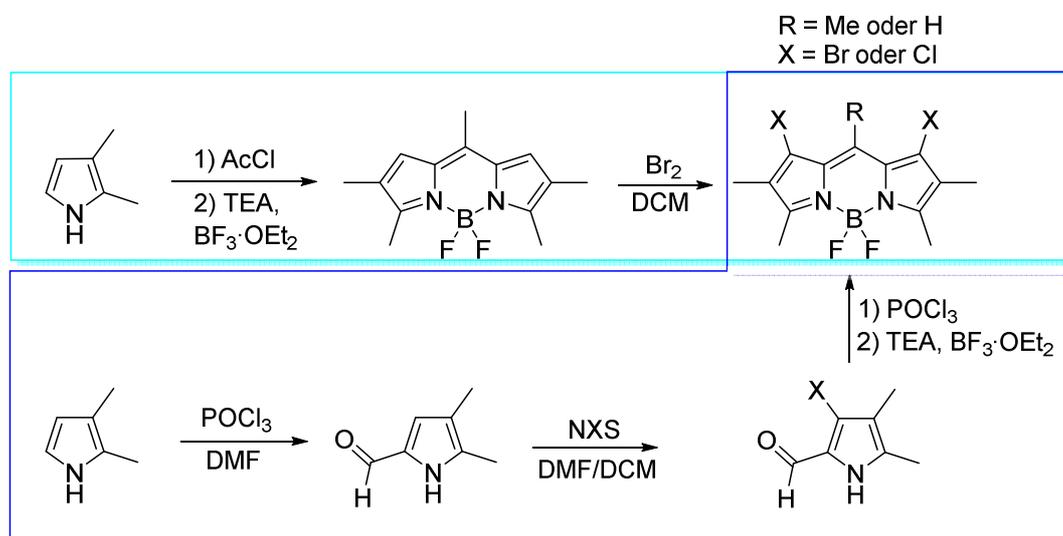
Schema 12: Post-Halogenierungen in  $\beta$ -Position von Bodipy-Grundgerüsten.

Nachteil bei den Halogen-Postfunktionalisierungen ist, dass sich häufig in der  $\alpha$ -Position Methylgruppen befinden müssen, um damit Mehrfachhalogenierungen auszuschließen.<sup>[104]</sup> Dies kann durch Präfunktionalisierungen der Pyrrole umgangen werden. Eine Ausnahme bildet die regioselektive Bromierung mit  $\text{CuBr}_2$  (Schema 12e), wofür ein in situ gebildetes  $\text{Br}_2$  verantwortlich gemacht wird. Allerdings erfolgt die Umsetzung mit  $\text{CuBr}_2$  bisher nur mit meso-arylierten Derivaten. Diese bromierten oder iodierten Derivate dienen dann zumeist als Ausgangsstoffe für weitere Funktionalisierungen wie zum Beispiel Palladium-katalysierte Kreuzkupplungen.<sup>[90,98,105–108]</sup> Chlorierungen und Fluorierungen sind auch möglich, spielen allerdings, aufgrund der geringeren Vielfalt hier nur eine untergeordnete Rolle.<sup>[61,101,109,110]</sup>

#### 2.1.3.4. Substitution der $\gamma$ -Position

Die Positionen 1 und 7, die sogenannten  $\gamma$ -Positionen, sind relativ elektronenarm und besitzen eine geringere Reaktivität im Vergleich zu den anderen Bodipy-Positionen. Aufgrund größerer Reaktivitäten, bei ähnlicher Elektronenverteilung, der Positionen 3, 5 und 8 sind Substitutionen der  $\gamma$ -Positionen mitunter bisher nur möglich, wenn sowohl  $\alpha$ - als auch  $\beta$ -Positionen (oder auch die meso-Position) des Bodipys mit Alkyl- oder sonstigen Gruppen „geschützt“ sind.<sup>[5,102]</sup> So existiert in der Literatur eine Synthese, die entweder als Prä- oder als Postfunktionalisierung durchgeführt werden kann und einen 2,3,5,6-tetramethylierten

Bodipy liefert, der in den Positionen 1 und 7 chloriert oder bromiert vorliegen kann. Für die Präfunktionalisierung wird zunächst eine Vilsmeier-Haack-Formylierung von 2,3-Dimethylpyrrol, mit anschließender Halogenierung mit NXS (X = Br oder Cl) durchgeführt. Unter Bodipy üblichen Bedingungen wird aus dem Pyrrol der 1,7-halogenierte Bodipy erhalten (Schema 13 dunkelblau).



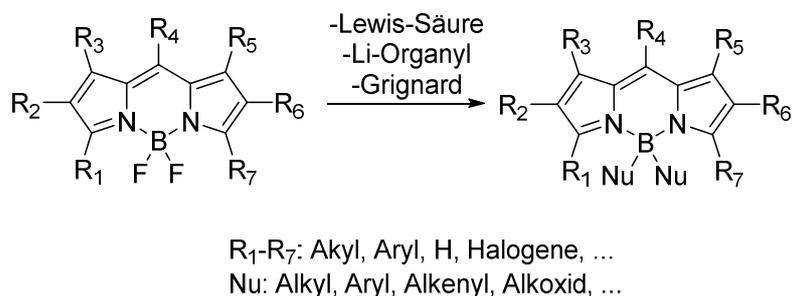
Schema 13: Synthese von 1,7-dihalogenierten Bodipy-Derivaten, sowohl in Post- (türkis) als auch in Präfunktionalisierung (blau).

Wahlweise kann auch die Postfunktionalisierung des 2,3,5,6,8-pentamethylierten Bodipys mittels  $\text{Br}_2$  ebenfalls zum 1,7-bromierten Bodipy führen, der allerdings in der meso-Position auch eine Methylgruppe besitzt (Schema 13 türkis). Wie bei den vorherigen Positionen des Bodipy schon gezeigt, sind auch nukleophile Substitutionen und Kreuzkupplungen an den  $\gamma$ -halogenierten Bodipys durchführbar. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Auswirkungen auf die spektroskopischen Eigenschaften durch die Funktionalisierung der  $\gamma$ -Positionen, im Vergleich zu den anderen Bodipy-Kern-Substitutionspositionen, weniger stark ausgeprägt sind.<sup>[111]</sup>

### 2.1.3.5. Substitution der $\text{BF}_2$ -Einheit

Die Substitution der  $\text{BF}_2$ -Einheit kann durch zwei unterschiedliche Arten erfolgen. Entweder erfolgt ein Austausch der F-Atome oder ein Austausch des Bor-Atoms. Für den Austausch des Bor-Atoms sei hier lediglich auf das Review von Loudet und Burgess verwiesen.<sup>[1]</sup> Durch diesen Austausch handelt es sich klassischerweise nicht mehr um Bodipys.<sup>[1]</sup> In der Literatur sind für die Fluor-Austauschmöglichkeiten nur Postfunktionalisierungen aufgeführt. Die

Fluorid-Atome der BF<sub>2</sub>-Einheit können z.B. durch Alkyl-, Aryl-, Alkenyl- oder Alkoxid-Gruppen ausgetauscht werden (Schema 14).<sup>[1]</sup>

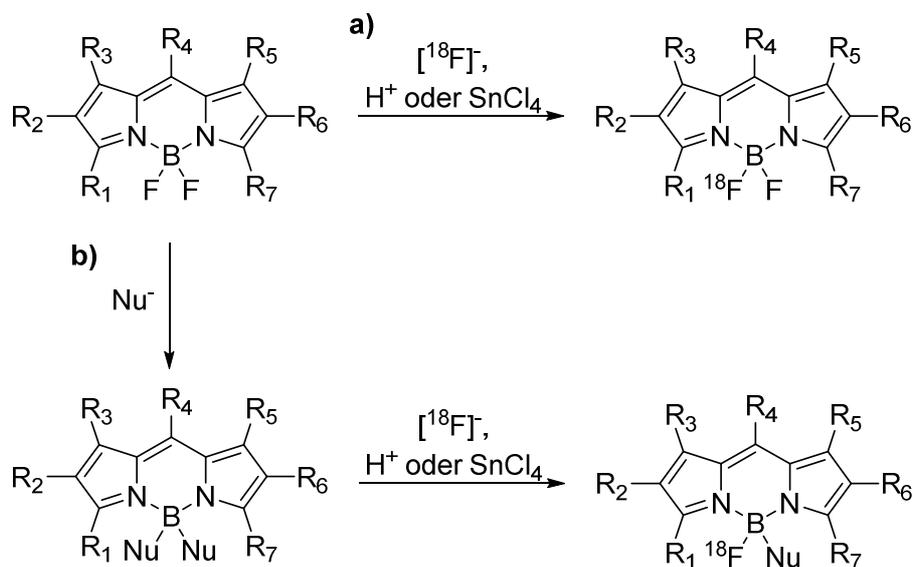


Schema 14: Substitution der BF<sub>2</sub>-Einheit durch Nukleophile wie Alkyl-, Aryl-, Alkenyl- oder Alkoxid-Reste.

Je nachdem, welcher Substituent direkt mit dem Bor verbunden ist, werden die Bodipys nicht mehr als F-Bodipys, sondern dementsprechend als O-Bodipy, N-Bodipy, C-Bodipy, usw. bezeichnet.<sup>[112]</sup> Allgemein wird der Fluorid-Austausch in der Literatur meistens Lewis-Säure katalysiert, mit Lithium-Organylen oder in einer Grignard-Reaktion vollzogen. So erfolgt zum Beispiel der Fluorid-Atomaustausch durch TMS-Nukleophile mittels Lewis-Säure Katalyse (SnCl<sub>4</sub> oder BCl<sub>3</sub>).<sup>[113]</sup> Eine weitere Untersuchung ergab, dass die Substitution beider Fluorid-Atome durch verschiedene Alkoxide unter Anwesenheit der Lewis-Säure Aluminiumtrichlorid (AlCl<sub>3</sub>) bzw. Galliumtrichlorid (GaCl<sub>3</sub>) funktioniert, während unter Zugabe von Scandiumtriflat (Sc(OTf)<sub>3</sub>) oder Titan-tetrachlorid (TiCl<sub>4</sub>) eine Zersetzung des Eduktbodipys zu beobachten ist.<sup>[114]</sup> AlCl<sub>3</sub> als Lewis-Säure, zur Einbringung von Alkoxyresten, hat sich in der Literatur stark durchgesetzt.<sup>[115-117]</sup> Mittels Grignard-Reagenzien oder lithiumorganischen Verbindungen können vor allem C-Bodipy-Derivate hergestellt werden.<sup>[118,119]</sup>

Durch Substitution der <sup>19</sup>F-Atome der BF<sub>2</sub>-Einheit durch <sup>18</sup>F-Atome ist es möglich auch radioaktiv markierte Bodipy-Derivate herzustellen. Diese können dann beispielsweise in Positronen-Emissions-Tomographien (PET) als duale Kontrastmittel eingesetzt werden. Ein Austausch durch radioaktives Fluor kann entweder direkt erfolgen oder es wird zunächst eine gute Abgangsgruppe eingeführt und anschließend die Resubstitution mit Fluorid-Ionen durchgeführt (Schema 15). Bei der ersten Variante (a) erfolgt ein direkter säure- oder Lewis-Säure-katalysierter <sup>18</sup>F/<sup>19</sup>F-Isotopen-Austausch durch nukleophile Substitution mit [<sup>18</sup>F]-Fluorid.<sup>[13,120,121]</sup> Der Vorteil bei der Zwei-Schritt-Methode (b) ist, dass es möglich ist chemisch nicht-äquivalente Bodipys zu synthetisieren. So können Edukt und radioaktive Spezies z.B. säulenchromatographisch voneinander getrennt werden.<sup>[121]</sup> Zunächst erfolgt meist eine Substitution eines oder beider F-Atome durch ein Sauerstoffnukleophil wie z.B. ein Triflat oder einen aromatischen Alkohol (gute Abgangsgruppen). Aufgrund der darauf-

folgenden Resubstitution des Alkoxids durch radioaktives Fluorid, entstehen im Vergleich zum Edukt chemisch unterschiedliche Moleküle.<sup>[122–127]</sup>



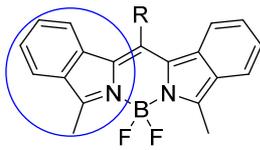
Schema 15: <sup>18</sup>F/<sup>19</sup>F-Isotopen-Substitution der BF<sub>2</sub>-Einheit von Bodipys.

Substituenten am Bor-Atom üben meistens nur einen geringen Effekt auf die Absorptions- und Fluoreszenz-Eigenschaften der Bodipy-Moleküle aus.<sup>[128]</sup> Die Auswirkungen auf andere spektroskopische Eigenschaften, wie zum Beispiel Fluoreszenz-Quantenausbeuten und Fluoreszenz-Lebenszeiten, hängen, wie die oben aufgeführten Beispiele zeigen, stark von den elektronischen und sterischen Eigenschaften der eingebrachten Substituenten ab.

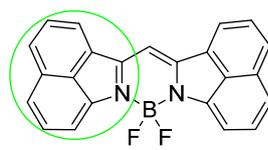
### 2.1.3.6. Sonstige Substitutionen

Zusätzlich zu den oben vorgestellten fünf Substitutionspositionen, α-, β-, γ- und meso-Position sowie die BF<sub>2</sub>-Einheit, können die physikalischen Eigenschaften von Bodipys auch noch durch ausgeweitete aromatische Systeme variiert werden. Hierbei wird das Grundgerüst von Bodipys mit aromatischen Ringen erweitert. Beispiele wurden unter Verwendung von Boron-Di(iso)indomethen, Benz[c,d]indole oder Porphyrin-Farbstoffen aufgezeigt (Abbildung 10a-c).<sup>[1]</sup> Zusätzlich seien hier noch die Aza-Bodipy-Farbstoffe (Abbildung 10d) zu erwähnen, die ebenfalls in Präfunktionalisierungen synthetisiert werden können.<sup>[1,129]</sup> Auf diese Ausweitungen des Bodipy-Grundgerüsts soll hier jedoch nicht weiter eingegangen werden.

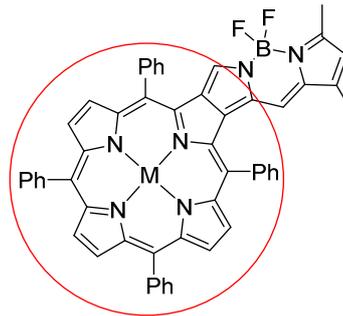
a) Boron-Di(iso)indomethen



b) Benz[c,d]indole



c) Porphyrine



d) Aza-Bodipys

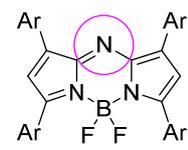


Abbildung 10: Strukturen von a) Boron-Di(iso)indomethen, b) Benz[c,d]indole, c) Porphyrinen und d) Aza-Bodipys.

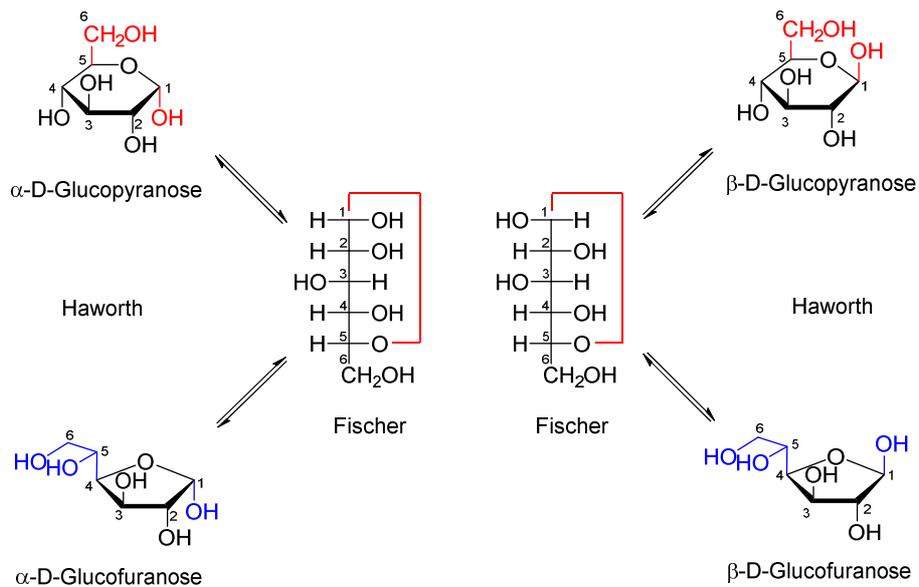
## 2.2. Saccharid-Sonden

### 2.2.1. Kohlenhydrate

#### 2.2.1.1. Monosaccharide: Nomenklatur und Struktur

Kohlenhydrate oder Saccharide zählen zu den in der Natur am häufigsten vorkommenden organischen Komponenten. Sie bestehen lediglich aus den drei Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff. Für die Klassifizierung wird eine Einteilung in Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide vorgesehen. Dabei wird nach der Anzahl der verbundenen Saccharidmoleküle unterschieden. Monosaccharide sind die einfachsten Vertreter und anhand derer werden komplexere Strukturen abgeleitet. Aufbauend auf Monosacchariden entstand die Nomenklatur von Kohlenhydraten.<sup>[130]</sup> Es handelt sich um lineare Polyalkohole, die entweder eine Ketogruppe besitzen, dann werden sie als Ketosen bezeichnet, oder in Analogie dazu Aldosen, wenn eine Aldehydfunktion vorhanden ist (Abbildung 11). Zusätzlich zur funktionellen Gruppe werden Monosaccharide auch anhand ihrer Kohlenstoffanzahl unterschieden. So werden drei, vier, fünf, sechs, usw. enthaltene Kohlenstoff-Atom-Saccharide mit Triose, Tetrose, Pentose und Hexose bezeichnet.<sup>[131]</sup> In den 90er Jahren des 19. Jahrhunderts konnte Emil Fischer bereits die Konfiguration von Aldoheptosen aufklären und entwickelte den heute noch bekannten Zuckerstammbaum der Aldosen, der zur Erinnerung zusammen mit den Ketosen in Abbildung 11 nochmals in der Fischer Projektion dargestellt ist.<sup>[132–134]</sup> Nach Emil Fischer besitzen die D-Konfigurationen (in der Natur hauptsächlich) an dem Carbonyl-Kohlenstoff, welcher am weitesten vom Asymmetriezentrum entfernt liegt, die gleiche absolute Konfiguration wie D-Glycerinaldehyd. Bei der L-Form handelt es sich demnach um dessen exaktes Spiegelbild, also um Enantiomere.<sup>[131,135–139]</sup>

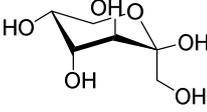
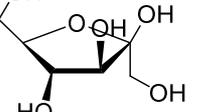
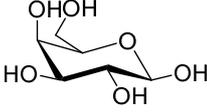
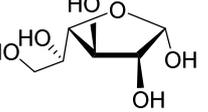
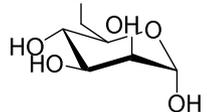
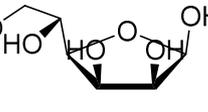
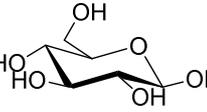
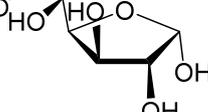




Schema 16: Illustration von Pyranose- und Furanose-Ringen, sowie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer in der Haworth-Projektion. Hier dargestellt am Beispiel von Glucose.<sup>[130,148]</sup>

Ein Review über die prozentualen Anteile von Pyranose- und Furanose-Form im wässrigem Milieu, sowie Auswirkungen von Kationen, Temperatur, Lösungsmittel und pH-Wert wurde 1984 von Angyal erstellt (mit anschließender Aktualisierung der Daten nach einigen Jahren).<sup>[149,150]</sup> Er hat die zyklischen Halbacetal-Anteile vieler Saccharide verglichen, die hauptsächlich durch NMR-Daten auch von anderen Forschungsgruppen erhalten wurden. Ein Vergleich der vier häufigsten Monosaccharide, Glucose, Galactose, Mannose und Fructose (Tabelle 2) zeigt, dass der Anteil der Pyranose immer im gleichen Bereich bei ~61-65% liegt. Die Furanose-Anteile unterscheiden sich jedoch deutlich. D-Fructofuranose besitzt einen Anteil von 25%, D-Galactofuranose von 2.5%, D-Mannofuranose von 0.3% und D-Glucofuranose nur noch von 0.14%. Es sei noch erwähnt, dass eine Erhöhung der Temperatur einen höheren Anteil an Furanose bewirkt.<sup>[149,150]</sup>

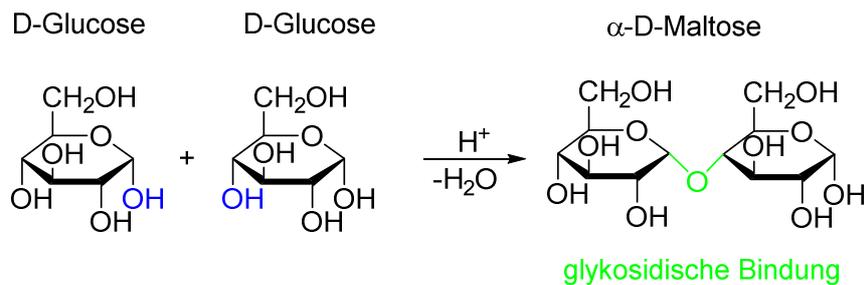
Tabelle 2: Konstitutionsverteilung der vier gängigsten Monosaccharide in D<sub>2</sub>O (bei 25-30°C).<sup>[149,150]</sup>

Saccharid	Konfiguration	
<b>Fructose</b>	 D-Fructopyranose <b>65%</b>	 D-Fructofuranose <b>25%</b>
	 D-Galactopyranose <b>64%</b>	 D-Galactofuranose <b>2.5%</b>
<b>Mannose</b>	 D-Mannopyranose <b>65.5%</b>	 D-Mannofuranose <b>0.3%</b>
	 D-Glucopyranose <b>61%</b>	 D-Glucofuranose <b>0.14%</b>

Zusätzlich existieren zwei mögliche Konformationen für Monosaccharide: die Sessel- und Wannform (bzw. Bootform). Für Pyranosen gilt prinzipiell, dass sie bevorzugt die Sesselform annehmen, da diese sterisch weniger gehindert ist. Bei dieser Konformation existieren zwei Arten der Substituentenanordnungen am Ring: axial und äquatorial. Größere Substituenten (bei Monosacchariden die Hydroxygruppen) liegen bevorzugt in der leichter zugänglichen und beweglichen äquatorialen Positionen.<sup>[131,151]</sup> Eine leichtere Veresterung der äquatorialen Hydroxygruppen in Cyclohexan-Derivaten lässt sich ebenfalls darauf zurückführen.<sup>[152]</sup>

### 2.2.1.2. Polysaccharide: Nomenklatur und Struktur

Monosaccharide können sich durch Kondensationen zu größeren Molekülen zusammenschließen. Bei einer glykosidischen Bindung zwischen zwei Monosacchariden entstehen Disaccharide. Dabei reagiert die anomere Hydroxylgruppe mit einer beliebigen OH-Gruppe eines zweiten Monosaccharids in einer säurekatalysierten Kondensations-Reaktion (Schema 17).



Schema 17: Säure-katalysierte Kondensations-Reaktion von zwei Monosacchariden (D-Glucose) zu einem Disaccharid ( $\alpha$ -D-Maltose).

Analog zu den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomeren der Monosaccharide können, in Abhängigkeit von der Stellung der beiden verbundenen Monosaccharide bezüglich der Ring-Ebene, entsprechend  $\alpha$ - und  $\beta$ -glykosidische Bindungen gebildet werden. Bei Oligo- und Polysacchariden sind mehr als zwei Monosaccharide miteinander glykosidisch verbunden. Als Beispiel eines Polysaccharids ist die Struktur von Cellulose gezeigt. Als Hauptbestandteil der Pflanzenwelt ist es eines der häufigsten natürlich vorkommenden Polymere. Sie setzt sich aus kovalent gebundenen  $\beta$ -D-Glucopyranose-Molekülen durch  $\beta$ -glykosidische Bindung zwischen der äquatorialen Hydroxyl-Gruppe am C-4 und dem Kohlenstoffatom C-1 unverzweigt zusammen.<sup>[153]</sup>

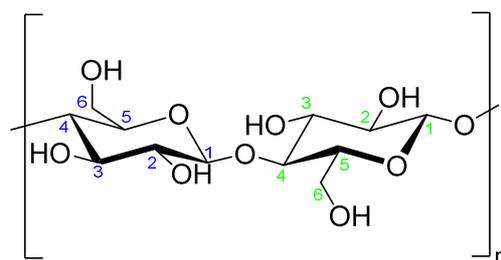


Abbildung 12: Struktur von Cellulose.<sup>[153]</sup>

Bei den Polysacchariden wird noch eine Unterscheidung zwischen Homo- und Heteropolysacchariden gemacht: Homopolysaccharide bestehen lediglich aus einer Sorte

---

Monosaccharide, während bei der Heterovariante mehrere unterschiedliche Monosaccharide verbunden sind, allerdings meistens nur zwei.<sup>[131]</sup>

### 2.2.1.3. Funktion und Verwendung von Sacchariden

Die unterschiedlichsten Zucker (Strukturen für aufgeführte Beispiele in Abbildung 13) dienen im menschlichen Körper den verschiedensten, hauptsächlich metabolischen, Funktionen. So ist zum Beispiel D-Glucose durch den Glucosestoffwechsel (Glykolyse) bekannt als Hauptenergiequelle im menschlichen Körper.<sup>[154]</sup> Ein gestörter Glucosestoffwechsel ist allerdings auch dafür bekannt zu Diabetes und Adipositas zu führen.<sup>[155]</sup> Darüber hinaus kann eine Überexpression an Glucose in Zellen oder auf Zelloberflächen verschiedene Krankheiten, wie zum Beispiel Krebs, indizieren.<sup>[156,157]</sup>

Bei dem Monosaccharid Galactose handelt es sich um einen Zucker der sowohl in freier als auch gebundener Form (z.B. in Oligo- und Polysacchariden) in vielen Bakterien, Pflanzen und Tieren vorzufinden ist.<sup>[158]</sup> So kann es vor allem bei einer Störung des Leloir-Stoffwechsels (Galactose-Stoffwechsel) bei Neugeborenen zu der potenziell tödlichen Erkrankung Galaktosämie kommen. Es kann dabei zu einer Akkumulation der Galaktose in z. B. der Leber und dem Gehirn kommen. Bei einer solchen Erkrankung ist eine Galaktosebeschränkung durch eine gezielte Diät erforderlich.<sup>[158,159]</sup>

Über die auch unter dem Namen Fruchtzucker bekannte Fructose ist bisher lediglich der Metabolismus in der Leber sehr gut studiert, während die Funktion in anderen menschlichen Organen noch relativ unbekannt ist.<sup>[157]</sup>

Eine wichtige Rolle bei der Synthese von Biomolekülen, die Teil des Energietransfers im Körper sind (wie zum Beispiel ATP (Adenosintriphosphat) oder NADP (Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat)), kommt dem Monosaccharid Ribose zu.<sup>[160]</sup>

Von Mannose ist bekannt, dass es unter anderem eine entscheidende Rolle bei der menschlichen Immunabwehr spielt. So kann zum Beispiel durch die Nahrungsmittelzugabe von Mannose das Risiko für Harnwegsinfektionen verringert werden.<sup>[161]</sup>

Ein exotischerer Zucker stellt die Melibiose dar, welche in Pflanzen wie z.B. Kakaobohnen zu finden ist. Allerdings konnte kürzlich gezeigt werden, dass dieser aus Galactose und Glucose gebildete Mehrfachzucker Potential zur Behandlung der Parkinson Krankheit aufweist.<sup>[162,163]</sup>

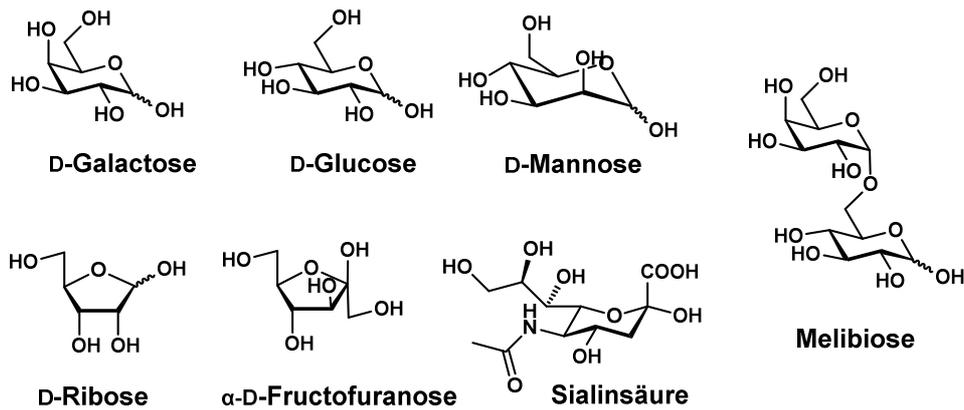


Abbildung 13: Beispiele für hier diskutierte Zuckerstrukturen.

Auch die Eigenschaften der Sialinsäuren sollen hier noch hervorgehoben werden. In der Medizin haben sie in den letzten Jahren ein besonderes Interesse erlangt, da bei verschiedenen Tumorarten eine Überexpression von unterschiedlichen Sialinsäure-Glykanen auf Zelloberflächen festgestellt werden konnte, wodurch eine Möglichkeit besteht die Tumorzelloberflächen durch Sialinsäureselektive-Farbstoffe zu markieren.<sup>[164–168]</sup> Sialinsäure verfügt über mehrere mögliche Bindungsstellen: ein 1,2-Diol (rot, Variante 1) und ein 1,3-Diol von der Glycerinseitenkette (grün, Variante 2) sowie ein  $\alpha$ -Hydroxycarboxylat-Rest (blau, Variante 3) (Abbildung 14).<sup>[169]</sup> Dabei ist der pH-Wert entscheidend, welche Bindungskonfiguration entsteht.<sup>[169,170]</sup>

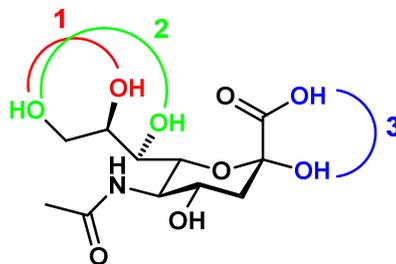


Abbildung 14: Darstellung der möglichen Bindungsstellen der Sialinsäure.<sup>[169]</sup>

Zuletzt sollen noch zwei Beispiele für Oligosaccharide kurz diskutiert werden, deren Strukturen in Abbildung 15 gezeigt sind.

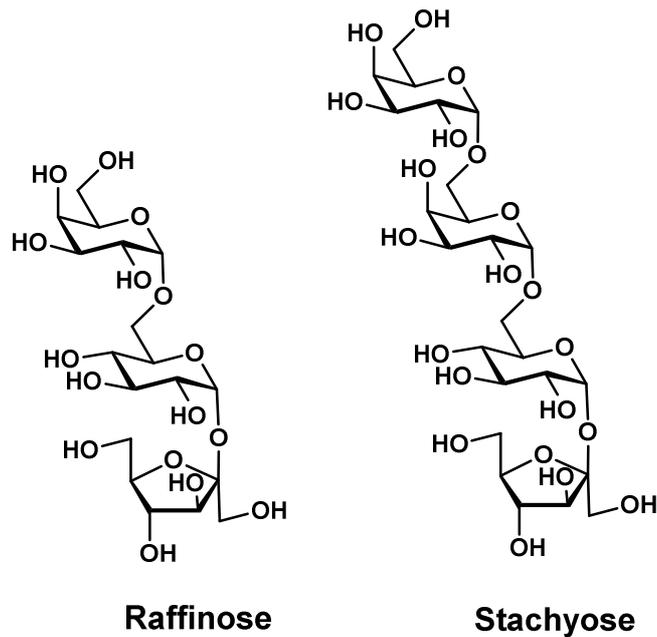


Abbildung 15: Strukturen der Oligosaccharide Raffinose und Stachyose.

Bei Raffinose und Stachyose handelt es sich um zwei  $\alpha$ -Galactoside der Saccharose, die hauptsächlich in (Soja)-Bohnen und Erbsen vorkommen. <sup>[171,172]</sup> Da sie im oberen menschlichen Gastrointestinaltrakt nicht abgebaut werden, können sie erst im Dickdarm fermentiert werden. Je nach Dosis kann dies zu negativen Beschwerden wie Bauchschmerzen, Blähungen und Durchfall oder zu positiven Effekten wie einer Stoffwechselbegünstigung von Darmorganismen führen. Aufgrund dieser Dosisabhängigkeit ist die Überwachung von unverdaulichen Oligosacchariden in Lebensmitteln notwendig. <sup>[171,172]</sup> Die wenigen aufgezeigten Beispiele verdeutlichen wie essenziell es ist, Zucker lokalisieren zu können. Eine gute Möglichkeit, Kohlenhydrate sichtbar zu machen, stellen fluoreszierende Saccharid-Sonden auf Boronsäure-Basis dar, wie sie im nächsten Kapitel vorgestellt werden.

## 2.2.2. Boronsäuren und ihre Ester

### 2.2.2.1. Historie

Im vorhergehenden Unterkapitel wurde gezeigt, dass es essenziell ist, Sonden zu entwickeln, die in der Lage sein können, verschiedene Kohlenhydrate selektiv zu markieren. Diese Selektivität stellt aufgrund der strukturellen und chemischen Ähnlichkeit der Saccharide eine der größten Herausforderungen für die Entwicklung von Saccharid-Sonden dar. So werden Polysaccharide z.B. mit Bromcyan aktiviert und anschließend mit einem Fluorophor markiert. <sup>[173]</sup> Markierungen mit fluoreszierenden Liganden im Anschluss an eine

reduktive Aminierung sind ebenfalls bekannt.<sup>[174,175]</sup> Als sehr erfolgreich haben sich jedoch Boronsäure-Derivate erwiesen (Abbildung 16).

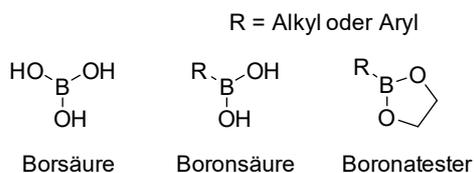


Abbildung 16: Allgemeine Struktur von Borsäure, Boronsäure und Boronatester.

Die ersten Anzeichen auf Wechselwirkungen zwischen Borsäure (unsubstituierte Boronsäure) und Polyolen gab es bereits vor fast zwei Jahrhunderten im Jahre 1832 durch Biot.<sup>[176]</sup> Er fand heraus, dass bei der optischen Rotation von Weinsäure eine Anomalie vorliegt. Diese Anomalie kann jedoch durch Anwesenheit von Borsäure verändert werden.<sup>[177]</sup> Allerdings war die Tragweite seiner Entdeckung damals noch keinem bewusst. Erst 1954, konnte auf Basis von Messungen mit verschiedenen Di- und Polyolen die Vermutung aufgestellt werden, dass bei der Reaktion von Boronsäuren mit Sacchariden zyklische Ester gebildet werden.<sup>[178]</sup> Das Postulat über die zyklischen Ester konnte fünf Jahre später (1959) von Lorand und Edwards durch ihre Untersuchungen von Borsäure und Phenylboronsäure mit Monosacchariden bestätigt werden. Außerdem konnten die beiden erstmals Affinitätsmessungen von verschiedenen Monosacchariden durchführen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass Fructose an Monoboronsäure besser bindet als Mannose und Glucose. Zusätzlich untersuchten sie, wie sich Änderungen des pH-Wertes auf die Bindungen zwischen Zucker und Boronsäuren auswirken. Dabei fanden sie heraus, dass das Bor-Atom beim Eingehen der Bindung zu einem Diol eine tetraedrische Geometrie annehmen muss.<sup>[179]</sup> Allerdings war bis dato die Entwicklung dieses Forschungsgebietes nicht sehr weit vorangeschritten, wie die Zeitskala in Abbildung 17 zeigt.

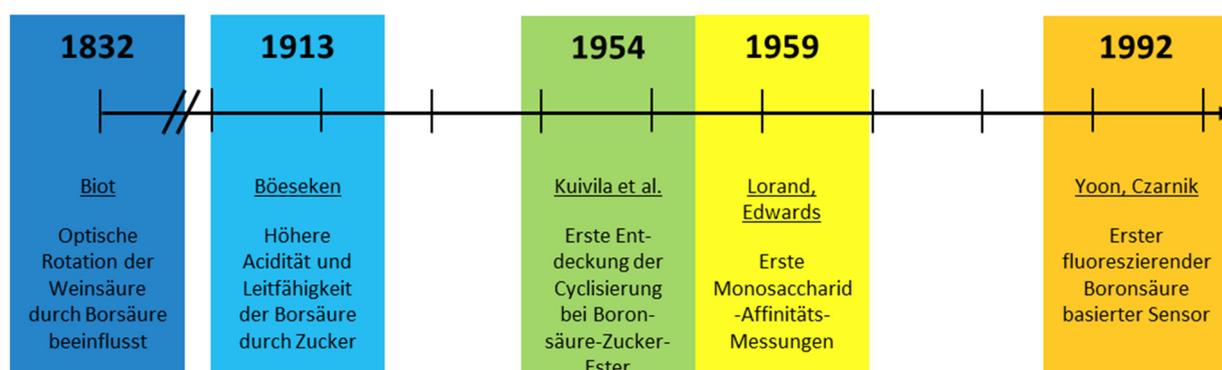


Abbildung 17: Einige Meilensteine in der Entwicklung von Zuckersonden auf Boronsäure-Basis.<sup>[176-182]</sup>

---

Das weite Feld der Boronsäure-Zucker-Sonden wurde erst über 30 Jahre später (1992) von Yoon und Czarnik eröffnet, indem sie den ersten fluoreszierenden Chemosensor für Polyole entwickelten. Dadurch konnte eine Detektion und damit einhergehend erstmals eine Quantifizierung von Monosacchariden durchgeführt werden. Anhand von Änderungen des  $pK_a$ -Wertes (basierend auf pH-abhängigen Fluoreszenzmessungen) konnte auf die Konzentration der zugesetzten Fructose geschlossen werden: Je geringer der  $pK_a$ -Wert, desto höher ist die Konzentration der Fructose. Die beiden entwickelten ihren Sensor auf Basis von Anthracen, welcher in Abbildung 18 strukturell dargestellt ist.<sup>[182]</sup> Fluoreszierende Sonden sind aufgrund ihrer hohen Sensitivität und der Möglichkeit sie auch *in situ* verwenden zu können, die heutzutage am weitesten verbreiteten.<sup>[183]</sup>

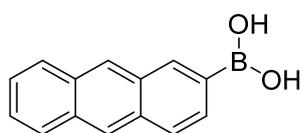
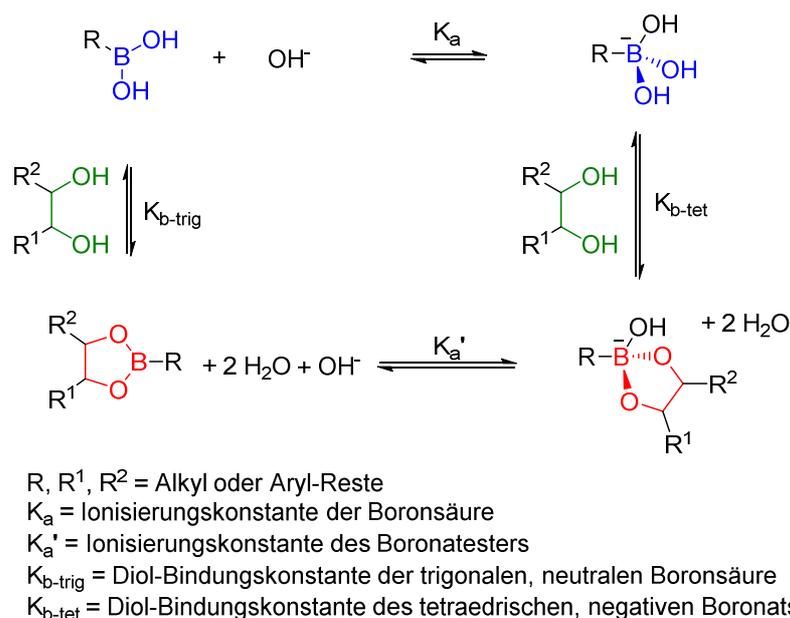


Abbildung 18: Struktur der ersten fluoreszierenden Zuckersonde auf Boronsäure-Basis.<sup>[182]</sup>

#### 2.2.2.2. Grundlagen der Boronatester-Bildung

Die Grundlage dieser Sensitivitäten bildet die Geometrieänderung des zentralen Bor-Atoms der Boronsäure.<sup>[179]</sup> Das Zentrum von Boronsäuren bildet das trivalente Bor-Atom, welches mit einem Alkyl- oder Aryl-Rest und zwei Hydroxyl-Gruppen kovalent gebunden ist. Aufgrund eines Valenzelektronen-Defizits besitzt das  $sp^2$ -hybridisierte Bor ein freies vakantes p-Orbital, wodurch es als Lewis-Säure agiert. Durch dessen orthogonale Lage zu den drei Substituenten erfährt die Boronsäure in ihrer neutralen Form eine trigonal planare Geometrie. Sowohl die freien Hydroxyl-Gruppen, als auch die Lewis-Azidität führen eigentlich zu einem leicht polaren Charakter der Boronsäuren (Abbildung 16).<sup>[169,179]</sup> Die Substituenten R haben ebenfalls einen Einfluss auf die Lewis-Azidität. Mit Aryl-Substituenten ist eine erhöhte Lewis-Azidität im Vergleich zu alkylierten Boronsäuren festzustellen. Durch zusätzliche elektronenziehende Gruppen an den Aryl-Substituenten wird die Säurestärke noch weiter erhöht. Im Gegensatz dazu, verringern sterisch anspruchsvolle Reste, unmittelbar benachbart zur Boronsäure, die Säurestärke.<sup>[179,184,185]</sup> Eine besondere Verhaltensweise stellt die Instabilität der Boronsäuren dar, wenn sie als Feststoff gelagert werden. Dabei kann es durch leichte Dehydratisierung zur Bildung von Anhydriden oder Boroxinen kommen. Vermeiden lässt sich diese ungewünschte Nebenreaktion durch Lagerung in etwas feuchtem Zustand durch Zugabe von Lösungsmitteln oder als Ester. Boronsäuren als milde organische Lewis-Säuren sind dafür bekannt, dass sie im wässrigen Medium mit 1,2- und 1,3-Diolen in thermodynamischen Gleichgewichtsreaktionen zu

zyklischen Estern reagieren (Schema 18).<sup>[169,183,186]</sup> Handelt es sich bei  $R_1$  und  $R_2$  um H-Atome (Schema 18), liegt die Empfindlichkeit der Pentazyklen gegenüber Wasser deutlich höher, im Vergleich zu Alkyl-substituierten Ringen.<sup>[187]</sup> Alkylsubstituierte Diolen verringern auf der einen Seite die Reaktionsgeschwindigkeit, sind allerdings auf der anderen Seite in der Lage, die thermodynamisch stabileren Ester zu bilden.<sup>[188]</sup> Produkte von Boronsäuren und Diolen werden, in Analogie zu Carboxylat- bzw. Carbonsäureestern (= Produkte aus Alkoholen und Carbonsäuren), Boronat- bzw. Boronsäureester genannt.<sup>[176]</sup>



Schema 18: Bildung von Boronatestern (rot) aus Boronsäure-Derivaten (blau) und Diolen (grün).<sup>[183,189]</sup>

Eine kovalenten Bindung von Boronsäuren und Diolen bewirkt, abhängig vom pH-Wert der Lösung, eine Geometrieänderung am Bor-Atom.<sup>[179]</sup> Neuere Studien bestätigen diesen Befund: aus dem trivalenten, neutralen und planaren  $sp^2$ -hybridisierten Bor-Atom wird in einer solchen Gleichgewichts-Reaktion ein tetravalentes, anionisches und tetraedrisches  $sp^3$ -hybridisiertes Bor-Atom. Dieser Sachverhalt konnte auch vor allem durch kristallographische Studien von Boronatestern und Boronsäure in neutraler und negativer Form bestätigt werden.<sup>[190–196]</sup> Wie in Schema 18 dargestellt, existiert sowohl die Boronsäure, als auch der Boronsäureester in  $sp^2$ - und  $sp^3$ -hybridisierter Form. Allerdings müsste bei Bildung des zyklischen Esters aus der neutralen, trigonalen Boronsäure eine größere Winkeländerung erfolgen als aus der anionischen Form heraus. Aufgrund dessen reagieren Boronsäuren bevorzugt im basischen Milieu mit Diolen von Sacchariden ( $K_{b-trig} < K_{b-tet}$ ).<sup>[156,183,197,198]</sup> Als  $K_{b-trig}$  wird dabei die Bindungskonstante bei der Umsetzung von trigonaler Boronsäure zum entsprechenden trigonalen Ester bezeichnet, während es sich bei  $K_{b-tet}$  um die Bindungskonstante bei der Umwandlung der tetraedrischen Boronsäure zum tetraedrischen

Ester handelt (Schema 18).<sup>[199]</sup> Außerdem handelt es sich bei der Boronatester-Bildung um eine entropisch begünstigte Reaktion, weil zwei Wassermoleküle bei der Bildung frei werden. Ein Vergleich der Ionisierungskonstanten der Boronsäure  $K_a$  und des Boronsäureesters  $K_a'$  zeigt, dass gewöhnlich  $pK_a' < pK_a$  ist und somit die Ester meistens stärker sauer sind als ihre Säuren.<sup>[169,183,200]</sup> Als Abschätzung für den pH-Wert bei Messungen in Pufferlösungen kann Gleichung 1 genommen werden: der optimale pH-Wert für Boronatester-Bildungsreaktionen sollte zwischen dem  $pK_a$  der Boronsäure und dem  $pK_a$  des Diols liegen.<sup>[201–204]</sup>

$$pH_{optimal} = \frac{pK_a(\text{Säure}) + pK_a(\text{Diol})}{2} \quad (1)$$

Allerdings wird die Allgemeingültigkeit von Gleichung 1 eingeschränkt.<sup>[203]</sup> Es wurde in Experimenten gezeigt, dass es auch Abweichungen von dieser Gleichung geben kann. Als Gründe ziehen die Autoren die Nichtberücksichtigung von Lösungsmittelleffekten, Wechselwirkungen mit den Puffer-Ionen und andere intermolekulare Wechselwirkungen wie zum Beispiel Sterik und Wasserstoffbrückenbindungen in Betracht.<sup>[203]</sup>

Aus Kapitel 2.2.1.1 sind die prozentualen Anteile der Furanosen und Pyranosen im wässrigen Milieu bekannt. Diese Anteile wirken sich auf die Affinitäten von Monoboronsäuren zu Monosacchariden aus. So wird häufig die Furanose-Form wegen der bevorzugten Lage des anomeren Hydroxyl-Paares in syn-periplanarer Stellung und der geringeren Ringspannung im entstehenden zyklischen Boronatester der Pyranose vorgezogen.<sup>[205,206]</sup> Somit ergeben sich aus Tabelle 2 die Affinitäten für die meisten Monoboronsäuren in der Reihenfolge Fructose > Galactose > Mannose > Glucose. Dieser Verlauf stimmt auch mit den Daten überein, die Lorand und Edwards etwa 30 Jahre zuvor bereits bestimmt hatten. Aufgrund dessen reagieren Monoboronsäuren häufig selektiv mit Fructose, während Diboronsäuren häufig bevorzugt Glucose binden.<sup>[207–212]</sup> Diese allgemeine Aussage über die Affinitäten zu Furanose und Pyranose wurde mittels NMR-Untersuchungen genauer analysiert.<sup>[205]</sup> Es wird zusätzlich in exo- und endozyklische, cis- und trans- sowie vicinale, 1,2- und 1,3-Diole unterschieden. Zur Untermauerung dieser Aussage existieren in der Literatur viele Beispiele, die in einem Review zusammengefasst wurden.<sup>[169]</sup> So ist die Selektivität zu endozyklischen vicinalen Diolen in der Furanose-Form am stärksten, in der die Hydroxyl-Gruppen, die den Boronatester bilden, und der Substituent an Position 4 in gegenüberliegenden Ringebenen liegen. Die weiteren Selektivitäten werden wie folgt eingeteilt: endozyklische-vicinale-Diol-Furanose (1) > exozyklische-1,2-Diol-Pyranose (2) > exozyklische-1,2-Diol-Furanose (3) > cis-vicinale-Diol-Pyranose (4) > exozyklische-cis/trans-4,6-Diol-Pyranose (klein,  $K = 3-6 \text{ M}^{-1}$ ) >> endozyklische-trans-vicinale-Diol-Pyranose/Furanose (sehr klein;  $K = 0-1 \text{ M}^{-1}$ ). Abbildung 19 zeigt die entsprechenden

Strukturen und die Größenordnungen für die Stabilitätskonstanten von Boronatestern (die letzten beiden sind wegen ihrer vernachlässigbaren Größe aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt).<sup>[169]</sup>

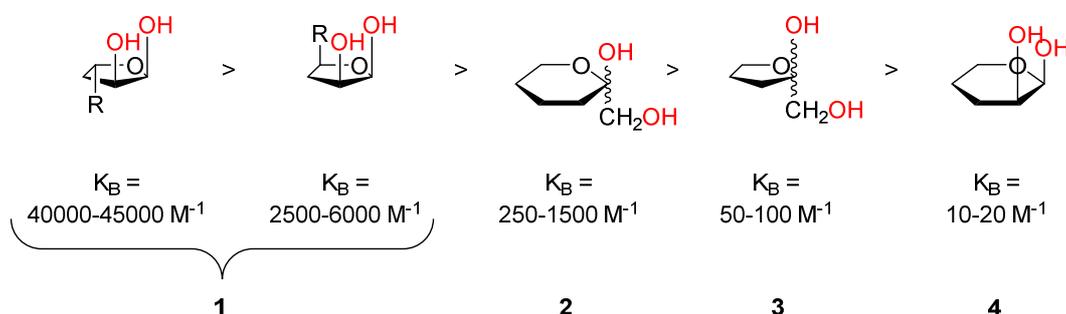


Abbildung 19: Die Affinitäten von Boronsäuren zu Saccharid-Diolen mit den entsprechenden Stabilitätskonstanten.<sup>[169]</sup>

Die Bestimmung solcher Stabilitäts- bzw. Dissoziationskonstanten von Boronsäure-Zucker-Komplexen kann anhand unterschiedlicher Methoden erfolgen. Sowohl die variierende Fluoreszenz-Intensität als auch die Variation der Absorptionsstärke können hier als Grundlage der Berechnung dienen (siehe Kapitel 2.4.1).

### 2.2.2.3. Fluoreszierende Boronsäure-basierte Saccharid-Sonden

Beispiele für Mono- und Diboronsäure-basierte Saccharid-Sonden basierend auf unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen wurden in zahlreichen Reviews bereits mehrfach aufgezeigt.<sup>[156,169,183,201,213,214]</sup> Hier soll nur exemplarisch auf die in der Literatur existierenden Bodipy-basierten Varianten eingegangen werden (Abbildung 20).

So existiert z. B. ein Boronsäure-Sensor indem die  $\text{BF}_2$ -Einheit durch Boronsäure ersetzt ist und damit unterschiedliche Glucose-Anomere unterschieden werden können. Die Fluoreszenzquantenausbeute dieses ohnehin schon schwach fluoreszierenden Bodipys ( $\Phi_{\text{Fl}}$  (DCM) = 0.051) wird durch Zuckerbindung etwa halbiert. Die Lage der elektronischen Spektren bleibt durch Glucosebindung jedoch nahezu unverändert, während die Absorptionskoeffizienten leicht variieren.<sup>[215]</sup>

Ein Beispiel für einen  $\alpha$ -Boronsäure-Bodipy zur direkten elektrochemischen Detektion von Glucose existiert ebenfalls. Hierfür wurde ein Bisboronsäure-Bodipy synthetisiert, welcher selektiv für Glucose bei gleichzeitiger Anwesenheit von Fructose und Saccharose ist und ein Detektionslimit von 1.42  $\mu\text{M}$  für Glucose besitzt. Als Folge der Glucose-Bindung kommt es zu einer leichten Blau-Verschiebung der Emissionsbande und zu einer Abnahme der Fluoreszenzintensität von etwa 25%.<sup>[216]</sup>

Die meisten Forschergruppen jedoch haben die Boronsäure zum Markieren von

---

Kohlenhydraten in die meso-Position des Bodipys eingebaut und damit unterschiedliche Saccharid-Selektivitäten erreicht.<sup>[184,207,217–220]</sup> Allen gemeinsam ist die Einführung der Boronsäure über einen Aromaten in meso-Position. Der Unterschied der meso-borylierten Bodipys ergibt sich durch die Substituenten am eingeführten meso-Aromaten oder durch die  $\alpha$ -Substituenten am Bodipy-Gerüst. So zeigen die Bodipys aus der MESO 2 Gruppe Bindungen zu Lactat ( $K_D = 60$  mM), L-Malat ( $K_D = 30$  mM) und L-Ascorbat ( $K_D = 30$ -35 mM). Jedoch binden sie nicht an D-Fructose, D-Glucose und D-Mannose. Bei Lactat und Malat ist ein Intensitätsanstieg der Emissionsmaxima zu sehen, während bei Ascorbat-Bindung eine Verringerung der Intensität beobachtet werden kann.<sup>[217]</sup> Die MESO 3 Bodipys weisen dagegen etwas höhere  $pK_a$ -Werte und verschiedene Selektivitäten auf. So zeigen D-Fructose und D-Sorbitol für den grün fluoreszierenden Bodipy ( $R = CH_3$ )  $K_B$ -Werte von  $297\text{ M}^{-1}$  bzw.  $262\text{ M}^{-1}$  und für D-Galactose und D-Glucose nur Werte im Bereich von  $K_B = 30\text{ M}^{-1}$ . Der rot fluoreszierende Bodipy bindet insgesamt schlechter an alle vier Monosaccharide, wobei zu D-Galactose und D-Glucose nahezu keine Bindung aufgebaut wird.<sup>[218]</sup> MESO 4 unterscheidet sich etwas von den bisher vorgestellten meso-borylierten Bodipys, weil sich die Boronsäure nicht in der para-Position am meso-Aromaten, sondern in der meta-Position befindet. Es handelt sich hierbei um einen Bodipy der eine hohe Affinität für D-Fructose ( $K_B = 1475\text{ M}^{-1}$ ) gegenüber von D-Galactose ( $K_B = 402\text{ M}^{-1}$ ), D-Mannose ( $K_B = 79\text{ M}^{-1}$ ), D-Glucose ( $K_B = 29\text{ M}^{-1}$ ) und D-Saccharose ( $K_B = 10\text{ M}^{-1}$ ) in einer Wasser-Ethanol-Mischung zeigt.<sup>[220]</sup> Allerdings existiert bisher nur ein Bodipy-Beispiel, wo die  $\beta$ -Position mit einer Boronsäure substituiert ist und zum Verknüpfen von Monosacchariden verwendet wird.<sup>[221]</sup> Hierbei können bei einem pH-Wert von 9.5 sehr gute Bindungskonstanten für Galactose ( $K_B = 862\text{ M}^{-1}$ ) und Mannose ( $K_B = 898\text{ M}^{-1}$ ) erhalten werden. Die Bindung an Fructose ist nur schwach ( $K_B = 45\text{ M}^{-1}$ ) und für Glucose ( $K_B = 2\text{ M}^{-1}$ ) ist nahezu keine Affinität vorhanden.<sup>[221]</sup>

Wie die Beispiele zeigen, können die Saccharid-Selektivitäten durch die Wahl der Substitutionen variiert werden. Sowohl die Position der Boronsäure als auch die Substitutionen am Bodipy-Gerüst und in der näheren Umgebung der Boronsäure üben einen Einfluss aus. Ebenso können die  $pK_a$ -Werte der Boronsäure dadurch beeinflusst werden, wie einige der Beispiele zeigen. Allerdings wäre eine Senkung des  $pK_a$ -wertes für die Anwendung im physiologischen pH-Bereich ( $pH = 7.4$ ) wünschenswert.



---

Hinzu kommen eine hohe Beladungskapazität und geringe Kosten die an das Material gestellt werden.<sup>[228]</sup>

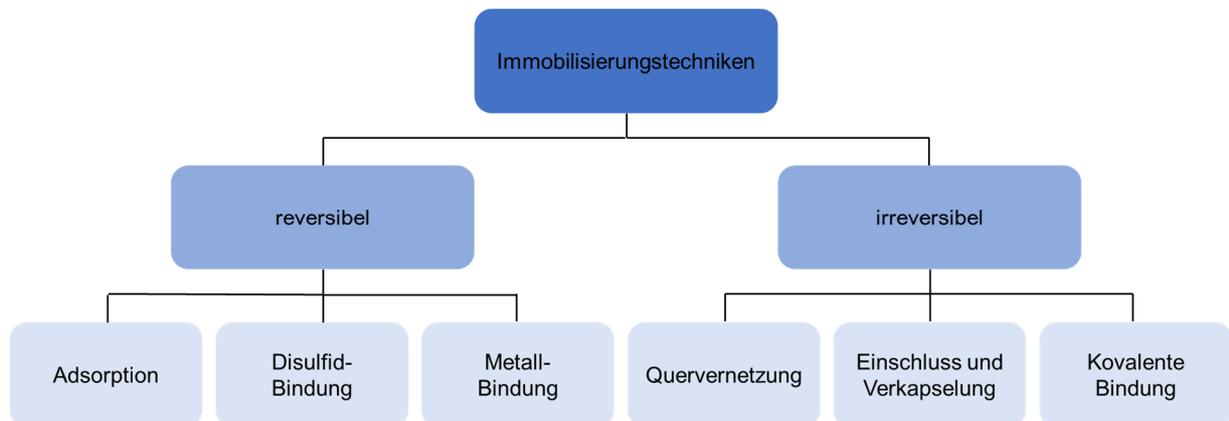


Abbildung 21: Reversible und irreversible Immobilisierungstechniken.<sup>[230]</sup>

### 2.3.1. Adsorption

Bei der physikalischen Adsorption handelt es sich um eine häufig verwendete Methode um Moleküle reversibel zu immobilisieren. Hierbei spielen zumeist van der Waals Kräfte, ionische oder hydrophobe Wechselwirkungen, Affinitätsbindungen oder Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Trägeroberfläche und den zu immobilisierenden Molekülen eine Rolle (Abbildung 22).<sup>[228]</sup>

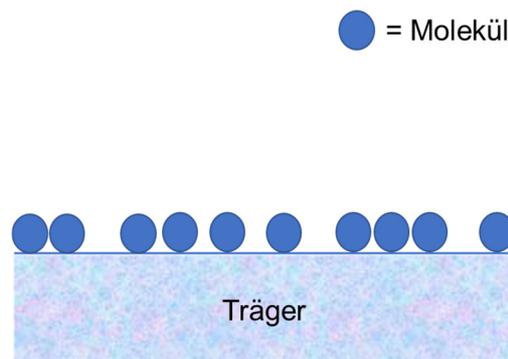


Abbildung 22: Adsorptive Immobilisierung.<sup>[228]</sup>

Da es sich jedoch um relativ schwache Kräfte handelt, ist eine Beladungskontrolle und -reproduzierbarkeit häufig nur sehr eingeschränkt vorhanden. Schwankungen von pH-Wert, Temperatur oder Ionenstärke können bei diesen schwachen Bindungen bereits zum Ablösen des immobilisierten Agens führen.<sup>[228]</sup> Allerdings bietet diese Methode auch aufgrund der vielfältigen Bindungsmöglichkeiten eine Vielzahl an möglichen Trägermaterialien. So können verschiedene Fluorophore oder markierte Biomoleküle z. B. auf Cellulose<sup>[231]</sup>,

---

Aktivkohle<sup>[232,233]</sup>, Siliciumdioxid-Nanopartikel<sup>[234]</sup>, Biokeramik<sup>[235]</sup> und auf Glasoberflächen<sup>[236,237]</sup> adsorbiert werden.

### 2.3.2. Einschluss und Verkapselung

Im Gegensatz zur adsorptiven Immobilisierung handelt es sich bei den einschließenden Methoden um irreversible Techniken. Die zu immobilisierende Komponente wird in eine Trägermatrix oder in Fasern eingeschlossen (Einschluss, Abbildung 23a) oder in semipermeablen Membranen verkapselt (Verkapselung, Abbildung 23b).<sup>[228]</sup> Beide Prinzipien beruhen auf der Fixierung des zu immobilisierenden Moleküls im Innern der Matrizen bzw. Membranen. Entscheidend ist dabei die richtige Porengröße. Sind die Poren zu groß, kann Material austreten und die Beladung wird verringert. Auch bei zu kleinen Poren erfolgt eine verringerte Beladungsdichte, da nur die äußere Oberfläche besetzt wird.<sup>[228]</sup> Techniken die auf diesen Einschluss-Prinzipien beruhen, kommen vor allem bei immobilisierten Enzymen zum Einsatz.<sup>[238–243]</sup> Der Katalysator oder das Enzym sind in dem Träger fixiert und können ihren Raum nicht verlassen, während Edukte in die Kapseln oder Matrizen ein- und Produkte wieder austreten können. Ein weiterer Vorteil dieser Methoden besteht in der Stabilisierung der immobilisierten Enzyme.<sup>[243,244]</sup>

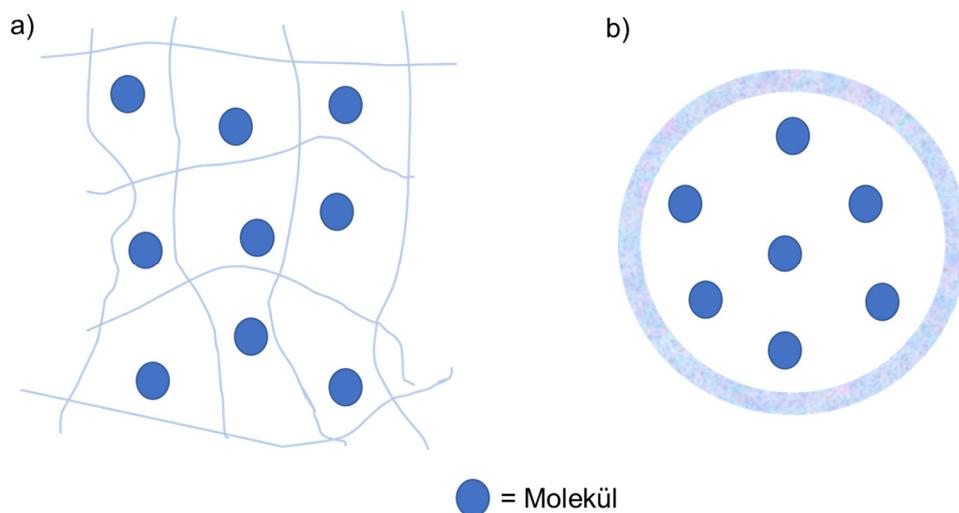


Abbildung 23: Immobilisierung über a) Einschluss und b) Verkapselung.<sup>[228]</sup>

### 2.3.3. Kovalente Bindung

Auch die kovalente Bindung zählt zu den irreversiblen Immobilisierungstechniken. Das zu immobilisierende Molekül wird durch eine starke und stabile kovalente Bindung auf einer Trägeroberfläche verankert (Abbildung 24). Häufig wird das verwendete Trägermaterial mit einer aktivierenden Komponente vorbehandelt. So kann z. B. Glas als Träger zum Einsatz

---

kommen, wobei mittels Trifluoressigsäure die Si-OH Gruppen auf der Oberfläche zu Beginn des Prozesses aktiviert werden können. Die Aktivierung erfolgt in der Regel so, dass auf der Oberfläche stark elektrophile Gruppen entstehen, die mit nukleophilen Bausteinen der zu immobilisierenden Moleküle binden.<sup>[228]</sup> Enzyme werden häufig kovalent immobilisiert, um ihre Stabilität zu erhöhen.<sup>[245,246]</sup> Wie viele Beispiele in der Literatur zeigen, werden kovalente Bindungen häufig in Verbindung mit Glas-Oberflächen verwendet. Denn die Vorteile von Glas als Träger sind vielseitig, vor allem auch in der Fluoreszenzspektroskopie. Es ist hitzeresistent, spülresistent, wiederverwendbar und zeigt nur ein geringes Fluoreszenz-Hintergrundsignal.<sup>[247]</sup> Die Immobilisierung mittels kovalenter Bindung kann hierbei entweder direkt oder über eine Verlinkung erfolgen. So können z.B. silanisierte Pyren-Derivate auf Glasoberflächen kovalent gebunden werden und so Reaktionsverfolgungen auf Einzelmolekülniveau ermöglichen.<sup>[248]</sup> Auch eine Enzymanbindung an eine vorbehandelte Oberfläche von Glaskugeln kann so verwirklicht werden.<sup>[249]</sup> Kovalente Immobilisierung von freien Kohlenhydraten auf Hydrazin-behandelten Glasoberflächen zur Herstellung von Kohlenhydrat-Mikroarrays sind auch literaturbekannt.<sup>[250]</sup>

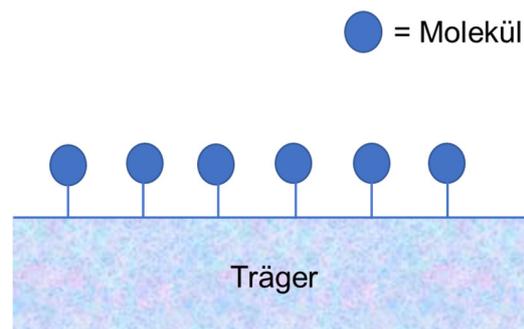


Abbildung 24: Immobilisierung durch irreversible kovalente Bindung an ein geeignetes Trägermaterial.<sup>[228]</sup>

Eine Besonderheit der kovalenten Immobilisierung stellt die Disulfidbindung dar (Abbildung 25). Es handelt sich um eine reversible kovalente Immobilisierungsmöglichkeit. Bei der Disulfid-Methode kommt es zu einer stabilen kovalenten Bindung zwischen dem aktivierten Träger und freien Thiol-Gruppen im Substrat. Diese Bindung kann unter milden Bedingungen z. B. unter Verwendung von Dithiothreitol (DTT) gespalten werden. Einen besonderen Vorteil erhält diese Methode durch Beeinflussung der Thiolgruppen-Reaktivität durch den pH-Wert.<sup>[228]</sup> Beispiele für diese Art der Immobilisierung finden sich z. B. bei Enzymen und Proteinen wieder.<sup>[251,252]</sup>

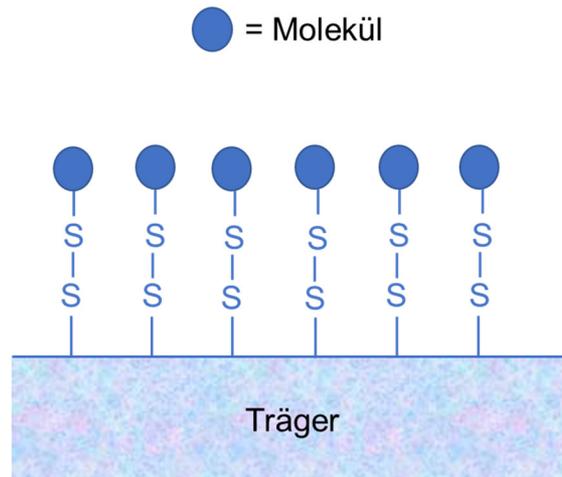


Abbildung 25: Immobilisierung durch reversible kovalente Disulfidbindung.<sup>[228]</sup>

### 2.3.4. Metall- oder Chelatbindung

Die Metallbindung basiert auf der Fähigkeit bestimmter Molekülbausteine (z.B. Seitenketten von Aminosäuren), schwach gebundene Liganden von Metallionen zu ersetzen (Abbildung 26).<sup>[228]</sup>

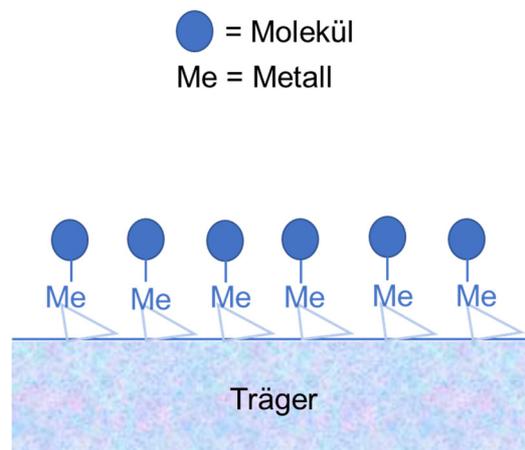


Abbildung 26: Immobilisierung über koordinative Metallbindung.

Übergangsmetallsalze oder -hydroxide werden durch Erhitzen oder Neutralisieren auf der Trägeroberfläche ausgefällt.<sup>[228]</sup> Diese können mit nukleophilen Gruppen auf der Matrix koordinieren. Aufgrund sterischer Faktoren ist es für die Matrix allerdings nicht möglich, alle Koordinationspositionen des Metalls zu besetzen. Somit bleiben einige der Positionen frei um mit Gruppen der zu immobilisierenden Moleküle (z.B. Enzyme) zu koordinieren.<sup>[228,253]</sup> Jedoch ist dadurch eine Kontrolle der Beladung schwierig. Verbessert werden kann dies durch chelatbildende Liganden, die durch kovalente Bindungen auf den Trägern immobilisiert

---

werden. Die Metallionen werden anschließend koordiniert und die gebildeten stabilen Komplexe können für Immobilisierungen genutzt werden.<sup>[230,253]</sup> Leichte Regeneration des Trägers, hohe Immobilisierungsraten, geringe Leckagen, starke Bindungen sowie eine große Anzahl an möglichen chelatbildenden Anionen bilden die Vorteile dieser Methode.<sup>[228]</sup> Die Reversibilität kann sowohl durch Einsatz eines stärkeren Chelatbildners (z.B. Ethylendiamintetraacetat = EDTA) oder durch Überschuss eines konkurrierenden Liganden erreicht werden.<sup>[228]</sup> Viele Proteine besitzen unterschiedliche Affinitäten zu Metallionen, sodass sich diese Technik bei der Protein-Aufreinigung zu Nutze gemacht werden kann.<sup>[254]</sup>

### 2.3.5. Quervernetzung

Bei der Quervernetzung ist im Gegensatz zu den vorherigen Methoden kein Träger erforderlich. Auch hierbei handelt es sich um eine irreversible Immobilisierungstechnik. Vor allem bei Enzymen kommt sie zum Einsatz, wobei zwei Techniken unterschieden werden können: Quervernetzung von Enzymaggregaten (cross-linking enzyme aggregates CLEA) und Quervernetzung von Enzymkristallen (cross-linking enzyme crystals CLEC). Bei der CLEA wird Glutaraldehyd verwendet, um Enzyme zu kristallisieren. Bei CLEC werden durch Zugabe von Salzen, organischen Lösungsmitteln oder nichtionischen Polymeren Aggregate gebildet. Der Vorteil dieser Methoden liegt in der höheren Resistenz der Enzyme gegen Denaturierung begründet.<sup>[228]</sup>

● = Molekül

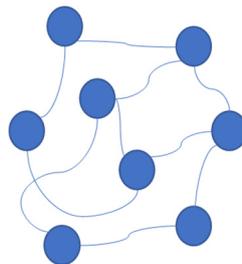


Abbildung 27: Immobilisierung über Quervernetzung der Moleküle.<sup>[228]</sup>

### 2.3.6. Ein Anwendungsbeispiel für immobilisierte Moleküle

Für Fluoreszenzmessungen auf Einzelmolekülniveau z.B. mit Mikroskopen sind vor allem starke kovalente Bindungen oder adsorptive Kräfte wünschenswert, da sie eine gute Fixierung der Moleküle ermöglichen. Gleichzeitig ermöglichen sie einen engen Kontakt zwischen der Trägeroberfläche und dem zu immobilisierenden Molekül.<sup>[255]</sup> Dadurch ist es

---

möglich Moleküle in ihrer Richtung zu orientieren. Totale interne Reflektions-Fluoreszenz-Mikroskopie (TIRF = total internal reflection fluorescence microscopy) in Kombination mit einer dafür geeigneten Kamera ist, aufgrund des erzeugten kleinen Bereiches des evaneszenten Feldes, sensitiv genug, um die Detektion auf Einzelmolekülniveau durchführen zu können. Wichtig dabei ist, dass sich eine geeignete Menge an Fluorophoren innerhalb des evaneszenten Feldes befinden. Je nach Lage der Übergangsdipolmomente der Fluorophore ergeben sich Unterschiede in den TIRF-Bildern. Entweder liegen sie senkrecht zur Grenzfläche (Donuts) oder zufällig orientiert zur Grenzfläche (volle Kreise). Wenn Emissionsmuster gesehen werden, kann daher mit TIRF zusätzlich eine Aussage über die Orientierung der Emissionsdipolmomente und damit über die Lage der Moleküle auf Einzelmolekülniveau getroffen werden.<sup>[256]</sup> Die Emission der Moleküle ist durch eine  $\sin^2(\theta)$ -Funktion charakterisiert, wobei die maximale Intensität in einer Bulk-Lösung bei einem Winkel von  $90^\circ$  auftritt. Durch die Einführung der Grenzfläche in der x-y-Richtung beim TIRF, kommt es zur Ablenkung von diesem Winkel und infolgedessen zu geringeren Emissionsintensitäten. Wird diese Emission über ein Mikroskopobjektiv entlang der z-Richtung gemessen, kommen die beschriebenen Donuts mit radialer Polarisation zustande.<sup>[257,258]</sup>

## 2.4. Charakterisierungen mittels Fluoreszenzspektroskopie

Aufgrund der hohen Sensitivität und der damit einhergehenden geringen notwendigen Probenmengen sind Charakterisierungen, die auf Fluoreszenz beruhen, weit verbreitet. Einen Überblick über die in dieser Dissertation verwendeten fluoreszenzspektroskopischen Methoden und welche Daten daraus erhalten werden können, wird in den folgenden Unterkapiteln näher erläutert.

### 2.4.1. $pK_a$ - und $K_B$ -Bestimmungen

Wie bereits zuvor in Kapitel 2.2.2 erläutert, ändert sich sowohl die Geometrie als auch der Ladungszustand des Bor-Atoms der Boronsäure bei Änderung des pH-Wertes. Darauf basierend können  $pK_a$ - und  $K_B$ -Werte bestimmt werden. Zwei der effizientesten Methoden stellen dabei die UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektroskopie dar,<sup>[198,200,202,259–262]</sup> unter anderem auch wegen ihrer guten Empfindlichkeiten und Messgenauigkeiten.

#### 2.4.1.1. $pK_a$ -Bestimmungen

Als  $pK_a$ -Wert einer Boronsäure wird der pH-Wert bezeichnet, bei dem 50% der Boronsäure in anionischer Form vorliegt.<sup>[202]</sup> Für die Bestimmung der  $pK_a$ -Werte wird eine bestimmte

Konzentration an Fluoreszenzfarbstoff in Lösung vorgelegt. Als Lösemittel dienen pH-Puffer im Bereich 4.5 bis 11.5. Die Bestimmung des  $pK_a$ -Wertes des reinen Farbstoffes erfolgt ohne Zusatz von Liganden. Bei Untersuchungen von  $pK_a$ -Wertänderungen, in Folge einer Bindung, wird eine konstante Konzentration des Liganden zugegeben. Von allen Lösungen werden sowohl Absorptions-, als auch Fluoreszenzspektren gemessen und es erfolgt eine graphische Auswertung. Es werden die Maxima der Absorptions- und Fluoreszenzintensitäten der Boronatester (Abbildung 28 die rot verschobene Bande) zur Bestimmung des Verhältnisses  $R$  nach Gleichung 2 verwendet.<sup>[263]</sup>

$$R = \frac{I - I_{min}}{I_{max} - I_{min}} \quad (2)$$

Wobei  $I$  die maximale Intensität bei jedem pH-Wert,  $I_{min}$  die absolute minimale und  $I_{max}$  die absolute maximale Intensität für die jeweilige Titration darstellt. Im Anschluss kann der  $pK_a$ -Wert durch Auftragung von  $R$  als Funktion des pH-Wertes entweder mit Gleichung 3 oder 4 erhalten werden.<sup>[263]</sup>

$$R = \frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a}} \quad (3)$$

$$R = 1 - \frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a}} \quad (4)$$

In Abbildung 28 ist beispielhaft das Resultat für einen Bodipy aus dieser Arbeit gezeigt. Die Absorptionsmaxima der rot verschobenen Bande (Abbildung 28a) nehmen zu und die Emissionsmaxima nehmen hier ab (Abbildung 28b), sodass die Absorptionstitrationskurve mit Gleichung 3 und die Emissionstitrationskurve mit Gleichung 4 angepasst werden kann und die gewünschten  $pK_a$ -Werte liefert. Alternativ kann die Bestimmung des  $pK_a$ -Wertes auch aus dem Schnittpunkt der beiden Anpassungs-Kurven (Abbildung 28c) erfolgen.

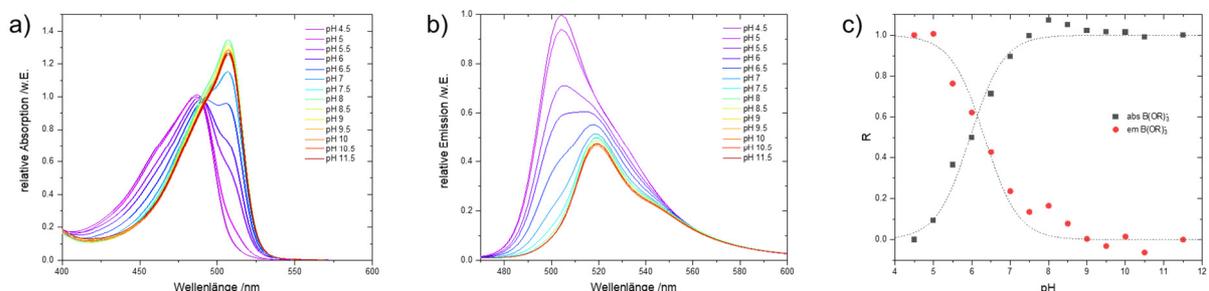


Abbildung 28: Relative a) Absorptions- und b) Emissionsspektren sowie c) resultierende Titrationskurven nach Gleichung 3 und 4.

Eine alternative Auswertungsmethode zur Bestimmung der  $pK_a$ -Werte bietet die Berechnung von R aus dem Verhältnis der jeweiligen Emissions- oder Absorptions-Intensität der neutralen Boronsäure  $I_{\text{Säure}}$  zur entsprechenden Intensität des negativen Boronat-Ions  $I_{\text{Ion}}$ . Im Vergleich zur literaturüblichen Methode werden  $pK_a$ -Werte mit einem Fehlerintervall von  $\pm 10\%$  erhalten. Bei dieser Methode wird die Zu- bzw. Abnahme der Intensität der Säurebande im Verhältnis zur Intensität der Ionenbande als Funktion des entsprechenden pH-Wertes aufgetragen (Abbildung 29).

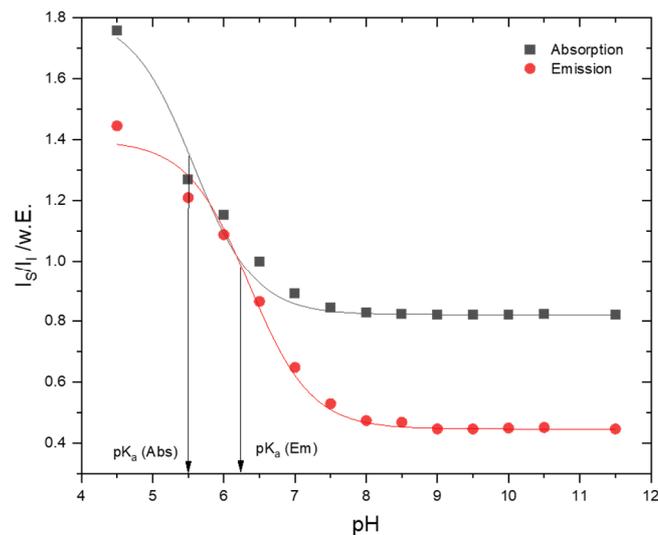


Abbildung 29: Titrationskurven nach dem Alternativ-Modell mit Gleichung 5.

Der sigmoidale Kurvenverlauf kann mit Gleichung 5 nicht-linear angepasst und der  $pK_a$ -Wert aus dem Wendepunkt der Kurve bestimmt werden.<sup>[264]</sup> Dies gilt sowohl für die Absorptions- als auch für die Fluoreszenzmaxima (Abbildung 29),

$$\frac{I_{\text{Säure}}}{I_{\text{Ion}}} = \frac{I_{\text{min}} + (I_{\text{max}} \cdot K_a \cdot 10^{-pH})}{1 + (K_a \cdot 10^{-pH})} \quad (5)$$

Wobei  $I_{\text{Säure}}$  die Intensität der Säureform (bei niedrigen pH-Werten) und  $I_{\text{Ion}}$  die Intensität der ionischen Form (bei hohen pH-Werten) darstellt.  $I_{\text{max}}$  und  $I_{\text{min}}$  repräsentieren die finale (maximale) bzw. initiale (minimale) Absorptions- bzw. Fluoreszenzintensität.<sup>[264]</sup>

Für die Bestimmung von Boronsäure  $pK_a$ -Werten haben sich neben der Verwendung von elektronischen Spektren auch noch andere Verfahren bewährt.<sup>[265]</sup> Dazu zählt die Methode mittels  $^{11}\text{B}$ -NMR-Signal-Änderung. Bei einem geringen pH-Wert liegt das Bor-Atom im  $sp^2$ -hybridisiertem, neutralen Zustand vor. Wird der pH-Wert erhöht, erfolgt eine Änderung des Hybridisierungszustandes und das Bor-Atom trägt eine negative Ladung. Diese Ladungs- und Geometrieänderung führt im  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum zu einer Signalverschiebung. Die

neutrale Bor-Verbindung weist Verschiebungen von rund 30 ppm auf, während das Signal der anionischen Form diamagnetisch verschoben ist.<sup>[266]</sup> Die Auftragung der chemischen Verschiebung als Funktion des pH-Wertes führt zu einem ähnlichen Kurvenverlauf, wie in Abbildung 28c gezeigt. Auch hier kann der  $pK_a$ -Wert aus dem Wendepunkt bestimmt werden.<sup>[265,267]</sup> Die  $pK_a$ -Bestimmung kann auch über Cyclovoltammetrie erfolgen. Die Änderung der Oberflächendichte der Boronsäure-modifizierten Goldoberfläche bei Zucker-Bindung führt zu einem veränderten Voltammetrie-Signal der Redox-Ionen. Grund dafür ist der unterdrückte Elektronentransfer, als Folge der negativen Ladung auf der Elektrodenoberfläche durch Addition von  $OH^-$  und Fructose. Dieser Effekt ist bei Anwesenheit von Fructose stärker ausgeprägt, wodurch das Cyclovoltammogramm flacher verläuft. Auch hier ergibt die Auftragung der Intensitätsspitzen als Funktion des pH-Wertes einen ähnlichen Kurvenverlauf wie bei den vorherigen  $pK_a$ -Bestimmungsmethoden.<sup>[268]</sup>

#### 2.4.1.2. $K_B$ -Bestimmungen

Auch die Bestimmung des  $K_B$ -Wertes kann bei Annahme der Ausbildung von 1:1 Komplexen auf ähnliche Weise durchgeführt werden. Geändert wird hier die Konzentration der Zugabe an Bindungspartner, im vorliegenden Fall sind das die Zucker-Konzentrationen. Konstant hingegen bleiben sowohl die Farbstoff-Konzentration als auch der pH-Wert, bei dem die Bindungskonstante bestimmt wird. Das bedeutet, dass der  $K_B$ -Wert spezifisch für einen pH-Wert ist und so variiert werden kann. Die Auftragung der relativen Intensitätsänderung ( $\Delta X = X_P - X$ ) von Absorption oder Emission, die durch die Bindung hervorgerufen wird, führt in Abhängigkeit der zugegebenen Zucker-Konzentration zu einer Titrationskurve, wie sie in Abbildung 30 dargestellt ist. Dabei repräsentiert  $X$  den reinen Bodipy-Farbstoff und  $X_P$  die Zucker-gebundene Form.

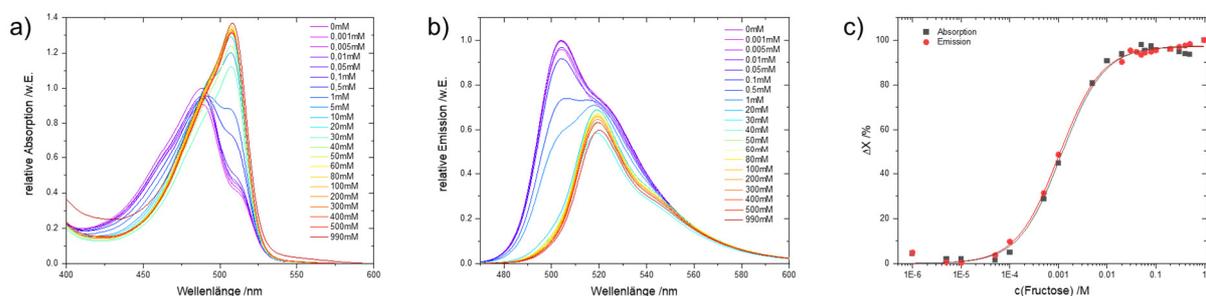


Abbildung 30: Relative a) Absorptions- und b) Fluoreszenzspektren für einen Bodipy-Farbstoff bei steigender Zugabe von Fructose und c) die daraus resultierenden Titrationskurven und die nicht-linearen Anpassungen mit Gleichung 6.

Die Bestimmung der Bindungskonstanten  $K_B$  kann durch die nicht-lineare Regression von  $\Delta X$  als Funktion der Zuckerkonzentration mittels Gleichung 6 ausgeführt werden.<sup>[269]</sup> Je höher  $K_B$  ist, desto größer ist die Affinität zu dem zugesetzten Liganden und desto stärker sollte auch die Bindung sein.

$$\Delta X = \frac{(X_C - X_P)}{[P]_0} \cdot \left( \frac{[P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1}}{2} - \sqrt{\frac{([P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1})^2}{4} - [P]_0 \cdot [L]_0} \right) \quad (6)$$

Als  $[P]_0$  und  $[L]_0$  werden hierbei die Anfangskonzentrationen von Bodipy bzw. Zucker bezeichnet, wobei mit dem eingeklammerten Term aus Gleichung 6 die Konzentration des Komplexes  $[PL]$  für eine bestimmte Konzentration von Boronsäure und Ligand bestimmt werden kann (Gleichung 7).

$$[PL] = \left( \frac{[P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1}}{2} - \sqrt{\frac{([P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1})^2}{4} - [P]_0 \cdot [L]_0} \right) \quad (7)$$

## 2.4.2. Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung

Beim zeitkorrelierten Einzelphotonenzählen (*Time-Correlated Single Photon Counting* = TCSPC) handelt es sich um eine Technik zur Bestimmung der Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{FI}$  von Fluorophoren. Die Fluoreszenzlebensdauer eines Chromophors beschreibt die Zeit, die der Chromophor nach einer Anregung im angeregten Zustand verbleibt, bevor er durch strahlende und nicht-strahlende Prozesse wieder in den Grundzustand zerfällt (Gleichung 8).<sup>[256,270]</sup>

$$\frac{dn(t)}{dt} = (k_r + k_{nr}) n(t) \quad (8)$$

Dabei ist  $n(t)$  gleich der Zahl der angeregten Moleküle zur Zeit  $t$  und  $k_r$  bzw.  $k_{nr}$  die Geschwindigkeitskonstanten für den strahlenden bzw. nicht-strahlenden Zerfall. Die Fluoreszenzlebensdauer  $\tau_{FI}$  ist außerdem abhängig von der molekularen Umgebung des untersuchten Fluorophors.<sup>[271]</sup> Die Anregung der Probe bei TCSPC erfolgt in einem Start-Stopp-Experiment mit einem Laserpuls. Zur Umgehung der Totzeit der Elektronik wird im umgekehrten Modus gearbeitet. Die TCSPC Experimente werden so ausgeführt, dass pro 100 Anregungspulsen immer nur etwa ein Photon detektiert wird. Würden mehr Photonen detektiert werden, dann würde immer nur das erste Photon detektiert werden (*Pulse pile-up*). Die Zeit zwischen dem Anregungspuls (Start) und dem beobachteten Photon (Stopp) wird gemessen und in einem Histogramm abgebildet (Abbildung 31).<sup>[256]</sup>

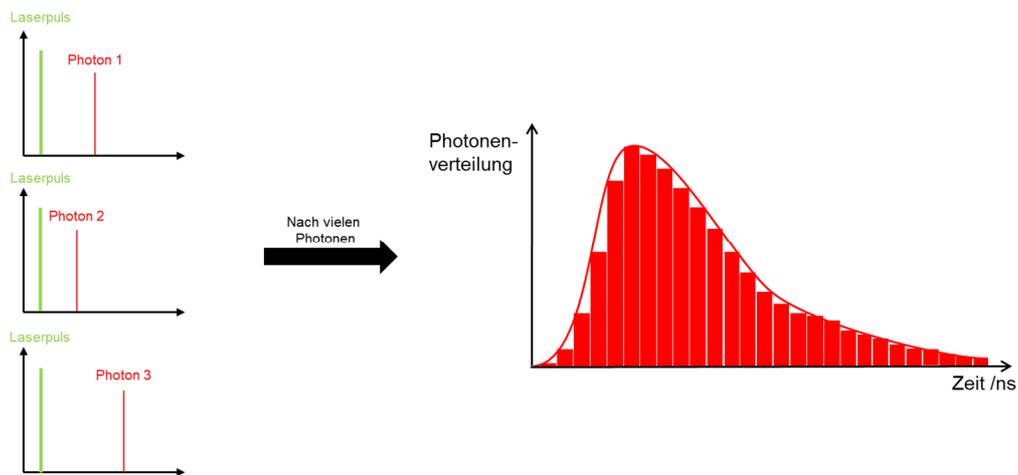


Abbildung 31: Entstehung eines TCSPC Histogramms, welches einem monoexponentiellen Zerfall gehorcht.

Da es sich bei der Emission um ein zufälliges Ereignis handelt, ausgedrückt durch den Einsteinkoeffizienten der spontanen Emission, emittiert jeder angeregte Fluorophor pro Zeitintervall mit der gleichen Wahrscheinlichkeit. Der Verlauf des Histogramms entspricht somit einem monoexponentiellen Zerfall der Intensitäten  $I(t)$  des angeregten Zustandes (Gleichung 9). Da die Anzahl von Molekülen  $n$  nicht direkt gemessen werden kann, sondern nur die Intensitäten  $I(t)$  über die Zeit, wird für die Formel  $I(t)$  verwendet.  $I(t)$  ist dabei proportional zur Anzahl  $n(t)$ .<sup>[256,270]</sup>

$$I(t) = I_0 \cdot e^{-t/\tau_{Fl}} \quad (9)$$

$I_0$  entspricht der Intensität zum Zeitpunkt 0. Aus Gleichung 9 ergibt sich, dass die Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{Fl}$  umgekehrt proportional zur Summe der strahlenden und nicht-strahlenden Zerfallsrate ist,  $\tau_{Fl} = (k_r + k_{nr})^{-1}$ .

Nicht-strahlende Prozesse können sich zusammensetzen aus *intersystem crossing*, interner Konversion und allgemeinen photochemischen Prozessen. Die Wahrscheinlichkeit, dass der angeregte Zustand eines Moleküls durch Fluoreszenz, und nicht durch andere nicht-strahlende Prozesse wieder deaktiviert wird, wird durch die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{Fl}$  definiert.<sup>[272]</sup> Mathematisch gesehen ist es das Verhältnis der emittierten Photonen zu den absorbierten Photonen.<sup>[270]</sup> Ein Vergleich von zeitaufgelöst gemessenen Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{Fl}$  und stationär gemessenen Fluoreszenzquantenausbeuten  $\Phi_{Fl}$  zeigt eine Proportionalität der beiden Größen, die in Gleichung 10 dargestellt ist.<sup>[256,273]</sup>

$$\tau_{Fl} = k_r \cdot \Phi_{Fl} \quad (10)$$

Eine TCSPC Messung bzw. Auswertung beinhaltet drei unterschiedliche Kurven (Abbildung 32). Zum einen die eigentlich gemessenen Daten des Fluorophors (rot), eine IRF (*Instrument*

*Response Function*, grau) und zum anderen die berechnete Zerfallskurve (blau). Der Zerfall der IRF repräsentiert das kürzeste Zeitprofil, welches vom Instrument gemessen werden kann. Eine Messung der IRF erfolgt normalerweise ohne Emissionsfilter mit einer verdünnten Streulösung, z. B. kolloidales Silica (Ludox).<sup>[256]</sup> Durch eine monoexponentielle Rekonvolutions-Anpassung der berechneten Zerfallskurve können die IRF-Effekte kompensiert werden.<sup>[274]</sup> Typische Lebenszeiten für Bodipy-Farbstoffe liegen im ns-Bereich.<sup>[85,275]</sup> Eine Variation in diesem ns-Bereich kann durch unterschiedliche Substituenten erreicht werden (siehe Kapitel 3.1.2, 3.2.1.2, 3.2.1.3.4.2 und 3.2.2.2).

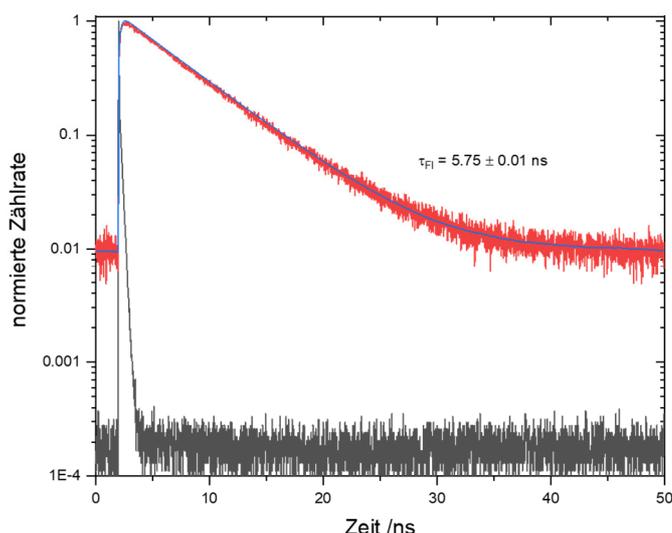


Abbildung 32: Monoexponentieller Zerfall eines TCSPC-Histogramms von einem Bodipy aus der vorliegenden Dissertation (gemessene Zerfallsdaten (rot), IRF (grau) und berechnete Rekonvolutions-Anpassung (blau)).

Fluoreszenzlebenszeiten in Kombination mit zum Beispiel konfokalen Mikroskopen kommen in FLIM-Messungen zum Einsatz. Statt konfokalen Mikroskopen können bei FLIM-Messungen auch andere Techniken, wie z. B. Gate- oder Verstärker-modulierte Bildverstärker, verwendet werden.<sup>[276]</sup> Die lokale Umgebung des Fluorophors bestimmt dabei dessen Fluoreszenzlebenszeit.<sup>[277]</sup> In der Literatur existieren zahlreiche Beispiele zu FLIM-Anwendungen, insbesondere in der *Life Science* Branche, für Zellen zu visualisieren.<sup>[278,279]</sup>

Zeitaufgelöste Messungen werden jedoch nicht nur verwendet um Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{FI}$  zu bestimmen, sondern kommen auch bei der Bestimmung von Rotationskorrelationszeiten  $\tau_{Rot}$  durch Fluoreszenzanisotropie zum Einsatz.

### 2.4.3. Fluoreszenz-Anisotropie

Die Messung der Fluoreszenzanisotropie in Lösung zählt zu den wichtigsten Werkzeugen zur Bestimmung physikalischer und chemischer Eigenschaften von Molekülen. Insbesondere

die Änderung der Fluoreszenzanisotropie in Bezug auf mögliche Bindungen an größere Moleküle, wie zum Beispiel Proteine oder Membranen, hat in den letzten Jahren immer mehr Blicke von Forschergruppen auf sich gezogen.<sup>[280–287]</sup> Die Anisotropie daraus entstehender kugelförmiger oder elliptischer Moleküle kann durch die Perrin-Gleichung (Gleichung 11) beschrieben werden.<sup>[256]</sup>

$$\frac{r_0}{r} = 1 + \frac{\tau_{Fl}}{\tau_{Rot}} = 1 + 6 \cdot D \cdot \tau_{Fl} \quad (11)$$

Hierbei stellt  $\tau_{Fl}$  die Fluoreszenzlebenszeit des Fluorophors,  $\tau_{Rot}$  die Rotationskorrelationszeit und  $D$  den Rotationsdiffusionskoeffizient dar. Bei  $r$  bzw.  $r_0$  handelt es sich um die Anisotropie bzw. um die initiale Anisotropie. Zwei Sonderfälle können hier unterschieden werden. Zum einen, wenn die Rotationsdiffusionszeit  $\tau_{Rot}$  viel größer als die Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{Fl}$  ( $\tau_{Rot} \gg \tau_{Fl}$ ) ist, dann gilt  $r \sim r_0$  und zum anderen, wenn die Rotationsdiffusionszeit  $\tau_{Rot}$  viel kleiner als die Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{Fl}$  ( $\tau_{Rot} \ll \tau_{Fl}$ ) ist, dann gilt  $r \sim 0$ . Zusätzlich ist die Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  des Fluorophors abhängig von der Viskosität  $\eta$  des Lösungsmittels, dem hydrodynamischen Volumen  $V$  der rotierenden Einheit, der Gaskonstanten  $R$  und der absoluten Temperatur  $T$  und kann mit der Debye-Einstein-Gleichung (Gleichung 12) ausgedrückt werden.<sup>[256]</sup>

$$\tau_{Rot} = \frac{\eta \cdot V}{R \cdot T} \quad (12)$$

$$V = \frac{\tau_{Rot} \cdot R \cdot T}{\eta} \quad (13)$$

Durch Umformen von Gleichung 12 zu Gleichung 13 kann bei bekannter Viskosität  $\eta$  der Lösung mit der gemessenen Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  das hydrodynamische Volumen  $V$  der rotierenden Einheit berechnet werden, wodurch es möglich ist die Volumina von großen Molekülen, wie z. B. Proteinen, zu bestimmen.

Die Anisotropie beruht auf Richtungsänderungen von Absorptions- und Emissions-Übergangsdipolmomenten von Fluorophoren, als Folge der Brownschen Molekularbewegungen (Rotationsdiffusionen).<sup>[256]</sup> Die Übergangsdipolmomente sind in homogenen Lösungen im Grundzustand des Fluorophors, entlang spezifischer Richtungen in der Struktur, zufällig orientiert. Für Bodipy-Farbstoffe ist bekannt, dass ihr  $S_0 \rightarrow S_1$  Übergangsdipolmoment nahezu horizontal durch die beiden  $\beta$ -Positionen des Bodipys verläuft (also entlang der  $C_2$ -Achse, Abbildung 33).<sup>[1,7,43]</sup> Die Lage des Übergangsdipolmomentes ist auch aus den HOMO- und LUMO- Grenzorbitalen in Abbildung 6 ersichtlich.

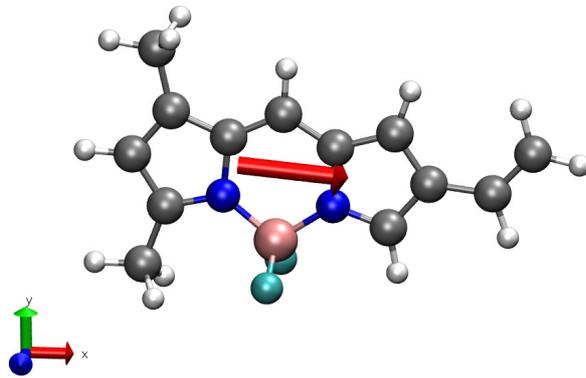


Abbildung 33: Darstellung des berechneten Übergangsdipolmoments für den  $\beta$ -vinylierten unsymmetrischen Bodipy (berechnet von Stephan Muth mit 6-31+G(d) unter Verwendung der Mulliken-Verteilungsmethode).

Wird eine solche Lösung mit vertikal polarisiertem Licht angeregt, kommt es nur zur Anregung der Moleküle, deren Orientierungen passen. Gilt für die Übergangsdipolmomente der Absorption ( $\ddot{U}M_{\text{Abs}}$ ) und Emission ( $\ddot{U}M_{\text{Em}}$ )  $\ddot{U}M_{\text{Abs}} \approx \ddot{U}M_{\text{Em}}$ , ist auch das emittierte Licht polarisiert. Als Fluoreszenzanisotropie  $r$  wird der Grad der Emissionspolarisation bezeichnet, der von der Eigenrotation des Moleküls abhängig ist.<sup>[256]</sup> Eine Verringerung der Polarisation kann durch eine Vielzahl von Prozessen erfolgen, wie z.B. durch Rotationsdiffusion. Solche Depolarisationen machen sich in der Anisotropie bemerkbar.<sup>[256]</sup> Allgemein gilt: je kleiner die Anisotropie, desto schneller rotiert ein Molekül.<sup>[288]</sup> Die Anisotropie  $r$  kann mit Gleichung 14 berechnet werden.<sup>[256]</sup>

$$r = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + 2 \cdot I_{\perp}} \quad (14)$$

Dabei handelt es sich um  $I_{\parallel}$  bzw.  $I_V$ , wenn der Polarisator der Emission parallel zur Richtung des Anregungslichtes liegt und  $I_{\perp}$  bzw.  $I_H$ , wenn die Emission senkrecht zur Anregung steht (siehe Abbildung 34). Die Anisotropie als eine dimensionslose, konzentrationsunabhängige und relative Konstante (Gleichung 14), ist weitgehend unbeeinflusst von Untergrundsignalen.<sup>[256,289,290]</sup>

Eine Messung der Fluoreszenzanisotropie  $r$  kann sowohl stationär (Kapitel 2.4.3.1) als auch zeitaufgelöst (Kapitel 2.4.3.2) gemessen werden.

### 2.4.3.1. Stationäre Fluoreszenz-Anisotropie

Stationäre Messungen können mit einem Fluoreszenzspektrometer in L- oder T-Format gemessen werden. Bei Verwendung des seltener vorkommenden T-Formates kommt ein Zweikanal-Fluoreszenzspektrometer zum Einsatz. Dazu wird zunächst vertikal angeregt und die Emission simultan vertikal und horizontal gemessen. Im Anschluss wird horizontal

angeregt und es erfolgt wieder eine simultane Messung der beiden Emissionsrichtungen. In der vorliegenden Dissertation wird allerdings im L-Format gemessen (Abbildung 34).<sup>[256]</sup> Bei Messung im L-Format wird auch von Einzelkanalmethode gesprochen, da lediglich ein Emissionskanal verwendet wird.

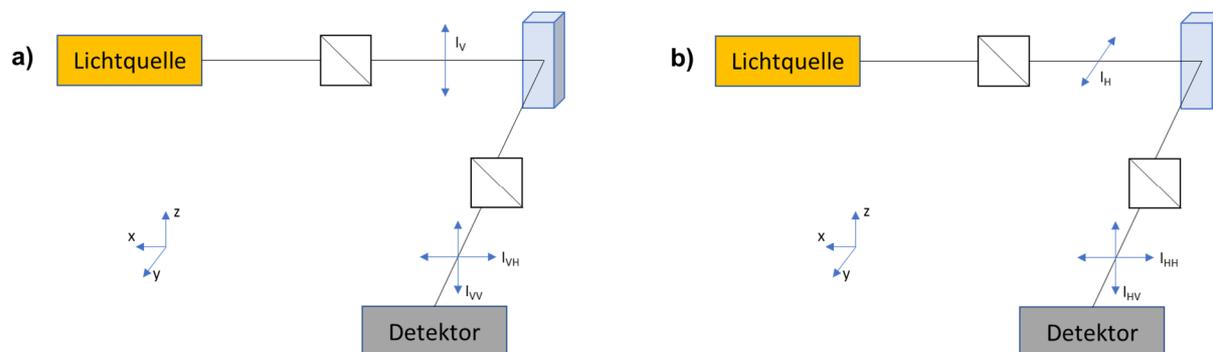


Abbildung 34: Fluoreszenzanisotropie-Messung im L-Format mit a) vertikaler und b) horizontaler Anregung.<sup>[256,288]</sup>

Durch Verwendung von Polarisationsfiltern wird gewährleistet, dass sowohl das Anregungslicht als auch das detektierte Emissionslicht polarisiert ist (entweder vertikal oder horizontal zum Anregungslicht). Die Anisotropie  $r$  aus Gleichung 14 kann mittels eines Korrekturfaktors  $G$  (Geräteparameter, Gleichung 16) in Gleichung 15 berechnet werden.<sup>[256]</sup>

$$r = \frac{I_{VV} - G \cdot I_{VH}}{I_{VV} + 2 \cdot G \cdot I_{VH}} \quad (15)$$

und

$$G = \frac{I_{HV}}{I_{HH}} \quad (16)$$

Der Gerätefaktor  $G$  ist instrumenten- und wellenlängenabhängig und dient der Korrektur der unterschiedlichen Transmissionen der Polarisationen durch den Detektionsstrahlengang.<sup>[291,292]</sup> Die Indizes der Intensitäten  $I_{12}$  repräsentieren dabei die Richtung des polarisierten Anregungslichtes (= Index 1) und die Richtung des zum Anregungslicht polarisierten Emissionslicht (= Index 2).<sup>[256]</sup>

Die fundamentale Anisotropie  $r_0$  wird bei Abwesenheit jeglicher Depolarisationsprozesse beobachtet (z. B. in gekühltem Propylenglykol) und wird mit Gleichung 17 beschrieben.<sup>[256]</sup>

$$r_0 = \frac{2}{5} \cdot \left( \frac{3 \cdot \cos^2(\beta) - 1}{2} \right) \quad (17)$$

Dabei gibt  $\beta$  den Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten von Absorption und Emission an. Für einen bewegungslosen Fluorophor gilt für  $\beta = 0^\circ$  demnach ein Anisotropie-Maximalwert von 0.4. Bei diesem Wert liegen die Dipole von Absorption und Emission

kollinear vor.<sup>[256]</sup> Je größer der Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten wird, desto kleiner wird die intrinsische Anisotropie. Bei dem *magic angle* von  $54.7^\circ$  besitzt  $r_0$  schließlich den Wert 0. Da es sich bei  $r_0$  um eine anregungswellenlängen-abhängige Größe handelt, ist demzufolge ein Anisotropiespektrum (Abbildung 35) die Auftragung der stationären Anisotropie  $r$  als Funktion der Anregungswellenlänge. Der größte Wert für  $r_0$  in einem solchen Spektrum ergibt sich aus der langwelligsten Absorptionsbande, da laut Kasha's Regel die Emission hauptsächlich aus dem ersten angeregten Zustand erfolgt, der durch den langwelligsten Absorptionsübergang verursacht wird.<sup>[256,293]</sup>

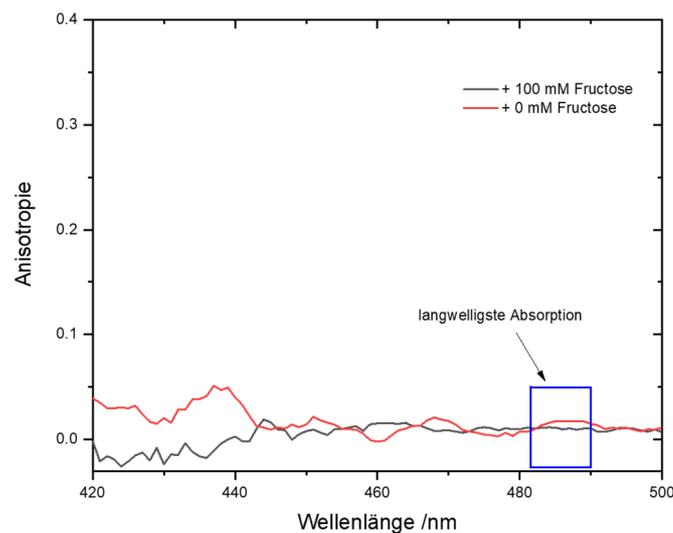


Abbildung 35: Beispiel eines stationäre gemessenen Anisotropiespektrums von einem Bodipy aus der vorliegenden Dissertation (gemessen in pH Puffer 8.5 mit Zugabe von 100 mM Fructose).

### 2.4.3.2. Zeitaufgelöste Fluoreszenz-Anisotropie

Messungen, die zur zeitaufgelösten Anisotropie führen, können mit TCSCP-Aufbauten gemessen werden, indem zusätzlich Polarisatoren eingebaut werden.<sup>[292,294]</sup> Sollen sehr schnelle Prozesse (im ps Bereich) beobachtet werden, können zusätzlich zeitlich hochauflösende Streak-Kameras zum Einsatz gebracht werden.<sup>[295]</sup> Auch die Anwendung von Up-Konversion und Pump-Probe Experimenten wurden in der Literatur bereits beschrieben.<sup>[280]</sup> Handelt es sich bei der untersuchten Probe um sphärische Moleküle, kann gezeigt werden, dass die Rotationsdiffusion zu einem monoexponentiellen Zerfall der Anisotropie führt (Gleichung 18).<sup>[256]</sup>

$$r(t) = r_0 \cdot e^{-t/\tau_{Rot}} \quad (18)$$

---

mit  $r_0$  als intrinsische Anisotropie bei  $t = 0$  und  $\tau_{\text{Rot}}$  als Rotationskorrelationszeit. Die Auftragung der zeitaufgelösten Anisotropie als Funktion der Zeit führt zu einem exponentiellen Abfall (Abbildung 36).<sup>[256]</sup>

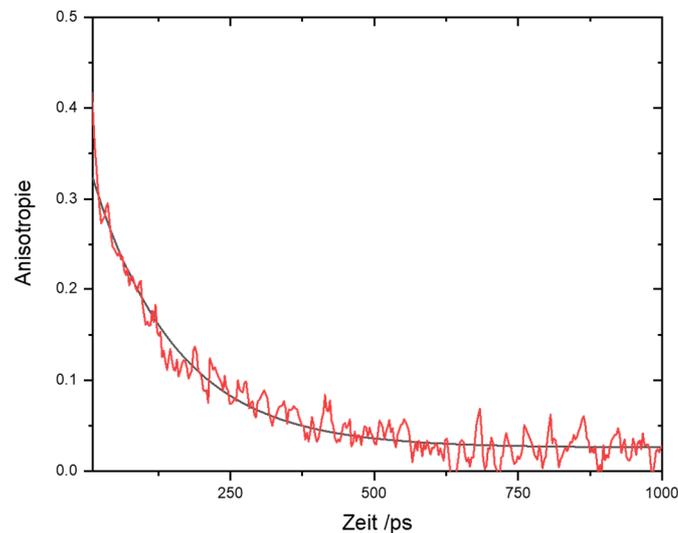


Abbildung 36: Beispiel für eine zeitaufgelöste Anisotropiemessung von einem Bodipy aus der vorliegenden Dissertation (gemessen in pH Puffer 8.5 mit Zugabe von 100 mM Fructose).

Die Messung der zeitaufgelösten Anisotropie erfolgt analog zur stationären Anisotropie durch Messung der Zerfälle von vertikal ( $I_V$ ) und horizontal ( $I_H$ ) polarisiertem Emissionslicht. Nach Anregung rotieren die Moleküle mit der Rotationskorrelationszeit  $\tau_{\text{Rot}}$  was zu einem Abklingen der Fluoreszenzanisotropie führt (Gleichung 18). Dabei ist zu beobachten, dass nach einem anfänglichen kurzen Anstieg, weil sich das Molekül zum Detektor „dreht“, die parallele und horizontale Komponente nicht direkt gleichzeitig schnell zerfallen (Abbildung 37). Dies beruht auf zwei parallel ablaufenden Prozessen: dem Intensitätszerfall mit der Zerfallszeit  $\tau$  und der Rotation aus der vertikalen Orientierung mit der Korrelationszeit  $\tau_{\text{Rot}}$ . Die horizontale Komponente hingegen zerfällt aufgrund der Repopulation (nach dem Anstieg) initial langsamer.

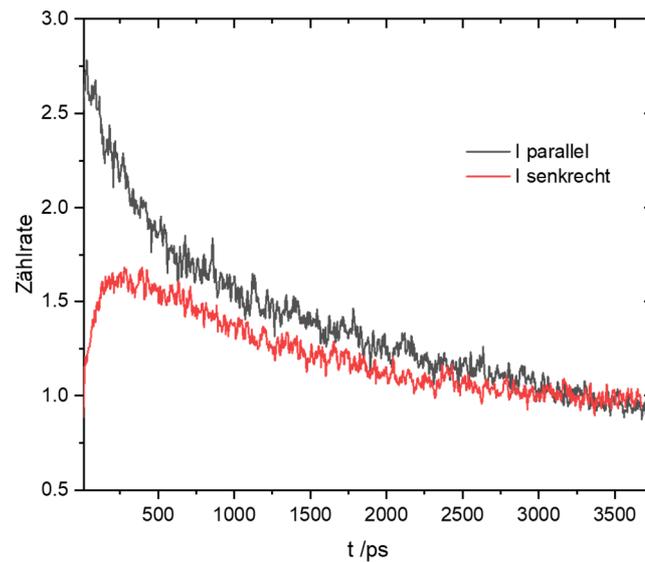


Abbildung 37: Die parallele und senkrechte Intensität eines Anisotropiezerfalls eines Bodipys aus der vorliegenden Dissertation.

Die Differenzen der gemessenen polarisierten Intensitäten können dann in Analogie zu Gleichung 15, zur Berechnung der zeitaufgelösten Anisotropie herangezogen werden (Gleichung 19).<sup>[256,292]</sup>

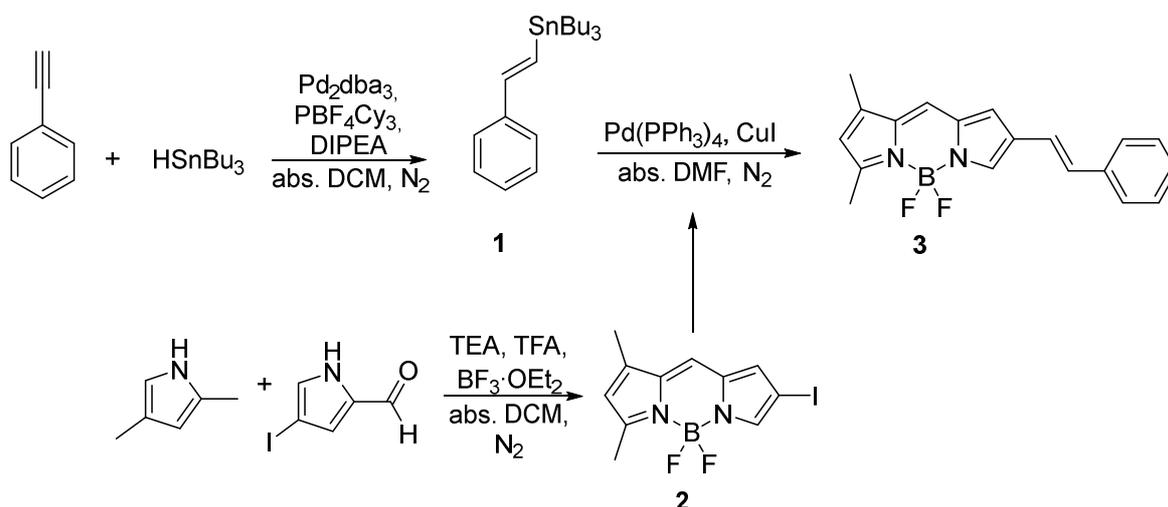
$$r(t) = \frac{I_V(t) - I_H(t)}{I_V(t) + 2 \cdot I_H(t)} \quad (19)$$



### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1. $\alpha$ - versus $\beta$ -Bodipy-Derivat

In der vorliegenden Dissertation sollen multifunktionelle Farbstoffe auf Basis der  $\beta$ -Position von Bodipys synthetisiert werden. Viele der in Kapitel 2.1.3 dargestellten Synthesen führen zu einer konjugierten Doppelbindung am Bodipy-Gerüst. Bezüglich der Synthese von multifunktionellen Farbstoffen ist es wichtig zu wissen, wie sich konjugierte Substituenten auf die spektroskopischen Eigenschaften der Bodipy-Derivate auswirken. Somit wird zunächst überprüft wie die Änderung der Substitutionsstelle von der  $\alpha$ - zur  $\beta$ -Position die Fluoreszenzeigenschaften des Bodipys beeinflussen. Hierfür werden zwei Bodipy-Derivate synthetisiert und hinsichtlich ihrer Fluoreszenzeigenschaften verglichen. Der Synthesepfad des  $\beta$ -Styryl-Bodipys **3** wird in Schema 19 gezeigt. Die Synthese des analogen  $\alpha$ -Styryl-Bodipys **4** erfolgt entsprechend der literatur-<sup>[18,67,81]</sup> und arbeitskreisbekannten<sup>[17]</sup> Methoden.



Schema 19: Syntheseroute für Zielverbindung **3**.

Zunächst erfolgt die Synthese des Stille-Reagenzes **1** entsprechend den literaturbekannten Bedingungen.<sup>[296]</sup> Im Anschluss kann, analog zum  $\alpha$ -Derivat, in einer Stille-Kupplung, ausgehend von Verbindung **2** ( $\beta$ -iodierter Bodipy), der gewünschte  $\beta$ -styrylierte Bodipy **3** nach der arbeitskreisbekannten Methode gebildet werden.<sup>[17]</sup>

##### 3.1.1. Synthese

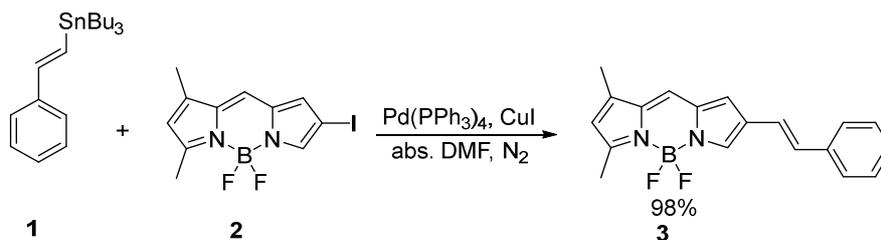
Die Synthese des  $\beta$ -iodierten Bodipys **2** erfolgt gemäß literaturbekannten Bedingungen. Sowohl die Ausbeute als auch die Charakterisierungen stimmen mit den Literaturdaten überein, wodurch auf eine genaue Beschreibung hier verzichtet werden kann.<sup>[16]</sup> Bodipy **3** wird über eine Stille-Kupplung synthetisiert. Das verwendete Zinnorganyl **1** wird mittels

---

Hydrostannylierung mit Tributylzinn, Palladium-Katalysator, Phosphor-Ligand und einer Base unter wasserfreien Bedingungen, entsprechend den literaturbekannten Daten, hergestellt und aufgereinigt.<sup>[296,297]</sup> Sowohl die Synthese, als auch die Charakterisierung stimmen mit der Literatur überein, wodurch hier auf die genaue Analyse von Zinnorganyl **1** verzichtet wird.

### Synthese von $\beta$ -Styryl-Bodipy **3**

Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wird das Zinnorganyl **1** in einer Stille-Kupplung mit dem  $\beta$ -iodierten Bodipy **2** zum Styryl-Bodipy **3** umgesetzt (Schema 20).



Schema 20: Synthese von Zielverbindung **3**.

Die Kupplung des iodierten Bodipy **2** und dem Zinnorganyl **1** zu Bodipy **3** wird mit Bedingungen nach Stille durchgeführt.<sup>[17]</sup> Der gewünschte  $\beta$ -styrylierte Bodipy wird in violetten Kristallen mit einer Ausbeute von 98% erhalten.

### Charakterisierung von $\beta$ -Styryl-Bodipy **3**

Die Charakterisierung von Bodipy **3** erfolgt über NMR-Spektroskopie, MS-Spektrometrie und Kristallstrukturanalyse. Auch Messungen der elektronischen Spektren tragen zur Identifizierung der Verbindung bei. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Abbildung 38 zeigt im Aromatenbereich ein Singulett mit Integration eins bei 6.17 ppm für das freie  $\beta$ -H-Atom zwischen den Methylgruppen am Bodipy. Die Signale bei 7.46 ppm (Integration zwei), 7.35 ppm (Integration zwei) und 7.24 ppm (Integration eins) werden vom Aromaten in  $\beta$ -Position verursacht, während die beiden H-Atome von der Doppelbindung in  $\beta$ -Position bei 6.89-7.00 ppm zu finden sind. Die restlichen drei Singuletts in diesem Bereich sind den H-Atomen am Bodipy-Gerüst zuzuordnen und die zwei Singuletts bei 2.61 ppm und 2.28 ppm mit einer jeweiligen Integration von drei repräsentieren die Methyl-Gruppen in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Position des Bodipys. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind alle zu erwartenden Signale zu finden (Abbildung 107 im Anhang). Abbildung 108 im Anhang zeigt das für Bodipys charakteristische Quartett im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum bei -146.43 ppm.

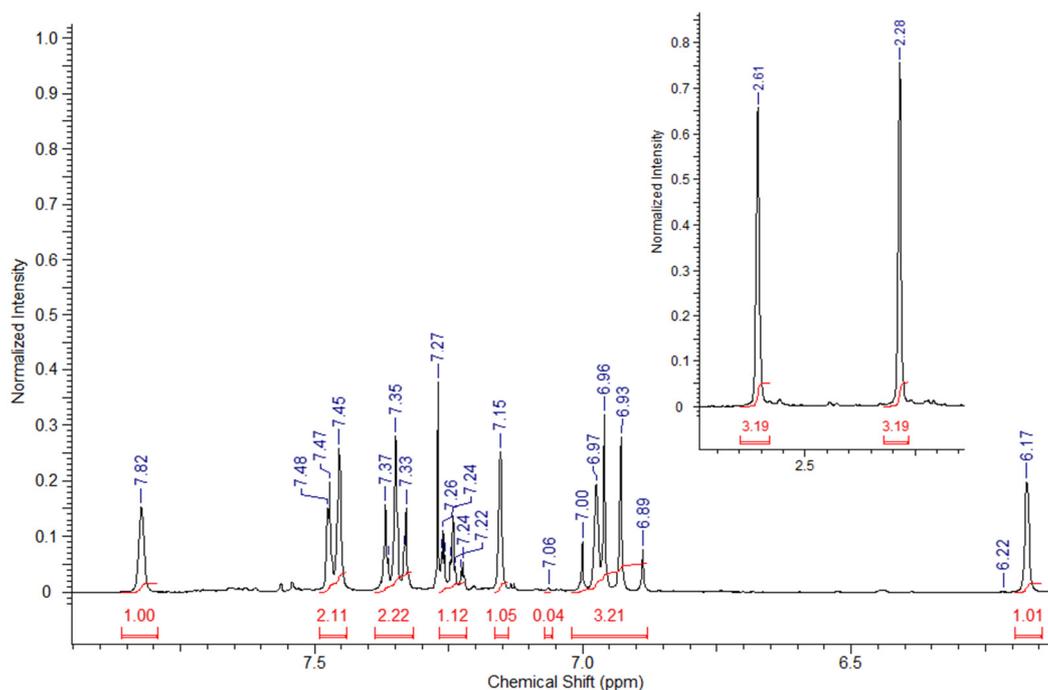


Abbildung 38: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 3 in CDCl<sub>3</sub>.

Sowohl das Massenspektrum in Abbildung 156 ( $m/z_{\text{gemessen}} = 321.14 = m/z_{\text{berechnet}}$ ) als auch die NMR-Spektren sprechen für eine erfolgreiche Synthese des  $\beta$ -styrylierten Bodipy 3.

Durch langsame Verdampfung von einer Lösung des  $\beta$ -Styryl-Bodipy 3 aus reinem Dichlormethan in einer Aceton-Umgebung bei Raumtemperatur, werden Kristalle erhalten, die zur Röntgenstrukturanalyse verwendet werden. Die erhaltene Kristallstruktur ist in Abbildung 39 dargestellt. Die durchgeführten Charakterisierungen sprechen alle für eine erfolgreiche Synthese von  $\beta$ -Styryl-Bodipy 3.

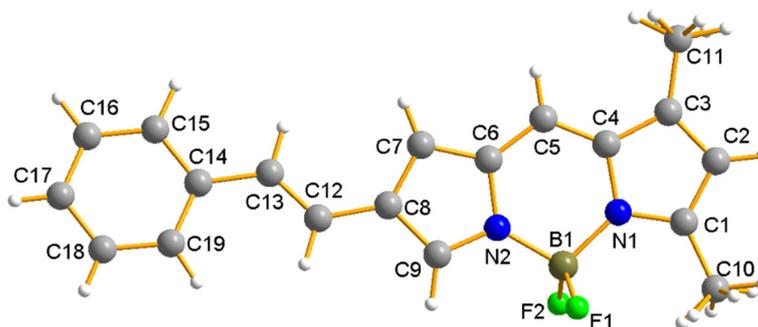


Abbildung 39: Kristallstruktur von Verbindung 3 (CCDC: 1890200).

### 3.1.2. Fluoreszenzeigenschaften von Styryl-Bodipys

Von zwei ausgewählten Kristallen des  $\beta$ -Styryl Bodipys **3** werden 3D-Fluoreszenzspektren in polarem Acetonitril und unpolarem Hexan gemessen. Für das  $\alpha$ -Derivat **4** ist bekannt, dass es klassische spektroskopische Eigenschaften von Bodipys mit rot verschobenen Banden aufweist ( $\lambda_{Em}$  (Acetonitril) = 568 nm und  $\lambda_{Em}$  (Hexan) = 569 nm).<sup>[12]</sup>

Die 3D-Fluoreszenzspektren von  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** in Acetonitril (Abbildung 40) zeigen eine sehr schwache Fluoreszenzbande in polarem Lösemittel ( $\lambda_{Em} \approx 612$  nm mit  $\lambda_{Anr} \approx 565$  nm) und gleichzeitig eine starke Bande bei  $\lambda_{Em} \approx 568$  nm ( $\lambda_{Anr} \approx 560$  nm). Die stark fluoreszierende Bande kann durch Literaturvergleich dem stark fluoreszierenden  $\alpha$ -Styryl-Bodipy **4** zugeordnet werden. Die schwache Band bei einer Emissionswellenlänge von  $\lambda_{Em} = 612$  nm wird demnach vom  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** verursacht.

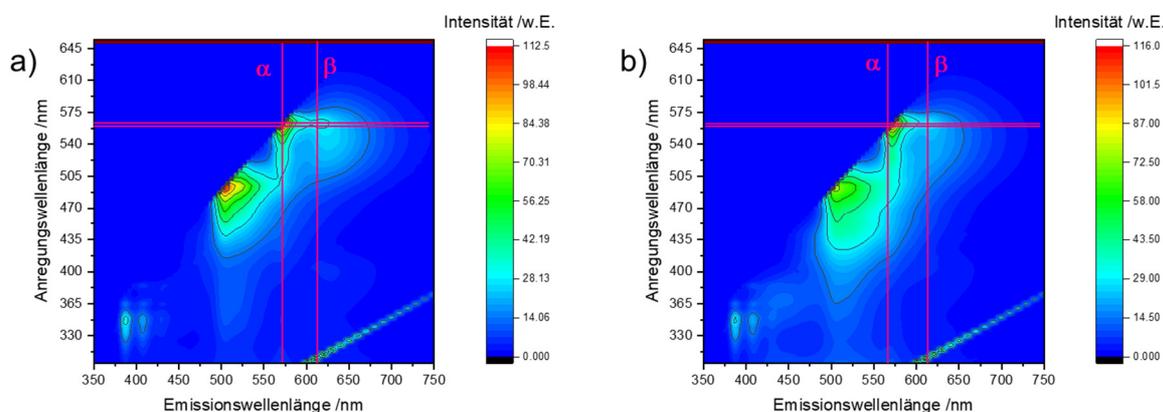


Abbildung 40: 3D-Fluoreszenzspektren (die violett Linien repräsentieren die Lage der Fluoreszenzmaxima von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Derivat) von zwei ausgewählten Kristallen (a und b) von  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** in ACN.

In Hexan (Abbildung 41) hingegen fluoresziert das  $\beta$ -Derivat deutlich stärker (im Vergleich zu Acetonitril gelöstem) bei  $\lambda_{Em} \approx 601$  nm (mit  $\lambda_{Anr} \approx 560$  nm). Bei Kristall 2 (Abbildung 41b) kann für das  $\alpha$ -Derivat ein lokales Maximum bei  $\lambda_{Em} = 569$  nm (mit  $\lambda_{Anr} = 540$  nm) detektiert werden, während bei der Lösung von Kristall 1 ein solches Maximum nahezu nicht sichtbar ist.

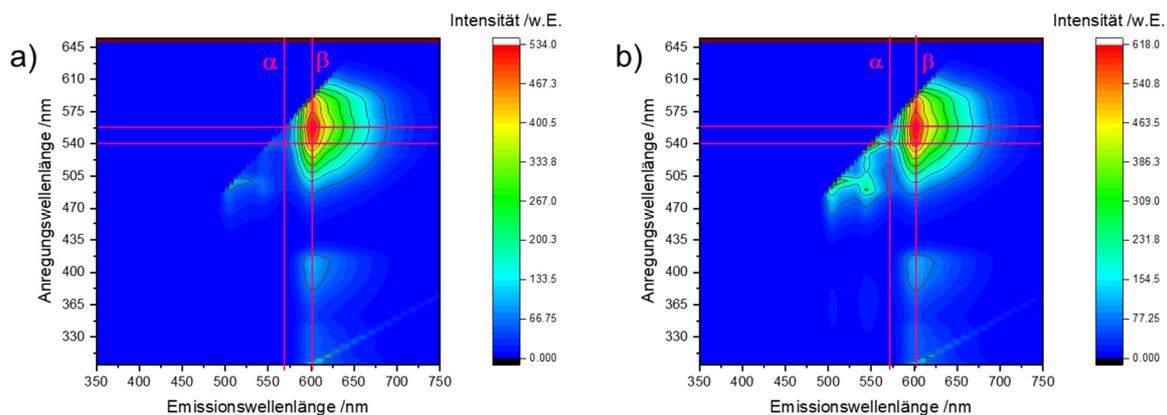
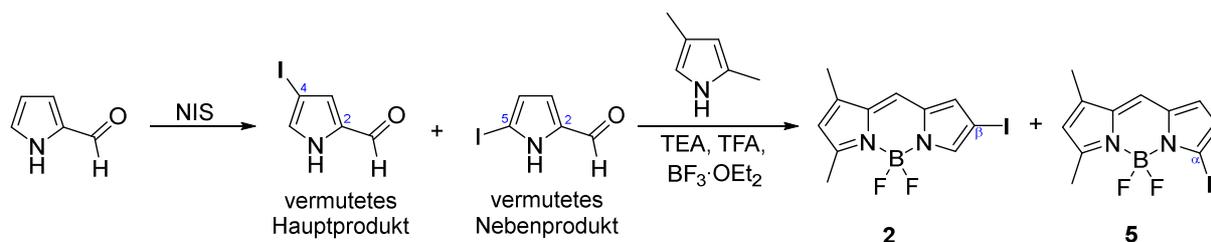


Abbildung 41: 3D-Fluoreszenzspektren (die violetten Linien repräsentieren die Lage der Fluoreszenzmaxima von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Derivat) von zwei ausgewählten Kristallen (a und b) von  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** in Hexan.

Ein Vergleich der Fluoreszenzquantenausbeuten in Dichlormethan zeigt, dass das  $\alpha$ -Derivat mit  $\Phi_{\text{Fl}} \approx 78\%$  deutlich höhere Ausbeuten liefert als das nahezu nicht fluoreszierende  $\beta$ -Derivat ( $\Phi_{\text{Fl}} \leq 5\%$ ). Mit den 3D-Fluoreszenzspektren ergeben sich zusammen mit den Fluoreszenzquantenausbeuten zwei Tatsachen: Zum einen, dass Bodipys mit konjugierten Substituenten in  $\beta$ -Position (im Gegensatz zur  $\alpha$ -Position) in polaren Lösungsmitteln schlecht fluoreszieren. Zum anderen kann das  $\alpha$ -Derivat **4** in den 3D-Fluoreszenzspektren des  $\beta$ -Styryl-Bodipys **3** nachgewiesen werden. Das wirft die Frage auf, ob dieser Sachverhalt bereits bei anderen Charakterisierungen aufgetreten ist. Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des  $\beta$ -styrylierten Bodipy **3** ist bereits bei der Charakterisierung des  $\beta$ -Styryl-Bodipys **3** diskutiert worden und es können keine Anzeichen vom  $\alpha$ -styrylierten Bodipy **4** festgestellt werden. Bei der erhaltenen Kristallstruktur gibt es bei keiner der Messungen mit vier unterschiedlichen Kristallen Hinweise auf  $\alpha$ -Styryl-Bodipy **4**. Somit kann ein Anteil des  $\alpha$ -Derivates **4** nur bei Fluoreszenzmessungen nachgewiesen werden. Die Entstehung könnte auf die Synthese von Bodipy **2** aus 4-Iodpyrrolcarbaldehyd zurückzuführen sein. Hierbei könnte es bei der Reaktion von NIS mit dem Pyrrol<sup>[298]</sup> zu einem Nebenprodukt (5-Iodpyrrolcarbaldehyd) kommen, sodass bei der in-situ Umsetzung mit dem Dimethylpyrrol unbemerkt der  $\alpha$ -Iod-Bodipy **5** mit  $<1\%$  Ausbeute entsteht (Schema 21). Bei der Stille-Reaktion wird dieser ebenfalls umgesetzt und der  $\alpha$ -Styryl-Bodipy entsteht, welcher sich aufgrund der geringen Menge lediglich mit Fluoreszenzmessungen nachweisen lässt.



Schema 21: Mögliche Nebenprodukte bei der Synthese von  $\beta$ -iodiertem Bodipy 2.

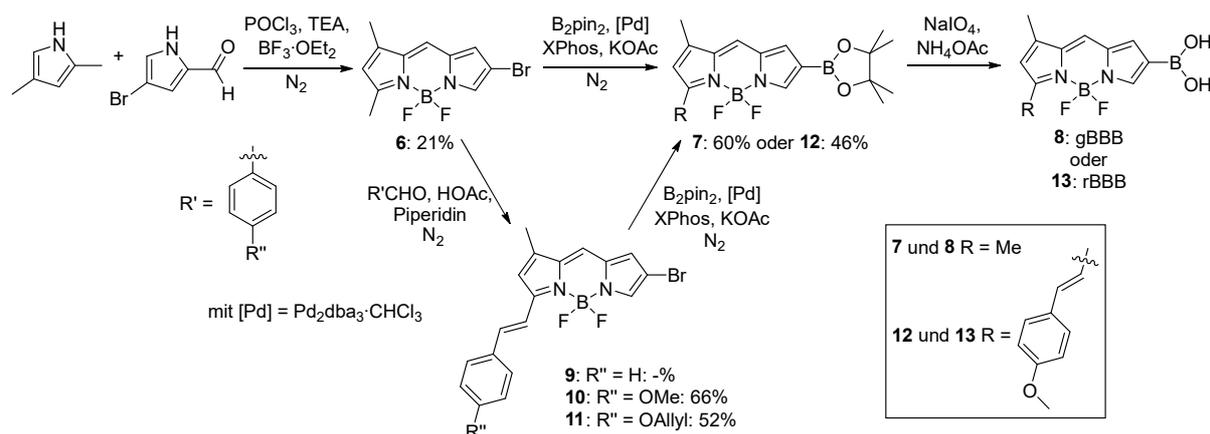
Mit diesem Bodipy-Paar können die Auswirkungen der Substitutionsstelle auf die Fluoreszenzeigenschaften von Bodipy-Derivaten gezeigt werden. Befindet sich der konjugierte Substituent in  $\alpha$ -Position lassen sich hinsichtlich der spektroskopischen Eigenschaften viele klassische Bodipy-Eigenschaften finden, z.B. schmale Absorptions- und Emissionsspektren, kleine Stokes-Verschiebungen und gute Fluoreszenzquantenausbeuten. Gegenätzlich dazu verhält sich der Bodipy mit Styryl-Substituent in  $\beta$ -Position. Es werden breitere elektronische Spektren erhalten, die Stokes-Verschiebung wird größer und die Fluoreszenzquantenausbeute in polaren Lösungsmitteln nimmt ab. Außerdem wird eine starke Abhängigkeit von der Lösungsmittelpolarität beobachtet. Somit können für die weiteren Synthesen der multifunktionellen Bodipy-Derivate zwei Leitlinien erhalten werden. Erstens: eine Substitution mit einer konjugierten Doppelbindung in  $\beta$ -Position ist aufgrund der Verschlechterung der spektroskopischen Eigenschaften nicht wünschenswert. Zweitens: konjugierte Doppelbindungen zur Erweiterung des chromophoren Systems sind in  $\alpha$ -Position einzufügen.

## 3.2. $\beta$ -Substitution

### 3.2.1. Borylierte Bodipys

Wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben, eignen sich Boronsäuren zum Markieren von hydroxylierten Verbindungen, insbesondere von Sacchariden. Zu diesem Zweck werden  $\beta$ -Boronsäure substituierte Bodipy (BBB) Derivate synthetisiert und auf ihre photophysikalischen Eigenschaften hinsichtlich von Polyol Bindungen untersucht. Um die Multifunktionalität zu gewährleisten, werden an die zu synthetisierenden Zucker-Sondenmoleküle besondere Anforderungen gestellt. So soll die Boronsäure in der  $\beta$ -Position des Bodipy angebracht werden, um damit die Ausnutzung des parallelen Übergangsdipolmomentes (Abbildung 33) für Anisotropiemessungen zu gewährleisten. Zu beachten ist hierbei, dass die Einführung der Boronsäure in  $\beta$ -Position nicht über eine Doppelbindung zu erfolgen hat (siehe Kapitel 3.1). Für spätere medizinische Anwendungen als Zucker-Sonde wäre auch eine bathochrome Verschiebung durch Erweiterung des chromophoren Systems wünschenswert. Allerdings ist aus Kapitel 3.1 klar, dass diese Erweiterung zur Wahrung einer hohen Fluoreszenzquantenausbeute nicht in  $\beta$ -Position erfolgen sollte. Zudem sollen aufgrund möglicher sterischer Wechselwirkungen die direkt zur Boronsäure benachbarte  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Position unsubstituiert bleiben.

Die Synthese der beiden Zielmoleküle **8** und **13** wird auf ähnlichem Wege durchgeführt, wobei bei Bodipy **13** ein zusätzlicher Schritt während der Synthese eingefügt wird (Schema 22).



Schema 22: Syntheschema der in der vorliegenden Arbeit hergestellten Zielverbindungen **8** und **13**.

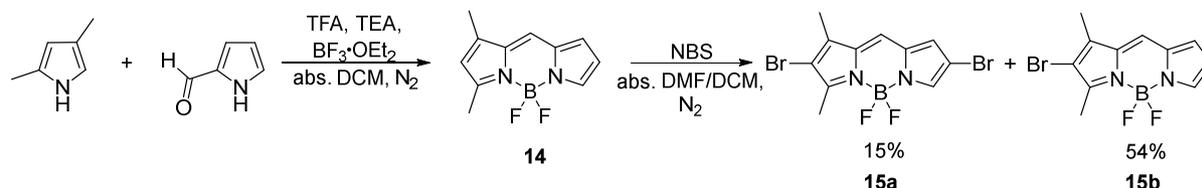
Ausgehend von zwei unterschiedlichen Pyrrolen erfolgt zunächst die Synthese des  $\beta$ -bromierten Bodipy **6** in einer herkömmlichen Bodipy-Kondensations-Reaktion. Anschließend kann **6** entweder in einer Suzuki-Miyaura-Borylierung in den pinacolgeschützten Bodipy **7**

umgesetzt werden. Alternativ erfolgt zunächst eine in  $\alpha$ -Position durchgeführte Knoevenagelartige-Kondensation mit unterschiedlichen Benzaldehyd-Derivaten zu **9**, **10** oder **11**, wobei im nächsten Schritt, analog zu vorher, die Suzuki-Miyaura-Borylierung lediglich mit **10** zu **12** durchgeführt wird. Eine Pinakol-Entschützung im letzten Schritt des Syntheseweges führt zu den gewünschten BBB Derivaten **8** (gBBB) und **13** (rBBB).

### 3.2.1.1. Synthese und Charakterisierung der BBBs

#### Synthese des bromierten Bodipys **6**

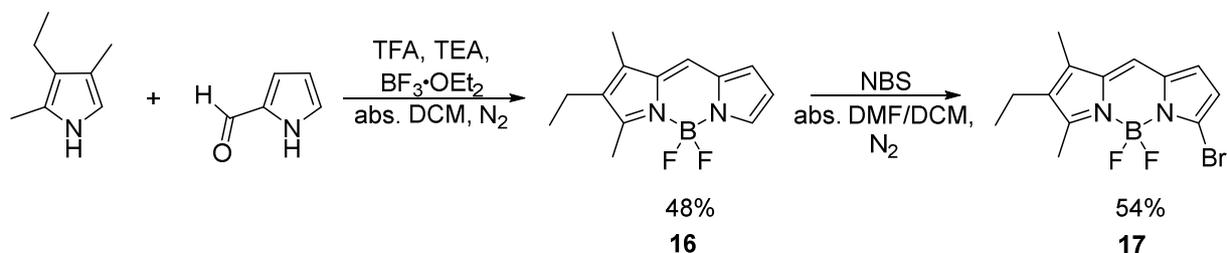
Die Postfunktionalisierung von Bodipys stellt eine effiziente und einfache Möglichkeit dar, Bodipy-Derivate zu synthetisieren (Kapitel 2.1.3). Um den  $\beta$ -bromierten Bodipy **6** herzustellen, werden in einer gewöhnlichen Bodipy-Kondensation 2,4-Dimethylpyrrol und Pyrrol-2-carbaldehyd zum literaturbekannten Dimethyl-Bodipy **14** umgesetzt<sup>[109]</sup> und anschließend mit N-Bromsuccinimid bromiert (Schema 23). Allerdings führt die durchgeführte Synthese lediglich zu dem zwischen den Methyl-Gruppen  $\beta$ -bromierten Bodipy **15b**.<sup>[90,97]</sup> Als Nebenprodukt entsteht der Dimethyl-dibromierte Bodipy **15a**, welcher in beiden  $\beta$ -Positionen mit Brom substituiert ist (Schema 23). Die Charakterisierung von **15a** und **15b** erfolgt mittels NMR-Spektren (siehe experimenteller Teil und Anhang, Abbildung 128-Abbildung 132). Die Bromierung dieser  $\beta$ -Position zwischen den Methyl-Gruppen ist aufgrund der später gezeigten Zucker-Selektivitäten nicht gewünscht, sodass eine alternative Syntheseroute erstellt wird.



Schema 23: Syntheseversuch des  $\beta$ -bromierten Bodipys - Variante 1.

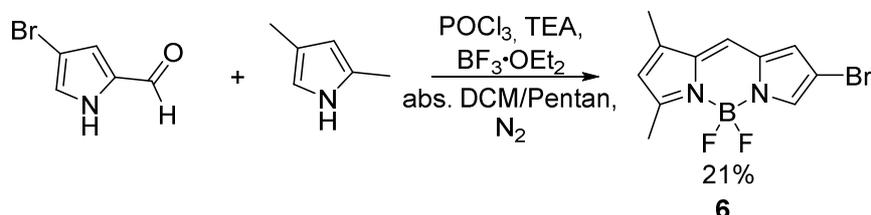
Zur Vermeidung dieser ungewünschten Bromierung wird die  $\beta$ -Position zwischen den Methyl-Gruppen durch eine Ethyl-Gruppe geschützt, indem 3-Ethyl-2,4-dimethylpyrrol<sup>[117]</sup> statt 2,4-Dimethylpyrrol als Reagenz zum Einsatz kommt. Es soll darauf hingewiesen werden, dass die Synthese nicht wie in der Literatur über das isolierte Pyrrromethen-Salz<sup>[103,299]</sup> oder Postfunktionalisierung<sup>[300]</sup> erfolgt, sondern direkt *in situ* der Ethyl-dimethyl Bodipy **16** gebildet wird (Kapitel 5.2.10). Wie in Schema 24 gezeigt, erfolgt dabei die Post-Bromierung von Bodipy **16** zum bromierten Bodipy **17** mit N-Bromsuccinimid. Jedoch erfolgt die Bromierung nicht in der gewünschten  $\beta$ -Position, sondern in der  $\alpha$ -Position. Die Substitutionsposition von Bodipy **17** kann durch die erhaltene Kristallstruktur (Anhang,

Abbildung 217) festgestellt werden. Die Synthesen, ebenso wie die NMR- und MS-Daten der Derivate **15** – **17**, sind im experimentellen Teil und im Anhang aufgeführt. Würde der Bodipy **17** aus diesem Syntheseweg weiterverwendet werden, könnte die Lage des Übergangsdipolmomentes bei Anisotropiemessungen nicht mehr verwendet werden, sodass die Zielsetzung nicht mehr erreicht werden kann. Dieser Syntheseweg wird demnach ebenfalls nicht weiterverfolgt.



Schema 24: Syntheseversuch des  $\beta$ -bromierten Bodipys - Variante 2.

Aufgrund der beiden fehlgeschlagenen Postfunktionalisierungen wird alternativ versucht, den gewünschten Bodipy **6** mittels einer Präfunktionalisierung herzustellen. Dazu erfolgt zunächst die Bromierung von Pyrrol-2-carbaldehyd in Position 4 und anschließend die Kondensation mit 2,4-Dimethylpyrrol zu dem gewünschten  $\beta$ -bromierten Bodipy **6** (Schema 25).



Schema 25: Syntheseversuch des  $\beta$ -bromierten Bodipys - Variante 3.

Die Synthese des 4-Bromopyrrol-2-carbaldehyd erfolgt gemäß literaturbekannten Bedingungen.<sup>[90]</sup> Die weitere Umsetzung zu **6** wird in einer klassischen Bodipy-Kondensations-Reaktion unter Anwesenheit von Phosphoroxychlorid, Triethylamin und Bortrifluorid-Diethyletherat unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt.<sup>[90]</sup> Die Ausbeute beträgt dabei lediglich 21%, wobei als Nebenprodukt teilweise Dimethyl-Bodipy **14** entsteht (<5%). Dieser kann durch säulenchromatographische Aufreinigung jedoch vom gewünschten Produkt abgetrennt werden. Weder die Verwendung von TFA an Stelle von POCl<sub>3</sub>, noch die Änderung des Lösungsmittels von Pentan auf Hexan kann eine Steigerung der Ausbeute herbeiführen.

---

## Charakterisierung des bromierten Bodipys **6**

Die Charakterisierung erfolgt über NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie und über Röntgenstrukturanalyse. Im  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum sind alle zu erwartenden Signale zu finden (Abbildung 42). Die aromatischen Signale mit einer jeweiligen Integration von eins bei 7.50 ppm, 7.11 ppm, 6.84 ppm und 6.22 ppm sind den H-Atomen direkt am Bodipy-Gerüst zuzuordnen. Bei den beiden intensiveren Signalen (jeweils Integration von drei) handelt es sich um die beiden Methyl-Gruppen in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Position. Für eine erfolgreiche Bromierung spricht auch, dass kein zusätzliches fünftes Signal am Bodipy-Gerüst mit Integration eins vorhanden ist.

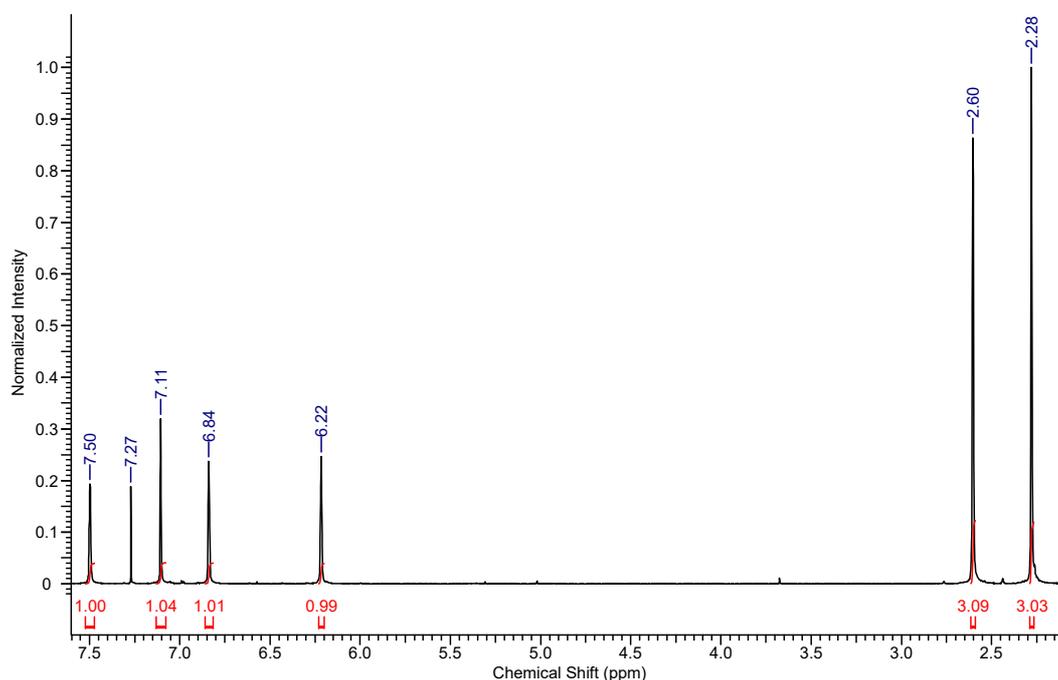


Abbildung 42:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **6** in  $\text{CDCl}_3$ .

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum können alle Signale detektiert werden, wobei die beiden Methyl-Gruppen die Signale bei 15.4 ppm und 11.4 ppm verursachen (Abbildung 110 im Anhang). Das aufgespaltene Signal im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum zeigt die Anwesenheit der  $\text{BF}_2$ -Einheit des Bodipy-Gerüsts (Abbildung 111 im Anhang).

Zusätzlich zu den NMR-Daten kann eine Kristallstruktur von Verbindung **6** erhalten werden, die ebenfalls dafürspricht, dass sich das Brom-Atom durch die gewählte Präfunktionalisierung in der gewünschten  $\beta$ -Position befindet (Abbildung 43 und im Anhang Tabelle 17).

Die elektronischen Eigenschaften von Verbindung **6** und allen weiteren Verbindungen auf dem Weg zu borylierten Bodipys werden in Kapitel 3.2.1.2 separat diskutiert.

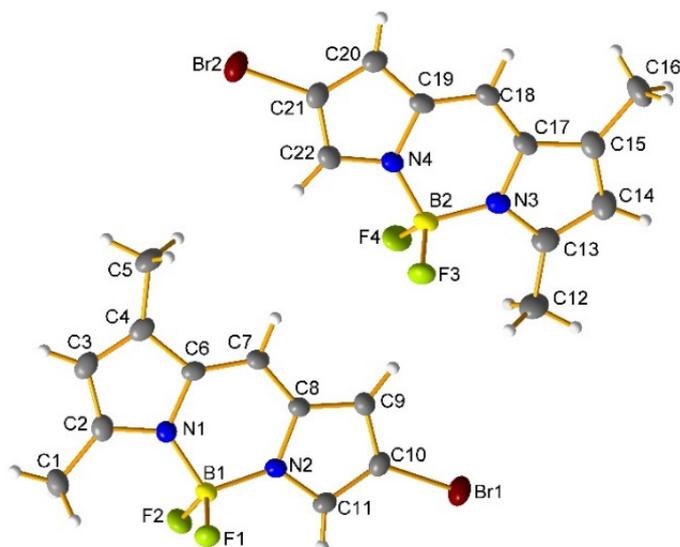
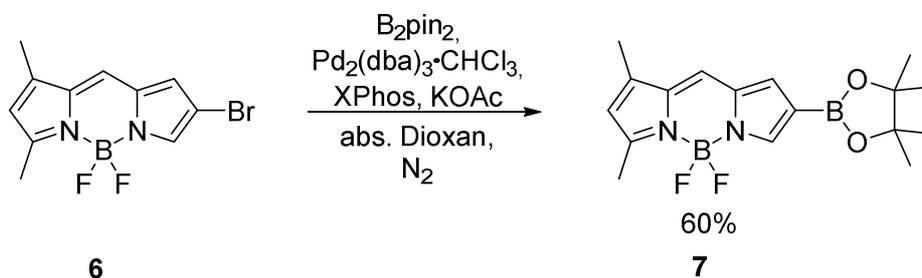


Abbildung 43: Kristallstruktur von Verbindung **6** (CCDC: 2071440).

### Synthese des Boronsäurepinakol-Bodipys **7**

Für den späteren Einsatz als Saccharid-Sonde wird eine Boronsäure benötigt, die in diesem Schritt in Form eines geschützten Pinakolesters eingeführt wird (Schema 26).



Schema 26: Synthese des  $\beta$ -borylierten Bodipy **7**.

Durch eine Suzuki-Miyaura-Borylierung mit Bis(pinakolato)diboron, XPhos, Palladium-Katalysator sowie unter Anwesenheit der Base Kaliumacetat, wird der borylierte Bodipy **7** gebildet.<sup>[301]</sup> Das Produkt kann durch Variation von Bedingungen und Äquivalenten von Bor-Reagenz und Base in einer maximalen Ausbeute von 60% erhalten werden. Statt der direkten Einführung der freien Boronsäure wird, zunächst der pinakolgeschützte Boronatester synthetisiert, welcher in einem darauffolgenden Schritt entschützt werden kann.<sup>[218]</sup> Dieser zusätzliche Syntheseschritt liegt in der besseren Aufarbeitungsmöglichkeit und säulenchromatographischen Aufreinigung sowie der einfacheren Handhabung und besseren Luftstabilität des Esters begründet. Es wird beobachtet, dass bei kleinsten Mengen

von Feuchtigkeit in der Reaktionsmischung keine Produktbildung erfolgt. Folglich sind sowohl das Ausheizen der verwendeten Glasgeräte, als auch die Verwendung von getrockneten Lösungsmitteln sowie die vorherige Trocknung von Kaliumacetat durch Erhitzen auf 100°C unter Vakuum, genauso entscheidend, wie der Ablauf der Reaktion unter Schutzgas.

### Charakterisierung des Boronsäurepinakol-Bodipys **7**

Verbindung **7** kann sowohl über NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie, Kristallstrukturanalyse als auch UV-Vis-Spektroskopie (siehe Kapitel 3.2.1.2) nachgewiesen werden. Die Signale im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Bodipy **7** weisen lediglich geringe Verschiebungen im Vergleich zum <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum vom bromierten Bodipy **6** auf (Abbildung 44).

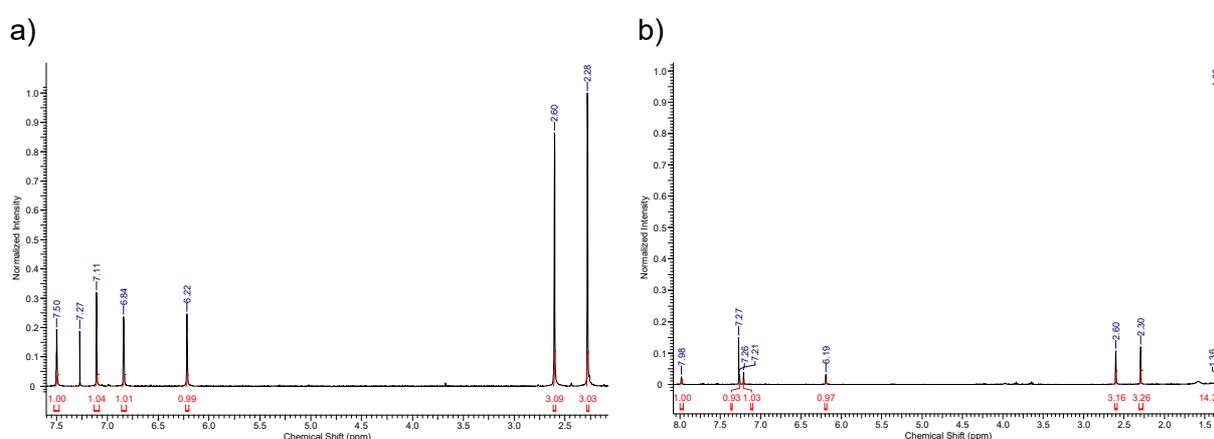


Abbildung 44: Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Bodipys **6** (a) und **7** (b) in CDCl<sub>3</sub>.

Die größte Veränderung erfahren dabei die beiden H-Atome, die der Brom- bzw. Borpinakol-Substitutionsstelle unmittelbar benachbart liegen. Diese befinden sich für Verbindung **6** bei 7.50 ppm und 6.84 ppm und liegen jetzt tieffeldverschoben bei 7.98 ppm und 7.26 ppm. Die erfolgreiche Substitution des Broms durch einen Bor-Pinakol-Rest kann auf das neue Signal bei 1.33 ppm zurückgeführt werden, welches von den vier äquivalenten Methyl-Gruppen der Pinakoleinheit verursacht wird. Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (Abbildung 113 im Anhang) von Bodipy **7** zeigt alle zu erwartenden Signale. Im <sup>11</sup>B-NMR-Spektrum (Abbildung 115 im Anhang) können zwei Signale identifiziert werden. Ein Triplett bei 0.58 ppm, welches eine Folge der Kopplung zwischen zwei äquivalenten Fluor-Atomen mit dem Bor-Atom ist und somit von der BF<sub>2</sub>-Einheit verursacht wird. Bei dem breiten Singulett bei 22.62 ppm handelt es sich um das Signal, welches dem Bor des Pinakolesters zuzuordnen ist.<sup>[302]</sup>

Die Daten aus dem Massenspektrum (Abbildung 157 im Anhang) entsprechen der theoretisch berechneten Masse für den [M-H]<sup>-</sup> Peak ( $m/z_{\text{berechnet}} = 345.18$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 345.18$ ).

Die Kristallstrukturanalyse (Abbildung 45 und im Anhang Tabelle 18) spricht ebenfalls für die erfolgreiche Substitution des  $\beta$ -Broms durch die Bor-Pinakoleinheit am Bodipy-Gerüst. Wie aus der Röntgenstrukturanalyse ersichtlich ist, kristallisiert Verbindung **7** so, dass keine sterischen Behinderungen in der Umgebung des Bor-Substituenten zu erwarten sind. Mit Bindungswinkeln im Bereich von  $106^\circ$  und  $110^\circ$  für die  $\text{BF}_2$ -Einheit, kann eine fast nahezu perfekte tetraedrische Geometrie des Bor-Atoms festgestellt werden. Im Gegensatz dazu liegen die Bindungswinkel von B(2) zwischen  $114$ - $124^\circ$  und nehmen somit eine trigonalplanare Geometrie und eine  $\text{sp}^2$ -Hybridisierung ein. Ein solcher Hybridisierungszustand stimmt mit den Literaturdaten von anderen Phenyl-Pinakol-Estern überein.<sup>[303]</sup>

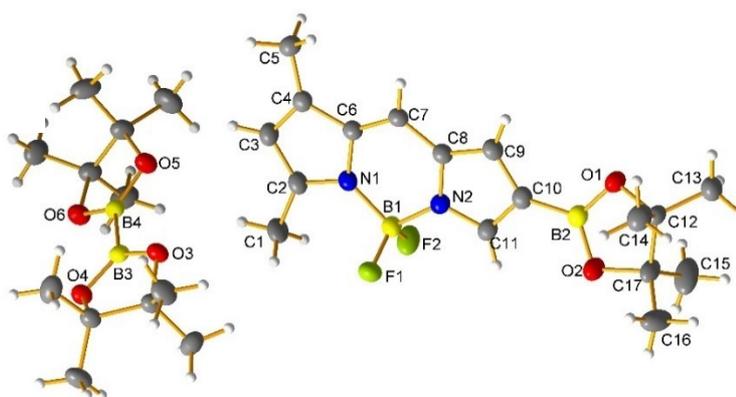
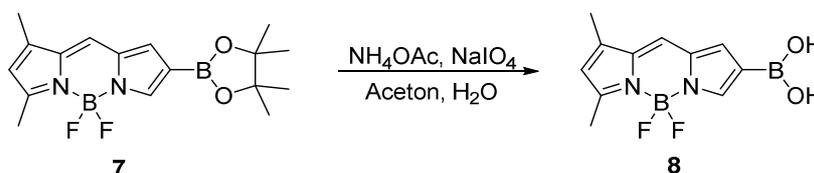


Abbildung 45: Kristallstruktur von Verbindung **7** (CCDC: 2071441).

### Synthese des grün fluoreszierenden $\beta$ -Boronsäure Bodipys gBBB **8**

Als Saccharid-Sonde reagiert die Boronsäure mit einem Saccharid zu einem Boronatester. Daher ist es hier notwendig, zunächst eine Pinakol-Entschützung zur freien Boronsäure gemäß Schema 27 durchzuführen.



Schema 27: Synthese von Bodipy **8**.

Entsprechend den Reaktionsbedingungen von Beau *et al.* wird die Pinakol-Abspaltung unter wässrigen Bedingungen mit Ammoniumacetat und Natriumperodat durchgeführt.<sup>[304]</sup> Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit von **7**, wird zusätzlich Aceton als Lösungsmittel hinzugefügt. Die bei der Reaktion ausfallenden Salze werden über Watte abfiltriert. Auf ein Nachspülen mit Wasser sollte allerdings aufgrund der Wasserlöslichkeit der Salze verzichtet

werden. Ebenso nicht zu verwenden ist Glaswolle statt Watte, weil eine Wechselwirkung der freien OH-Gruppen der Boronsäure mit den Si(OH)<sub>x</sub>-Gruppen der Glaswolle nicht ausgeschlossen werden kann. Der entstehende gBBB (**grün fluoreszierender β-Boronsäure Bodipy**) kann aufgrund seiner reaktiven freien Hydroxyl-Gruppen am Bor-Atom nicht weiter aufgereinigt werden. Daher ist eine Bestimmung der Ausbeute hier nicht möglich.

### Charakterisierung von gBBB **8**

Da es sich um ein Rohprodukt von **8** handelt, wird auf Messungen von <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren verzichtet. Eine Kristallisation aus dem Rohprodukt kann ebenfalls nicht erfolgreich gestaltet werden, sodass hier die Massenspektrometrie und ein <sup>11</sup>B-NMR-Spektrum zur Charakterisierung eingesetzt werden. Im <sup>11</sup>B-NMR-Spektrum (Abbildung 46) sind zwei Signale zu sehen. Ein Singulett bei 20.32 ppm und ein Triplett bei 0.58 ppm. Ein Vergleich mit den Literaturdaten über relative Verschiebungen für Borpinakolester und Boronsäuren zeigt, dass Boronsäuren im Vergleich zu ihren Pinakolestern um 1-2 ppm hochfeldverschoben sind.<sup>[305]</sup> Das Triplett bei 0.58 ppm kann demnach unverändert der BF<sub>2</sub>-Einheit zugeordnet werden. Das Singulett bei 20.32 ppm gehört somit zum Bor-Atom der Boronsäure in der β-Position des Bodipys.

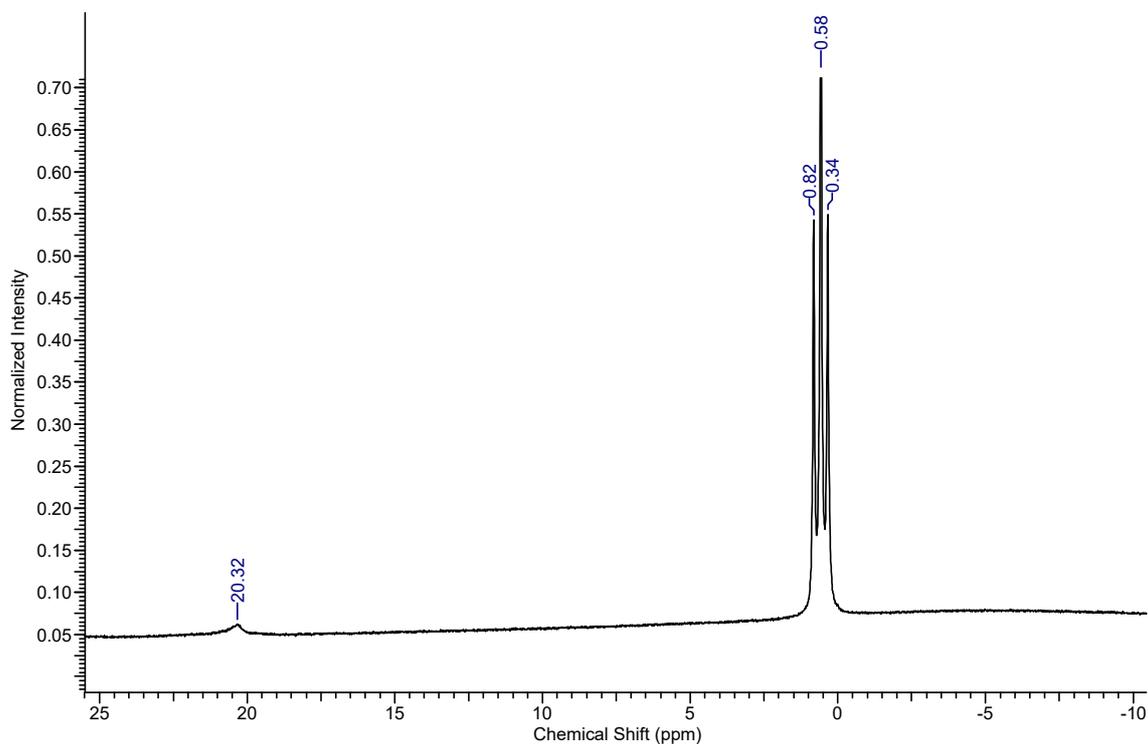


Abbildung 46: <sup>11</sup>B-NMR-Spektrum von Verbindung **8** in Aceton-d<sub>6</sub>.

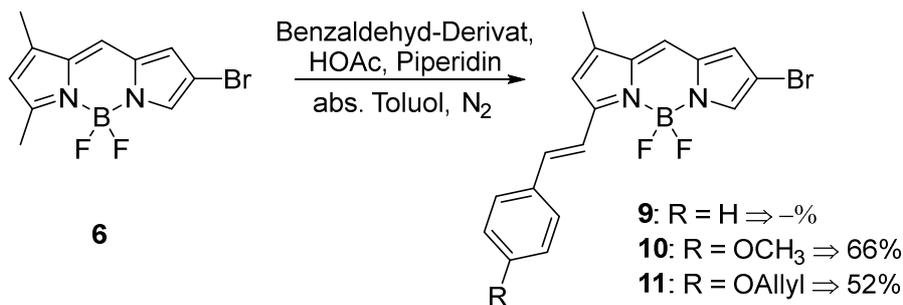
---

Im Massenspektrum (Abbildung 158 im Anhang) stimmt der berechnete [M-H]<sup>-</sup> Peak mit dem experimentell ermittelten Wert überein ( $m/z_{\text{berechnet}} = 263.10$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 263.10$ ). Das spricht dafür, dass die Entschützung der Pinakol-Einheit erfolgreich stattgefunden hat.

### Synthese der Bodipys 9-11

Eine bathochrome Verschiebung wäre für eine spätere mögliche medizinische Anwendung wünschenswert, weil Farbstoffe die näher am NIR-Bereich (Nahinfrarot-Bereich) liegen einen geringeren Hintergrund im menschlichen Körper aufweisen.<sup>[306]</sup> Aufgrund dessen wird das konjugierte System von Verbindung **6** durch Substitution der  $\alpha$ -Position erweitert und es werden die Derivate **9-11** synthetisiert. Die Reihenfolge der Syntheseschritte ist dabei essenziell. Erfolgt eine Umkehrung der Synthesereihenfolge, zuerst die Knoevenagel-Kondensation an die  $\alpha$ -Methylgruppe und anschließend die Bromierung zu **9**, kann keine Produktbildung festgestellt werden. Dies liegt vermutlich in den geänderten elektronischen Eigenschaften der  $\beta$ -Position in Folge der Substitution in  $\alpha$ -Stellung begründet.

Die Synthese der Verbindungen **9-11** erfolgt entsprechend den Bedingungen in Schema 28, mit unterschiedlichen aromatischen Aldehyden. Zunächst erfolgt die Umsetzung mit Benzaldehyd in einer Knoevenagelartigen-Kondensation, in deren Verlauf Produkt **9** gebildet werden soll.<sup>[15]</sup> Wichtig bei diesem Reaktionsschritt ist die Verwendung von Molekularsieb, um das bei der Kondensation entstehende Wasser abzufangen, ansonsten kommt es zu keiner oder nur sehr geringen Produktbildung. Allerdings zeigt eine DC-Kontrolle sehr viele Nebenprodukte und es kann kein Hauptprodukt festgestellt werden. Ein Vergleich der Literatur zeigt, dass der selbe Bodipy ohne  $\beta$ -Brom mit einer Ausbeute von 60% erhalten werden kann, sodass die geringe Produktbildung vermutlich auf die Substitution eines H-Atoms durch ein Brom-Atom (-I-Effekt) zurückzuführen ist.<sup>[74]</sup> Eine Isolierung und Charakterisierung ist aufgrund der geringen Mengen nicht möglich. In der Erwartung mit para-substituierten Benzaldehyd-Derivaten (Methoxy und Allyloxy), aufgrund des dirigierenden +M-Effektes der Alkoxygruppen, eine bessere Substitution zu erreichen, wird die Knoevenagelartige-Kondensation unter gleichen Bedingungen erneut durchgeführt. Bei beiden Synthesen ist eine Produktbildung feststellbar mit Ausbeuten um die 50-60%. Die Verbindungen **10** und **11** können über die gängigen Labor-Methoden erfolgreich charakterisiert werden.



Schema 28: Synthese der Verbindungen 9-11.

### Charakterisierung von Bodipy 10

Eine Charakterisierung von Verbindung **10** erfolgt sowohl über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie als auch über eine Kristallstrukturanalyse. Im Methylbereich des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums (Abbildung 47) ist lediglich noch ein Singulett mit Integration drei bei 2.30 ppm vorhanden und ein neues Singulett mit Integration drei bei 3.87 ppm ist hinzugekommen. Das erste Singulett entspricht dabei der Methylgruppe in  $\gamma$ -Position direkt am Bodipy-Gerüst und das zweite Singulett kann der neu eingefügten Methoxy-Gruppe am Knoevenagel-Substituenten zugeordnet werden. Die Verschiebungen im aromatischen Bereich bei 7.58 ppm mit Integration zwei und 7.50 ppm mit Integration zwei sind den jeweils chemisch äquivalenten Aromaten-H's zuzuordnen. Sowohl die H-Atome der neuen Doppelbindung als auch die Bodipy-H-Atome liegen im Bereich zwischen 6.78 ppm und 7.02 ppm. Im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum (Abbildung 118 im Anhang) können alle zu erwartenden Signale gefunden werden. Das <sup>19</sup>F-NMR-Spektrum weist das typische Bodipy Quartett bei -142.8 ppm auf (Abbildung 119 im Anhang).

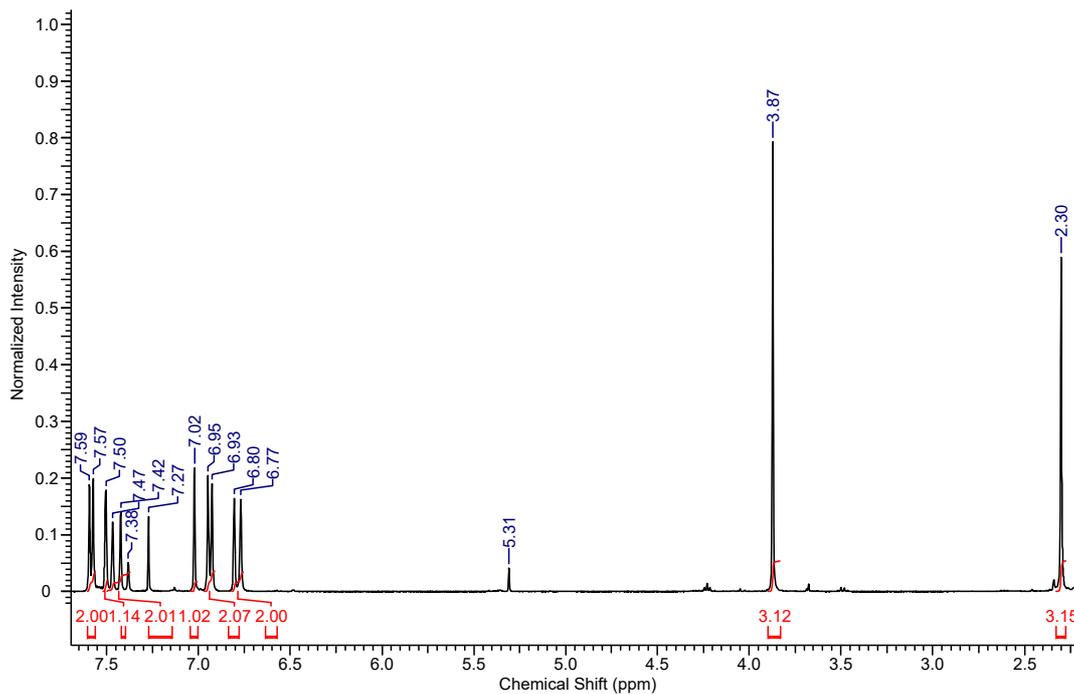


Abbildung 47:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **10** in  $\text{CDCl}_3$ .

Abbildung 159 im Anhang zeigt das Massenspektrum im negativen ESI-Modus und zeigt, dass die berechnete Masse von Verbindung **10** als  $[\text{M-H}]^-$  Ion detektiert wird ( $m/z = 415.04$ ).

Die Kristallstruktur in Abbildung 48 spricht ebenfalls für die erfolgreiche Synthese von Verbindung **10** mit der gewünschten  $\beta$ -bromierten Position. Genaue Daten zu der Raumgruppe und den Bedingungen können Tabelle 19 im Anhang entnommen werden.

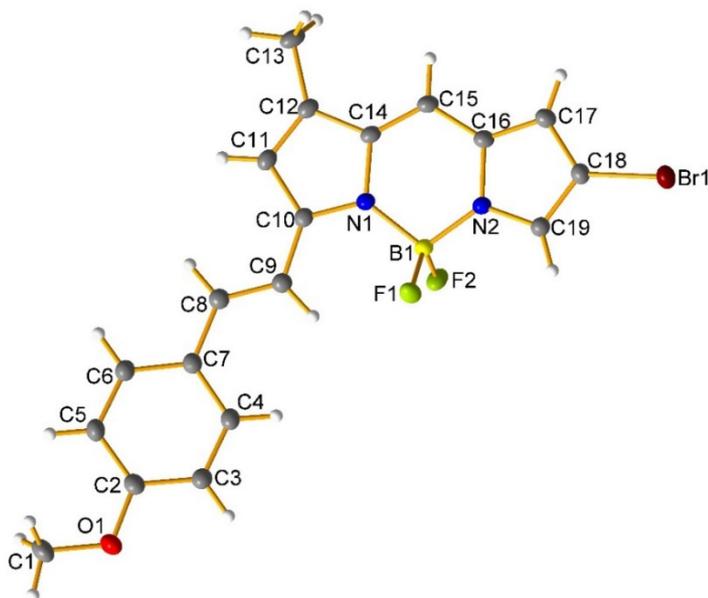


Abbildung 48: Kristallstruktur von Verbindung **10** (CCDC: 2071448).

## Charakterisierung von Bodipy 11

Die Charakterisierung von Verbindung **11** erfolgt über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in Abbildung 49 zeigt ein Signal im vorderen ppm-Bereich mit Integration drei bei 2.33 ppm, welches der Methylgruppe in der  $\gamma$ -Position am Bodipy-Gerüst zuzuordnen ist. Die Signale der endständigen Allylgruppe befinden sich bei 4.61 ppm (Integration zwei), 5.34 ppm (Integration eins), 5.45 ppm (Integration eins) und 6.06 ppm (Integration eins), wobei das  $\text{H}_{\text{cis}}$ - und  $\text{H}_{\text{trans}}$ -Atom der Doppelbindung jeweils ein eigenes Signal ergeben. Durch die weiteren Signale bei 7.59 ppm und 6.96 ppm mit einer jeweiligen Integration von zwei ergeben sich die H-Atome des Aromaten in  $\alpha$ -Position. Die Doppelbindung an der  $\alpha$ -Position des Bodipys verursacht die Signale bei 7.40-7.52 ppm. Die restlichen vier Signale mit jeweils einer Integration von eins (6.79 ppm, 6.83 ppm, 7.05 ppm und 7.52 ppm) sind den H-Atomen am Bodipy-Gerüst zuzuordnen.

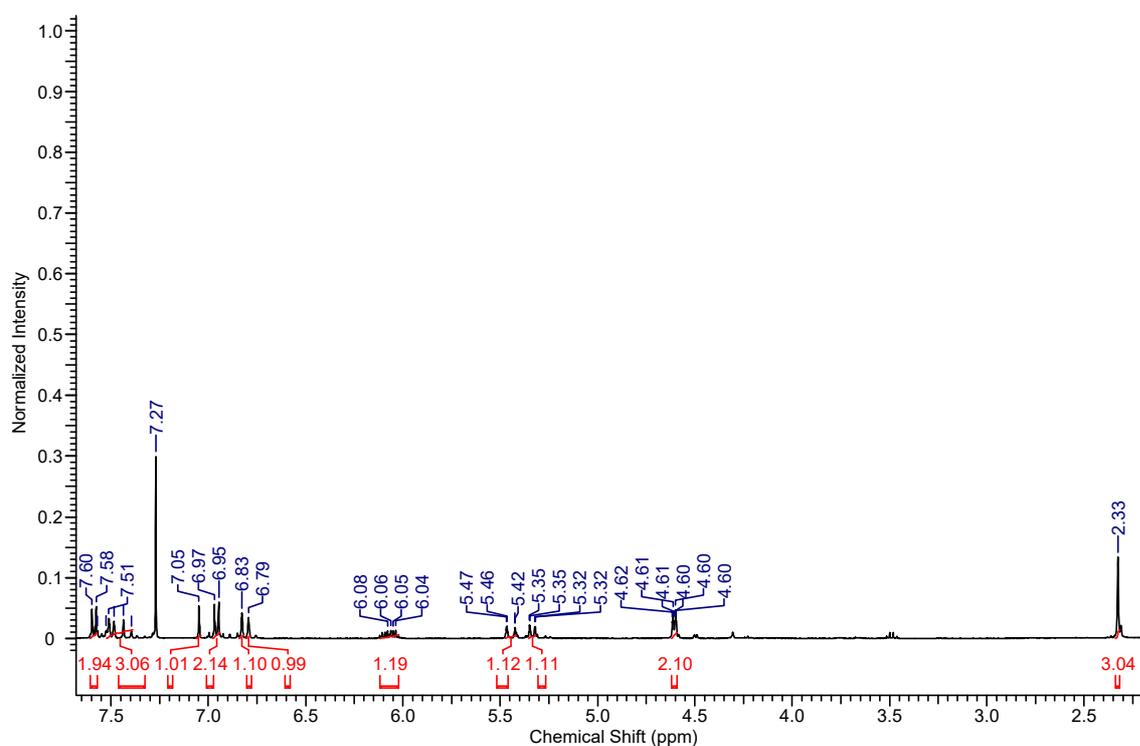


Abbildung 49:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **11** in  $\text{CDCl}_3$ .

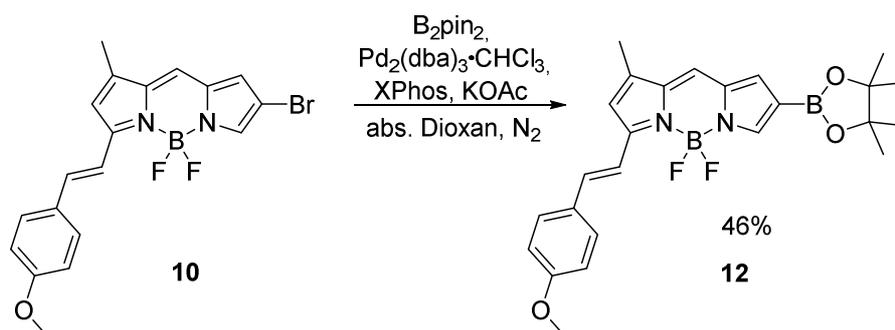
Sowohl im  $^{13}\text{C}$ - (Abbildung 121 im Anhang), als auch im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum (Abbildung 122 im Anhang) werden die zu erwartenden Signale beobachtet. Das Massenspektrum der Verbindung kann im negativen ESI-Modus bestimmt werden und ergibt die Masse für das  $[\text{M}-\text{H}]^-$  Ion ( $m/z = 441.06$ , Abbildung 160 im Anhang). Das beobachtete  $m/z$ -Verhältnis stimmt mit dem theoretischen Wert überein und spricht damit für eine Bestätigung der Struktur.

---

Aufgrund der Doppelbindung der endständigen Allylgruppe in Bodipy **11** sind im Vergleich zur Methylgruppe in Bodipy **10** mehr Nebenreaktionen wie z.B. Hydrierungen der endständigen Doppelbindung zu erwarten. Dies könnte auch die ca. 10% höhere Ausbeute für Bodipy **10** erklären. Daher werden die weiteren Reaktionen lediglich mit Bodipy **10** durchgeführt.

### Synthese von Boronsäurepinakolester Bodipy **12**

In Analogie zu der Synthese von Verbindung **7** wird eine Suzuki-Miyaura-Borylierung auch mit dem rotverschobenen Bodipy **10** durchgeführt (Schema 29).



Schema 29: Synthese von Verbindung **12**.

Unter den für Verbindung **7** optimierten Bedingungen, kann Verbindung **12** mit einer Ausbeute von 46% in violetten Kristallen synthetisiert werden.

### Charakterisierung von Boronsäurepinakolester Bodipy **12**

Die Charakterisierung der Struktur von Verbindung **12** wird mittels NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie und Kristallstrukturanalyse durchgeführt. Im Vergleich zum  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **10** (Abbildung 47) können bei **12** (Abbildung 50) lediglich kleine Veränderungen in den Verschiebungen der Signale festgestellt werden. Allerdings gibt es ein charakteristisches zusätzliches Signal bei Verbindung **12**, welches vermuten lässt, dass es zu einer erfolgreichen Substitution von Brom durch Borpinakol gekommen ist. Es handelt sich um das Singulett bei 1.34 ppm, welches den zwölf äquivalenten H-Atomen der Pinakol-Einheit zuzuordnen ist.

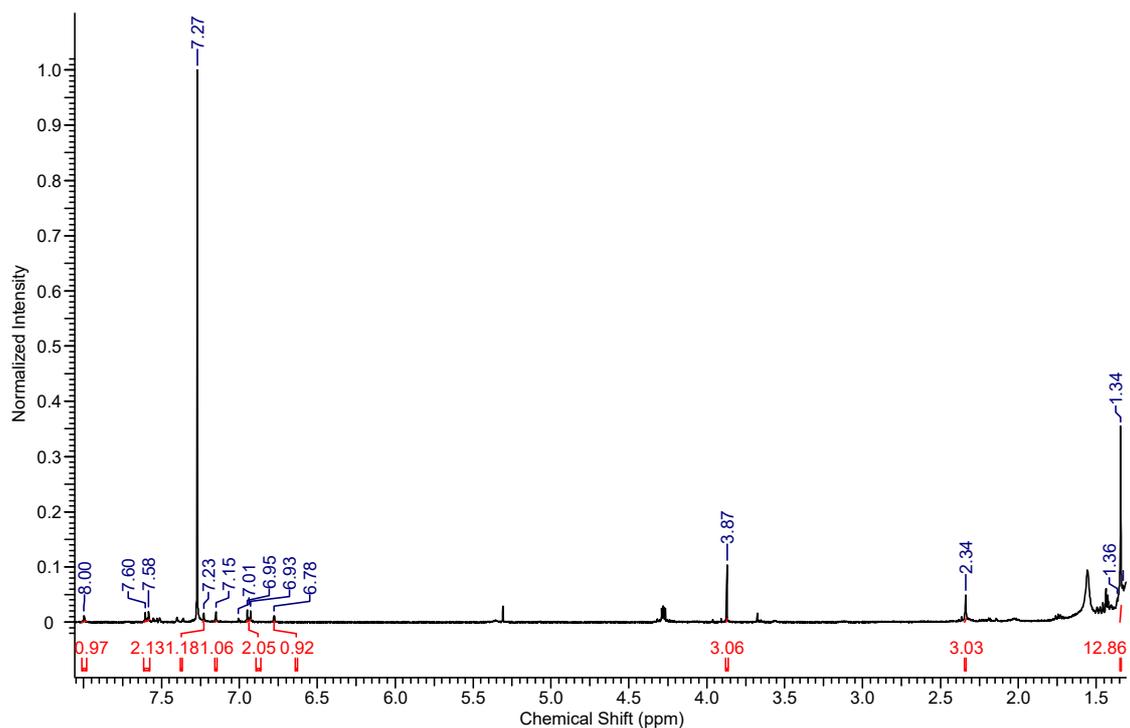


Abbildung 50:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **12** in  $\text{CDCl}_3$ .

Im Massenspektrum entspricht das detektierte  $m/z$ -Verhältnis von  $[\text{M-H}]^-$  dem erwarteten Wert von 463.22 (Abbildung 161). Die über Röntgenstrukturanalyse erhaltene Kristallstruktur in Abbildung 51 spricht ebenfalls für eine erfolgreiche Substitution des Broms zum Borpinakol-Substituenten. Über die Bindungswinkel und damit einhergehende Hybridisierungszustände der beiden Bor-Atome von Verbindung **12** können die gleichen Aussagen getroffen werden wie für Verbindung **7**.

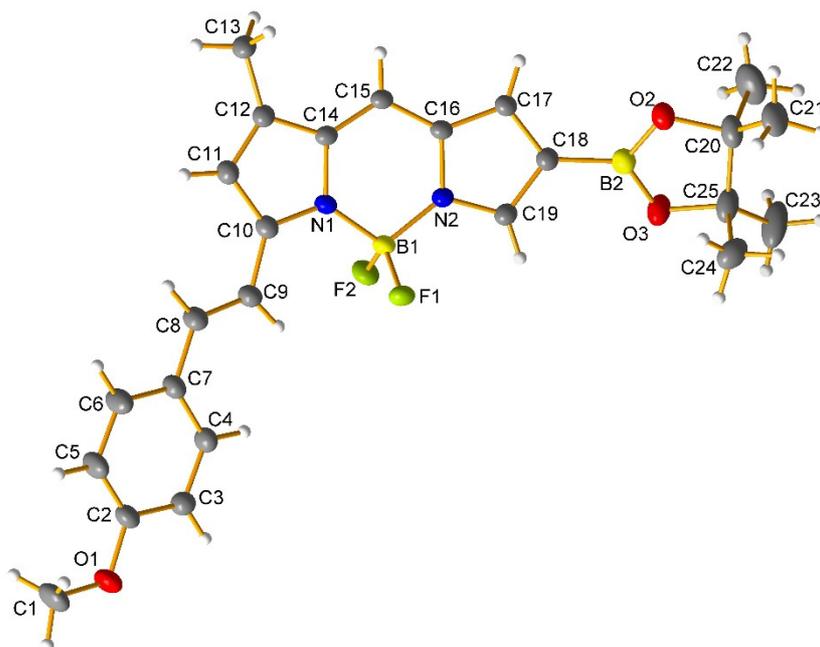
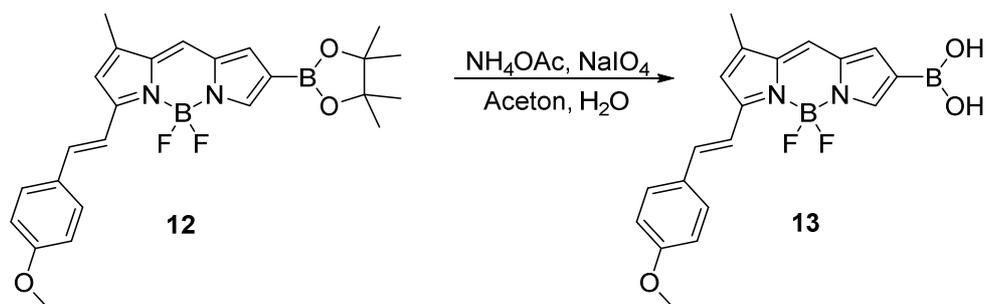


Abbildung 51: Kristallstruktur von Verbindung **12** (CCDC: 2071453).

### Synthese des rot fluoreszierenden $\beta$ -Boronsäure Bodipys rBBB **13**

Die Pinakolentschützung von Boronsäurepinakolester Bodipy **12** zu rBBB **13** kann analog zu der Entschützung von **7** zu **8** durchgeführt werden (Schema 30).



Schema 30: Synthese von Verbindung **13**.

Auch hier wird unter wässrigen Bedingungen die freie Boronsäure rBBB (rot emittierender  $\beta$ -Boronsäure Bodipy) synthetisiert. Es gelten die gleichen Maßnahmen wie bei der Synthese von Verbindung **8**. Eine Bestimmung der Ausbeute ist aufgrund der nicht durchführbaren Aufreinigung ebenfalls nicht möglich.

## Charakterisierung von rBBB 13

Da es sich bei Verbindung **13** um ein Rohprodukt handelt, wird auf die Charakterisierung mittels  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie verzichtet. Stattdessen wird, wie bei Verbindung **8**, ein Heteroatom-NMR mit  $^{11}\text{B}$  gemessen, welches in Abbildung 52 gezeigt ist. Das durch die  $\beta$ -Boronsäure verursachte Bor-Signal verschiebt sich von 22.56 ppm (**12**) zu 20.30 ppm (**13**). Das Triplett der  $\text{BF}_2$ -Einheit befindet sich hingegen unverändert bei 0.86 ppm. Ein Vergleich mit der Literatur zeigt, dass eine Entschützung von einem Boronat-Ester zur Boronsäure genau eine solche chemische Verschiebung im  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum bewirkt, was dafür spricht, dass eine Entschützung erfolgreich stattgefunden hat.<sup>[305]</sup>

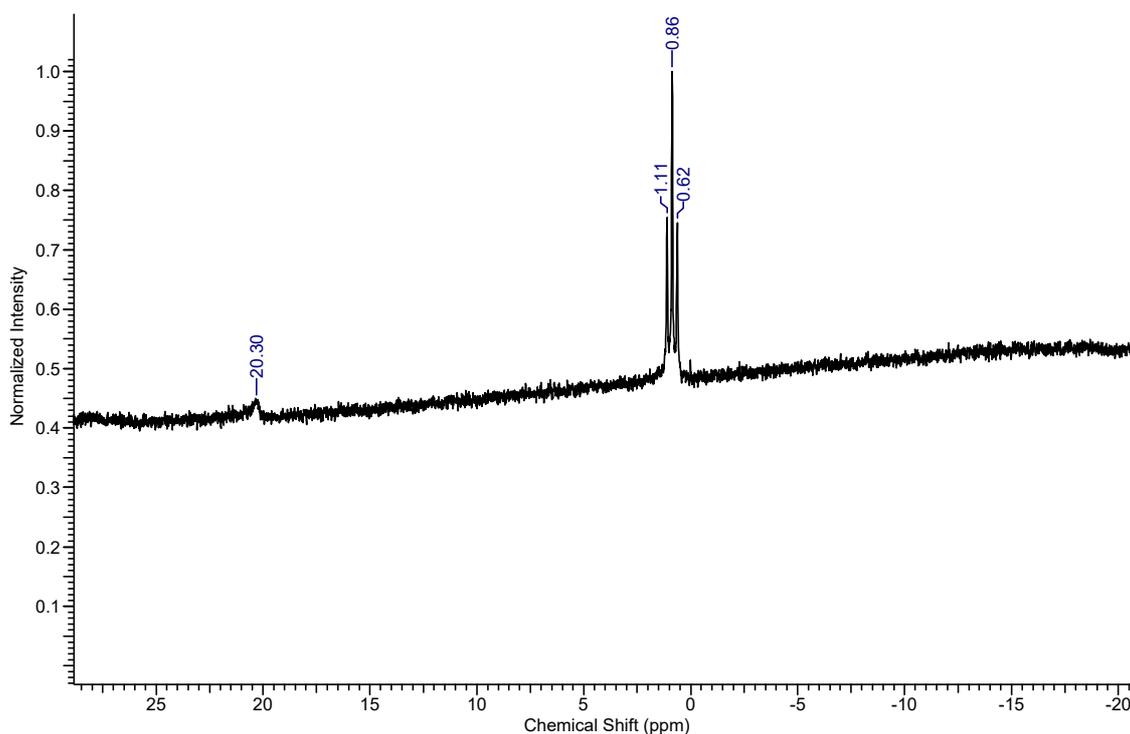


Abbildung 52:  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **13** in Aceton- $d_6$ .

Zusätzlich kann ein Massenspektrum (Abbildung 162 im Anhang) gemessen werden. Die erhaltenen  $m/z$ -Verhältnisse bestätigen die erfolgreiche Entschützung des Boronsäurepinakolesters (mit  $[\text{M}-\text{H}]^-$  gilt:  $m/z_{\text{berechnet}} = 381.14$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 381.14$ ).

### 3.2.1.2. Elektronische Eigenschaften von **6**, **7**, **10**, **11** und **12**

Ein Vergleich der spektroskopischen Eigenschaften der Zwischenprodukte **6**, **7**, **10**, **11** und **12** zeigt, wie sich sowohl die unterschiedlichen  $\beta$ -Substituenten (Brom und Borpinakolester) als auch die konjugierte Doppelbindung in  $\alpha$ -Position auswirken.

Das Absorptionsmaximum von Verbindung **6** liegt bei  $\lambda_{\text{Abs}} = 506$  nm (Abbildung 53a) und das

Emissionsmaximum bei  $\lambda_{Em} = 526$  nm. Die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{Fl}$  und Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{Fl}$  von Verbindung **6** betragen  $\Phi_{Fl} = 46 \pm 5\%$  bzw.  $\tau_{Fl} = 3.3 \pm 0.1$  ns (Abbildung 53b). Sowohl die etwas geringere Quantenausbeute, als auch die leichte Verschiebung der Emissionsmaxima im Vergleich zu  $\beta$ -unsubstituierten Bodipys<sup>[1–5,41]</sup> kann durch den Schweratomeffekt des Broms begründet werden.<sup>[307]</sup>

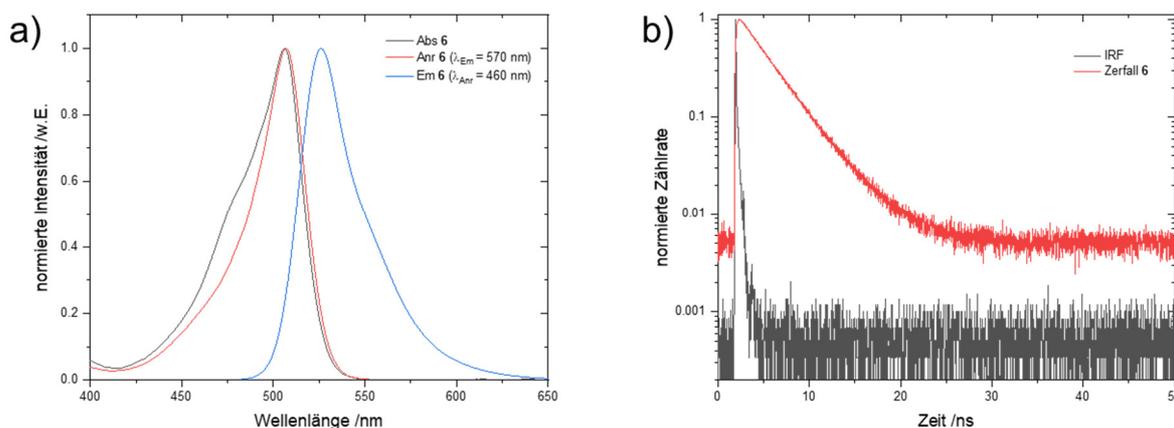


Abbildung 53: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von **6** in DCM.

Das Ergebnis der Messungen der elektronischen Spektren von **7** ist in Abbildung 54a dargestellt und zeigt, dass die Substitution des Brom-Atoms durch die Bor-Pinakoleinheit zu einer leichten Blauverschiebung der Spektren führt ( $\lambda_{Abs}(\mathbf{6}) = 506$  nm,  $\lambda_{Abs}(\mathbf{7}) = 496$  nm,  $\lambda_{Em}(\mathbf{6}) = 526$  nm und  $\lambda_{Em}(\mathbf{7}) = 508$  nm). Aus dem unnormierten Absorptionsspektrum kann der Absorptionskoeffizient von Verbindung **7** in Dichlormethan bestimmt werden,  $\epsilon_{496\text{ nm}} \approx 3.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Die Fluoreszenzlebenszeit (Abbildung 54b) liegt bei  $\tau_{Fl} = 4.9 \pm 0.1$  ns und die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{Fl}$  erhöht sich, verglichen zu **6**, auf  $\Phi_{Fl} = 83 \pm 5\%$ . Sowohl die Blauverschiebung der Absorptionsspektren, als auch die höhere Quantenausbeute verglichen mit dem bromierten Bodipy **6** ergeben sich durch den fehlenden Schweratomeffekt.<sup>[307]</sup>

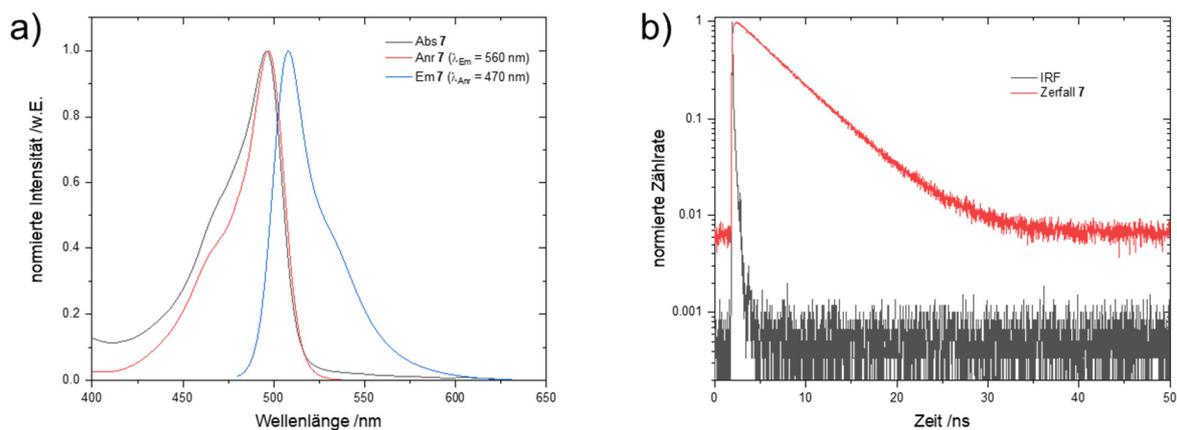


Abbildung 54: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung 7 in DCM.

Die Analyse der elektronischen Eigenschaften der Zielverbindungen **8** und **13** erfolgt separat in Kapitel 3.2.1.3.

Die Aufnahme der Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Bodipy **10** erfolgt ebenfalls in Dichlormethan und ist in Abbildung 55a gezeigt. Die Erweiterung des chromophoren Systems führt zu einer deutlichen bathochromen Verschiebung der elektronischen Spektren ( $\Delta\lambda_{\text{Abs}} = 66 \text{ nm}$  und  $\Delta\lambda_{\text{Em}} = 64 \text{ nm}$ ) im Vergleich zu Verbindung **6** ( $\lambda_{\text{Abs}}(\mathbf{10}) = 572 \text{ nm}$  und  $\lambda_{\text{Em}}(\mathbf{10}) = 590 \text{ nm}$ ). Allerdings bleiben die Fluoreszenzquantenausbeute mit  $\Phi_{\text{Fl}} = 83 \pm 5\%$  und die Fluoreszenzlebenszeit mit  $\tau_{\text{Fl}} = 3.7 \pm 0.1 \text{ ns}$  (Abbildung 55b) weiterhin hoch. Ein Vergleich mit den Ergebnissen aus Kapitel 3.1.2 zeigt, dass sich konjugierte Substituenten in  $\alpha$ -Position weniger auf die Fluoreszenzlebenszeit und -quantenausbeute auswirken als wenn sie sich in  $\beta$ -Position befinden.

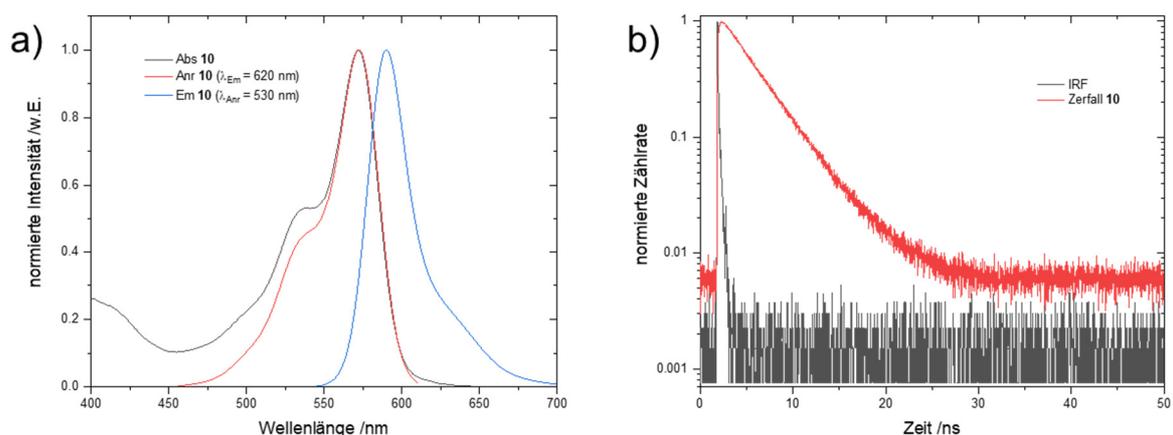


Abbildung 55: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung 10 in DCM.

Die Fluoreszenzcharakterisierung von Bodipy **11** in Dichlormethan liefert nahezu identische spektroskopische Eigenschaften wie Verbindung **10**:  $\lambda_{\text{Abs}} = 573 \text{ nm}$  und  $\lambda_{\text{Em}} = 591 \text{ nm}$ ,  $\Phi_{\text{Fl}} = 78 \pm 5\%$  und  $\tau_{\text{Fl}} = 3.7 \pm 0.1 \text{ ns}$  (Abbildung 56). Demnach wirkt sich die Art des Alkyl-Substituenten am Sauerstoff-Atom des durch Knoevenagelartige-Kondensation eingeführten Substituenten nicht auf die Fluoreszenz-Eigenschaften aus.

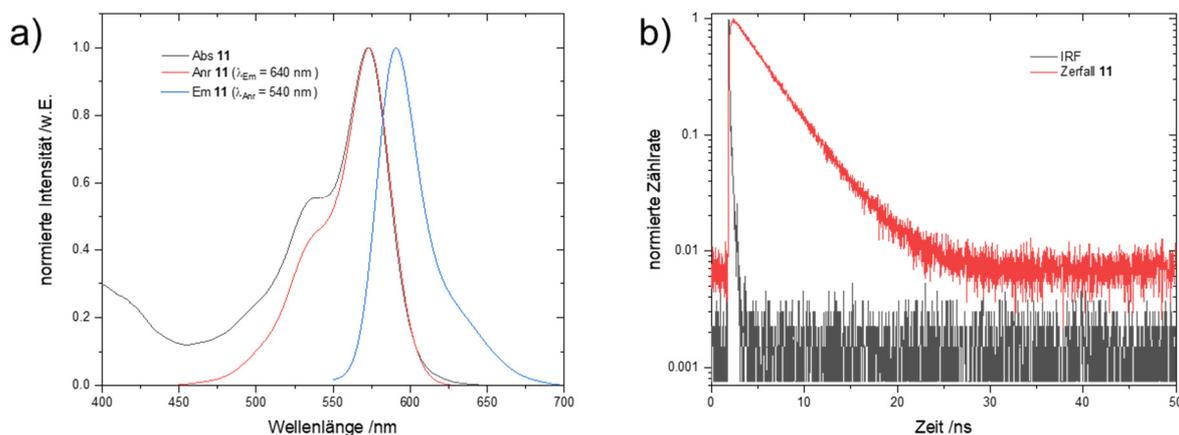


Abbildung 56: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **11** in DCM.

Die fluoreszenzspektroskopische Analyse von Bodipy **12** wird in Analogie zum Edukt **10** in reinem Dichlormethan durchgeführt. Absorptions- und Anregungsmaximum liegen bei  $\lambda_{\text{Abs}} = \lambda_{\text{Anr}} = 564 \text{ nm}$  und das Emissionsmaximum bei  $\lambda_{\text{Em}} = 578 \text{ nm}$  (Abbildung 57a). Demnach führt die Substitution von Brom durch Borpinakol zu einer leichten Blauverschiebung der elektronischen Spektren um etwa 10 nm. Das entspricht etwa der Verschiebungsdifferenz, die für Bodipy **6** und **7** erhalten wird. Auch hier kann der molare Absorptionskoeffizient von Verbindung **12** aus dem unnormierten Absorptionsspektrum bestimmt werden, zu  $\epsilon_{564 \text{ nm}} \approx 8.7 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  und liegt um mehr als Faktor zwei höher als der des grünen Pinakolesters **7** ( $\epsilon_{496 \text{ nm}} \approx 3.0 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Fluoreszenzquantenausbeute ( $\Phi_{\text{Fl}} = 82 \pm 5\%$ ) und Fluoreszenzlebenszeit ( $\tau_{\text{Fl}} = 3.5 \pm 0.1 \text{ ns}$ , Abbildung 57b) hingegen bleiben verglichen zum Edukt-Bodipy **10** nahezu unverändert.

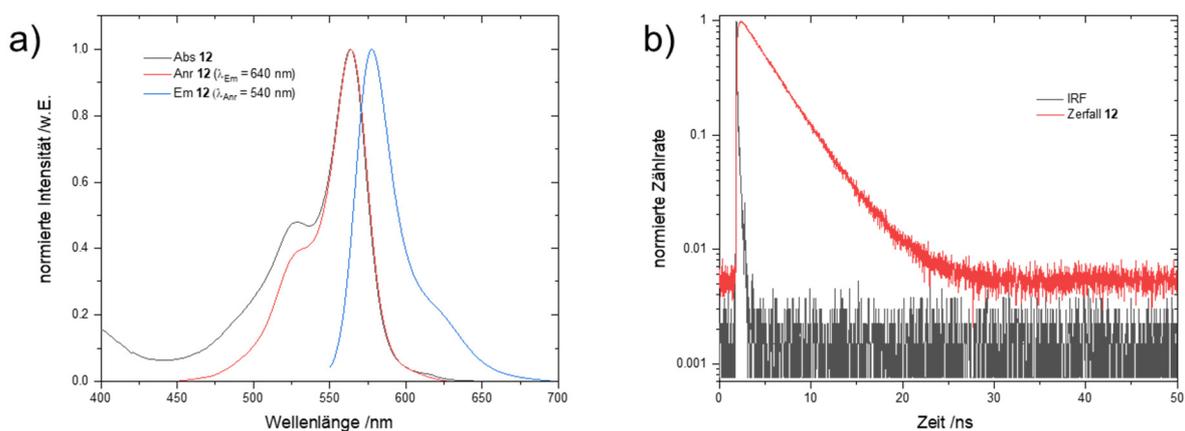


Abbildung 57: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **12** in DCM.

Alle Ergebnisse sind nochmals in Tabelle 3 zusammengefasst. Der Vergleich zeigt, dass mit Ausnahme von Verbindung **6** alle Fluoreszenzquantenausbeuten im Bereich von  $\Phi_{\text{Fl}} \approx 80\%$  liegen. Die Fluoreszenzlebenszeiten liegen alle zwischen  $\tau_{\text{Fl}} \approx 3\text{-}5$  ns. Somit lässt sich zeigen, dass sich hier die unterschiedlichen Substituenten in  $\beta$ -Position nur gering auf die spektroskopischen Eigenschaften der Zwischenprodukte auswirken. Der Vergleich mit der Fluoreszenzquantenausbeute von  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** aus Kapitel 3.1.2 ( $\Phi_{\text{Fl}} \leq 5\%$ ) spricht für die Vermutung, dass sich nicht-konjugierte Substituenten in  $\beta$ -Position deutlich weniger auf die Fluoreszenzquantenausbeute auswirken als konjugierte Substituenten. Die Ursachen für die Wellenlängenverschiebungen der elektronischen Maxima wurden bereits diskutiert.

Tabelle 3: Vergleich der spektroskopischen Eigenschaften der Zwischenprodukte (**6**, **7**, **10**, **11**, **12**) in DCM.

Verbindung	$\lambda_{\text{abs}}$ /nm	$\lambda_{\text{em}}$ /nm	$\Delta\lambda$ /nm	$\Phi_{\text{Fl}}$ / % ( $\pm 5\%$ )	$\tau_{\text{Fl}}$ /ns ( $\pm 0.1\text{ns}$ )
<b>6</b>	506	526	20	46	3.3
<b>7</b>	496	508	12	83	4.9
<b>10</b>	572	590	18	83	3.7
<b>11</b>	573	591	18	78	3.7
<b>12</b>	564	578	14	82	3.5

### 3.2.1.3. Analyse der BBBs

#### 3.2.1.3.1. Elektronische Eigenschaften von gBBB **8** und rBBB **13**

Zur Überprüfung, ob sich die Boronsäure in  $\beta$ -Position (vergleiche Kapitel 3.1.2, konjugierte vs. nicht-konjugierte Substituenten) auf die Fluoreszenzeigenschaften in unterschiedlichen Lösungsmitteln auswirkt, wird das solvatochrome Verhalten bestimmt. Dafür werden die elektronischen Spektren von gBBB **8** bzw. rBBB **13** sowohl in Dichlormethan als auch in wässrigem Puffer (pH = 5.5) gemessen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 58a und Tabelle 4 für gBBB dargestellt. Die Spektren zeigen lediglich eine geringe hypsochrome Verschiebung im protischen Lösungsmittel (von  $\lambda_{\text{Abs}}$  (DCM) = 497 nm zu  $\lambda_{\text{Abs}}$  (pH 5.5) = 486 nm ( $\rightarrow \Delta\lambda_{\text{Abs}} = 11$  nm) und  $\lambda_{\text{Em}}$  (DCM) = 509 nm zu  $\lambda_{\text{Em}}$  (pH 5.5) = 504 nm ( $\rightarrow \Delta\lambda_{\text{Em}} = 5$  nm)). Dieses Verhalten stimmt mit der Literatur überein, dass Bodipys normalerweise nur geringes solvatochromes Verhalten zeigen.<sup>[308]</sup>

Tabelle 4: Spektroskopische Größen von Verbindung **8**.

Größe	Wert (Medium)	$\Delta\lambda$ Solvatochromie	$\Delta\lambda$ Stokes
$\lambda_{\text{Abs}}$	486 nm (Puffer 5.5)	11 nm	18 nm (Puffer 5.5)
$\lambda_{\text{Abs}}$	497 nm (DCM)		
$\lambda_{\text{Em}}$	504 nm (Puffer 5.5)	5 nm	12 nm (DCM)
$\lambda_{\text{Em}}$	509 nm (DCM)		

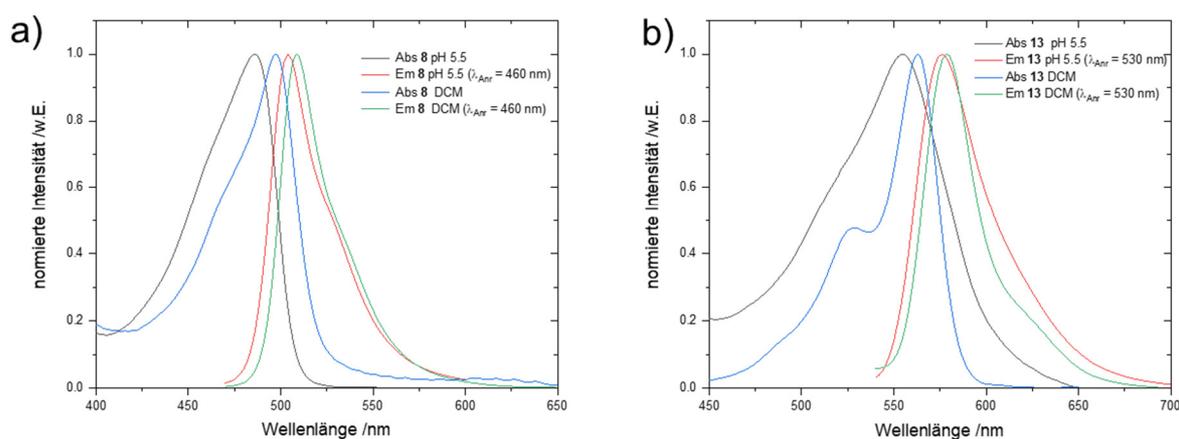


Abbildung 58: Normierte elektronische Spektren in unterschiedlichen Lösemitteln von a) gBBB **8** und b) rBBB **13**.

Die fluoreszenzspektroskopische Analyse in Abbildung 58b zeigt, dass Verbindung **13** ein ähnliches solvatochromes Verhalten zeigt, wie Verbindung **8**. Beobachtete Absorptions- und Fluoreszenzmaxima sind in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Spektroskopische Größen von Verbindung **13**.

Größe	Wert (Medium)	$\Delta\lambda$ Solvatochromie	$\Delta\lambda$ Stokes
$\lambda_{\text{Abs}}$	555 nm (Puffer 5.5)	8 nm	23 nm (Puffer 5.5)
$\lambda_{\text{Abs}}$	563 nm (DCM)		
$\lambda_{\text{Em}}$	578 nm (Puffer 5.5)	0 nm	15 nm (DCM)
$\lambda_{\text{Em}}$	578 nm (DCM)		

Aufgrund der schlechten Löslichkeit in apolaren Lösemitteln, erfolgt die Messung der Fluoreszenzquantenausbeuten  $\Phi_{\text{FI}}$  und Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{\text{FI}}$  (Abbildung 59) in wässrigem Puffer (pH 5.5). Dabei beträgt  $\Phi_{\text{FI}}$  (**8**) =  $77 \pm 5\%$  und  $\tau_{\text{FI}}$  (**8**) =  $5.6 \pm 0.1$  ns. Die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{\text{FI}}$  von Bodipy **13** liegt bei  $\Phi_{\text{FI}}$  (**13**) =  $36 \pm 5\%$  und die Fluoreszenzlebenszeit bei  $\tau_{\text{FI}}$  (**13**) =  $2.8 \pm 0.1$  ns). Sowohl die Fluoreszenzquantenausbeute als auch die Fluoreszenzlebenszeit von gBBB liegen etwa doppelt so hoch wie die von rBBB **13**. Es ist jedoch auch eine etwas schlechtere reine Wasserlöslichkeit von **13** im Vergleich zu Verbindung **8** feststellbar, was beides dem erweiterten hydrophoben chromophoren System zuzuschreiben ist. Ein Vergleich zum  $\beta$ -Styryl-Bodipy aus Kapitel 3.1.2 zeigt, dass es durch Boronsäure in  $\beta$ -Position nicht zu einer Fluoreszenzlöschung wie bei dem konjugierten Styryl-Substituenten kommt.

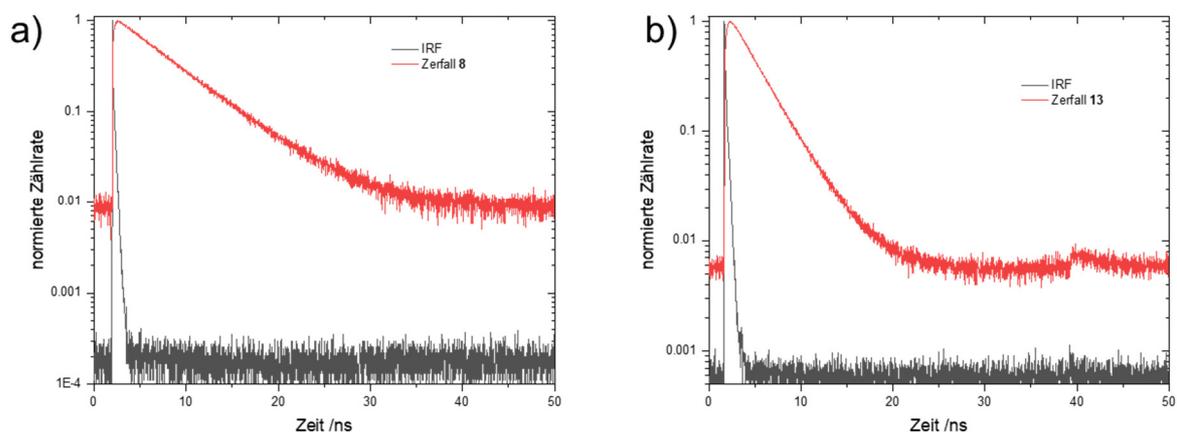


Abbildung 59: TCSPC-Histogramme in pH-Puffer 5.5 von a) gBBB **8** und b) rBBB **13**.

### 3.2.1.3.2. pH-Abhängigkeit der elektronischen Spektren von **8** und **13**

Nach erfolgreicher Synthese von gBBB (**8**) und rBBB (**13**) können die  $pK_a$ -Werte der reinen Verbindungen mittels pH-Titrations der elektronischen Spektren bestimmt werden (Abbildung 60).

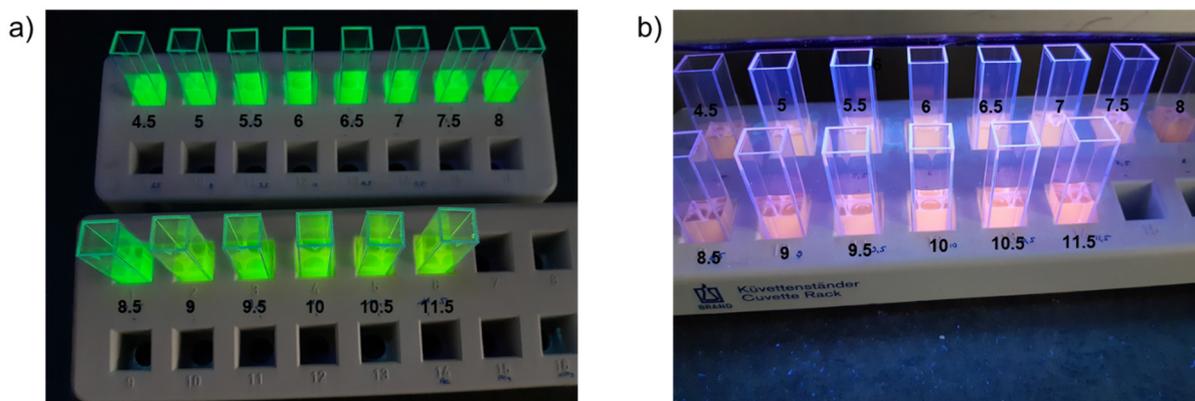


Abbildung 60: pH-Titrations von a) gBBB **8** und b) rBBB **13** (die Zahlen repräsentieren den pH-Wert).

Sowohl für Verbindung **8**, als auch für Verbindung **13** kann eine bathochrome Verschiebung der elektronischen Spektren beim Übergang von saurem zu basischem pH-Wert festgestellt werden (Abbildung 61). Dies ist die Folge des Übergangs von einem trigonal zu einem tetraedrisch koordinierten Bor-Atom von der Boronsäure zum Boronat-Anion, wie in Schema 18 gezeigt.

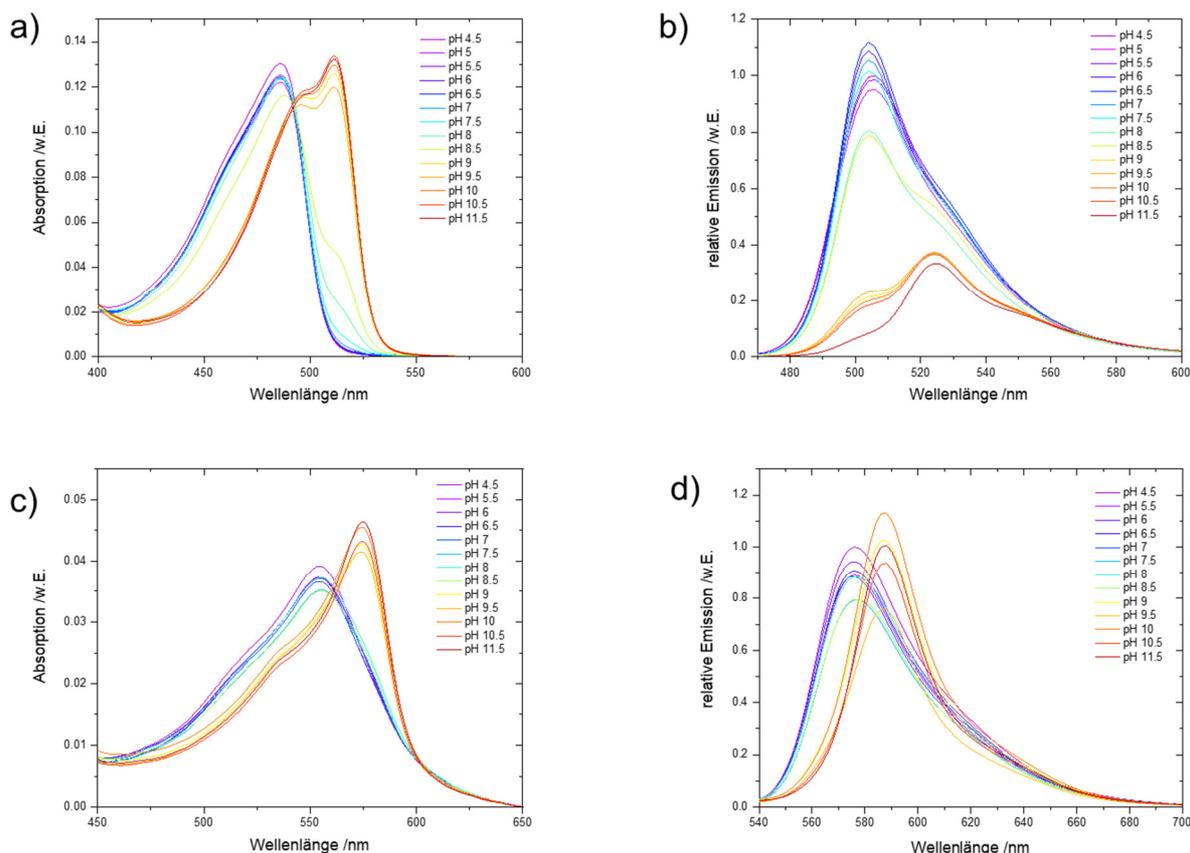


Abbildung 61: pH-Titrationspektren von a) Absorptions- und b) relative Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460 \text{ nm}$ ) von gBBB **8** bzw. c) Absorptions- und d) relative Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 530 \text{ nm}$ ) von rBBB **13**.

Aus den Spektren in Abbildung 61 können, wie in Kapitel 2.4.1 beschrieben, über die Bestimmung von R mit Gleichung 2 und anschließender graphischer Auswertung durch eine nicht-lineare Anpassung (Gleichung 3 oder 4), die  $pK_a$ -Werte für gBBB **8** und rBBB **13** bestimmt werden. Die Ergebnisse der graphischen Auswertung sind in Abbildung 62 gezeigt. Die Emissionsmaxima von Säure- und Ionen-Bande von rBBB **13** sind spektral nicht sauber getrennt, sodass der  $pK_a$ -Wert bei rBBB **13** lediglich aus der Absorption bestimmt werden kann (Abbildung 62b). Für gBBB **8** ergibt sich ein Wert von  $pK_a = 8.7 \pm 0.1$  (Abbildung 62a) und für rBBB ein  $pK_a = 8.9 \pm 0.1$  (Abbildung 62b, Details siehe Anhang A.5).

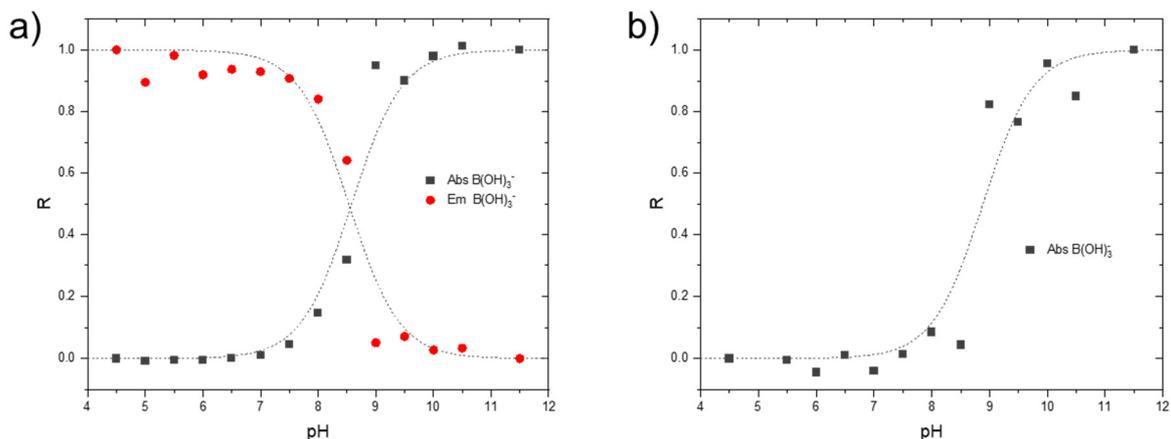


Abbildung 62: Titrationskurven bei unterschiedlichen pH-Werten für a) gBBB **8** und b) rBBB **13**.

Aus diesen Ergebnissen resultiert, dass der Substituent in der  $\alpha$ -Position von rBBB **13** nur einen geringen Einfluss auf den  $pK_a$ -Wert der Boronsäure ausübt ( $\Delta pK_a = 0.2$ ).

### 3.2.1.3.3. pH-Abhängigkeit der Fluoreszenzlebenszeiten von **8** und **13**

Eine pH-Abhängigkeit von Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{FI}$  der beiden synthetisierten Boronsäuren wird ebenfalls festgestellt. In Abbildung 63a ist der Verlauf der Fluoreszenzlebenszeiten von gBBB **8** in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt. Bei höherem pH-Wert erhöht sich  $\tau_{FI}$  von  $\tau_{FI} = 5.6 \pm 0.1$  ns auf  $\tau_{FI} = 6.2 \pm 0.1$  ns. Die Fluoreszenzlebenszeit von rBBB bleibt bis zu einem pH-Wert von  $\sim 8$  nahezu konstant ( $\tau_{FI} \approx 2.9 \pm 0.1$  ns) und steigt bei höherem pH auf  $\tau_{FI} \approx 3.6 \pm 0.1$  ns (Abbildung 63b). Für beide Farbstoffe wird ein ähnlicher Verlauf wie für die pH-Titrations der Absorptionen erhalten (Abbildung 62). Beide Farbstoffe zeigen eine Erhöhung der Fluoreszenzlebenszeit um  $\tau_{FI}$  (**8**) = 0.6 ns bzw.  $\tau_{FI}$  (**13**) = 0.7 ns im basischen Milieu.

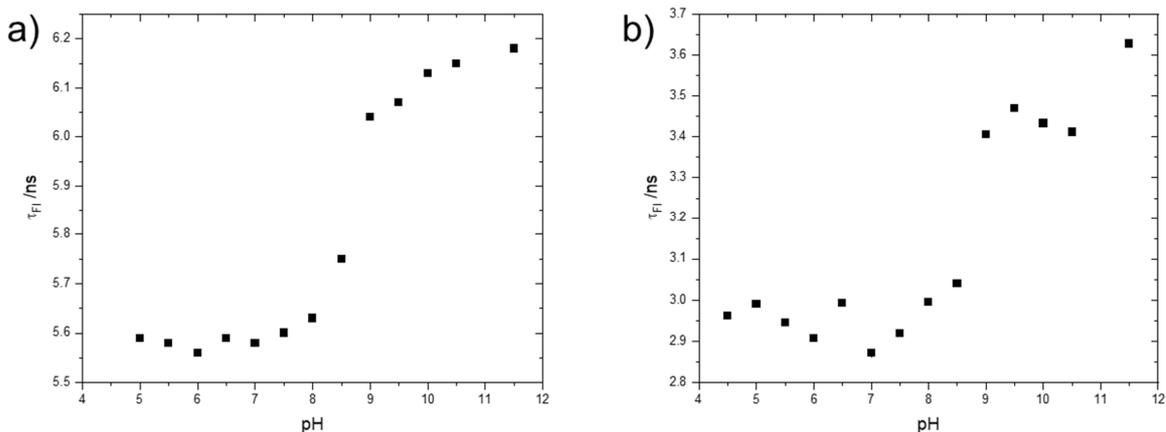


Abbildung 63: pH-Abhängigkeit der Fluoreszenzlebensdauern  $\tau_{FI}$  für a) **gBBB 8** und b) **rBBB 13**.

Alle gemessenen spektroskopischen Eigenschaften der synthetisierten Boronsäuren **8** und **13** (pH-abhängige elektronische Spektren und Fluoreszenzlebenszeiten) zeigen, dass beide Farbstoffe Eigenschaften von pH-Sonden besitzen.

Nach erfolgreicher Synthese, Charakterisierung und Bestimmung der elektronischen Eigenschaften werden die beiden BBBs auf ihre multifunktionalen Fähigkeiten untersucht. Für die Zielerreichung, die Synthese trifunktioneller Bodipys, fehlen den Farbstoffen noch zwei Funktionen. Die (pH-abhängige) Fluoreszenz konnte bereits in diesem Kapitel gezeigt werden, sodass noch die Eignung als Saccharid-Sonde und die Anisotropiemessungen ausstehen.

### 3.2.1.3.4. Saccharid-Bindung von **gBBB 8** und **rBBB 13**

Wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben, sind Boronsäure-basierte Moleküle für ihre Eigenschaften zur Bindung von hydroxylierten Verbindungen bekannt. In der vorliegenden Dissertation wird dies für die beiden synthetisierten Fluoreszenzfarbstoffe **gBBB 8** und **rBBB 13** für mehrere unterschiedliche Polyole untersucht, insbesondere die Bindung mit Sacchariden. Zunächst werden für ausgewählte käufliche Saccharide und Polyole, wie sie in Abbildung 64 zu finden sind, die Bindungskonstanten  $K_B$  bestimmt.

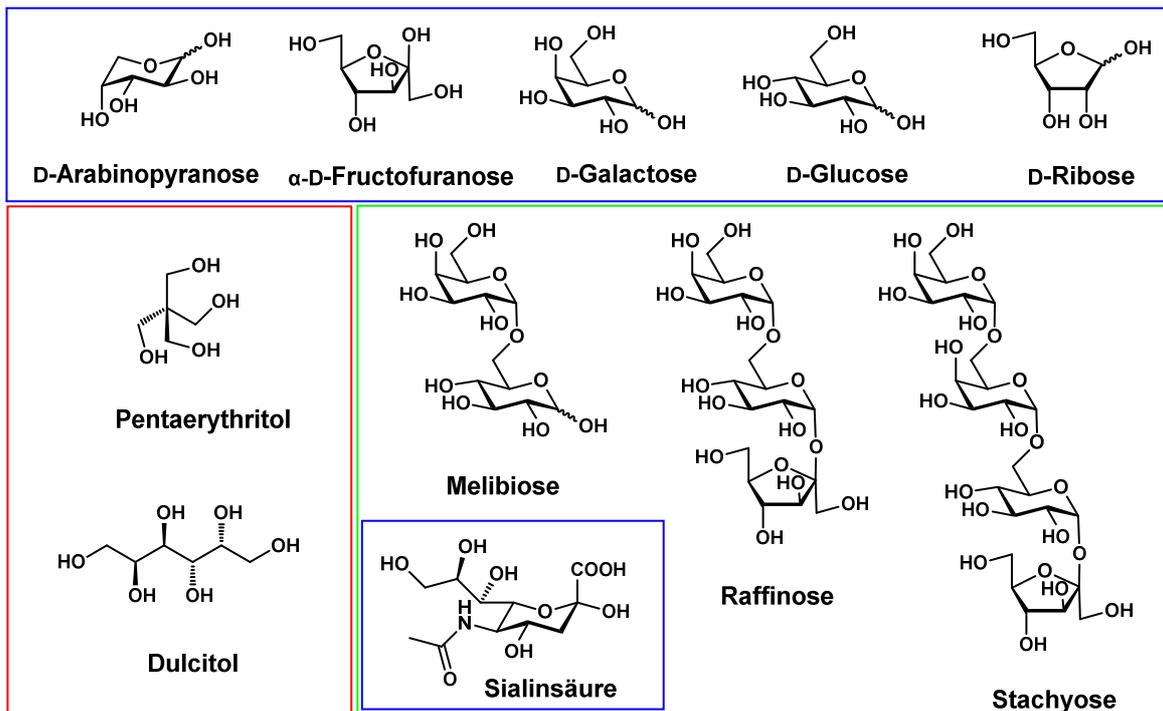


Abbildung 64: Strukturen der in dieser Dissertation verwendeten Zucker und offenkettigen Polyole (blau: Monosaccharide, grün: Oligosaccharide, rot: offenkettige Polyole).

### 3.2.1.3.4.1. Bestimmung von Bindungsaffinitäten $K_B$

Aufgrund der pH-Abhängigkeit der  $K_B$ -Werte, ist es essenziell den geeigneten pH-Wert für Bindungsaffinitäts-Bestimmungen festzustellen. Wird ein zu niedriger pH-Wert verwendet, kann es sein, dass aus geometrischen Gründen keine oder nur eine sehr schwache Bindung stattfindet. Ist der pH-Wert zu hoch, ist die Gefahr der Dissoziation des gebildeten Boronatesters gegeben (Kapitel 2.2.2.2). Der optimale pH-Wert für die Boronatester-Bildung soll laut Literatur zwischen dem  $pK_a$ -Wert der Boronsäure und dem verwendeten Diol liegen.<sup>[203,204]</sup> Wegen der in der Literatur häufig beschriebenen hohen Bindungsaffinität von Fructose zu Monoboronsäuren wird zunächst die Bindung zu Fructose betrachtet.<sup>[169]</sup> Der  $pK_a$ -Wert von Fructose beträgt  $\sim 12.3$ <sup>[309]</sup> und, wie in Kapitel 3.2.1.3.2 gezeigt, liegt der  $pK_a$ -Wert von gBBB **8** bei 8.7. Der optimale pH-Wert für die  $K_B$ -Bestimmungen zwischen gBBB **8** und Fructose wäre gemäß Gleichung 1  $pH \sim 10.5$ . In der vorliegenden Dissertation kann nach ersten Testmessungen jedoch festgestellt werden, dass ab einem  $pH \geq 9$  keine deutliche spektrale Verschiebung in den elektronischen Spektren zwischen der Säure und dem Ester vorhanden ist (Abbildung 173). Aus diesem Grund werden für die weiteren Messungen die pH-Werte 8 und 8.5 verwendet. Ein Verlauf der Spektren bei erhöhter Zugabe von Fructose zu gBBB **8** bei pH 8.5 (pH 8 im Anhang, Abbildung 176), wird in Abbildung 65 gezeigt. In den Absorptionsspektren (Abbildung 65a) wird eine Rot-Verschiebung von  $\lambda_{Abs} = 488 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{Abs}$

= 508 nm beobachtet, welcher der tetraedrischen Boronatester-Bildung zugeordnet werden kann. Auch die Maxima in den Fluoreszenzspektren (Abbildung 65b) erfahren eine Rotverschiebung (von  $\lambda_{Em} = 504$  nm zu  $\lambda_{Em} = 519$  nm). Es werden die zunehmenden Intensitäten der Absorptionsbande ( $\lambda_{Abs} = 508$  nm) des Boronatesters und die Intensitätsabnahme der Emissionsmaxima bei  $\lambda_{Em} = 504$  nm zur Bestimmung der Bindungsaffinitäten verwendet (Abbildung 65c) und mit Gleichung 6 angepasst werden.

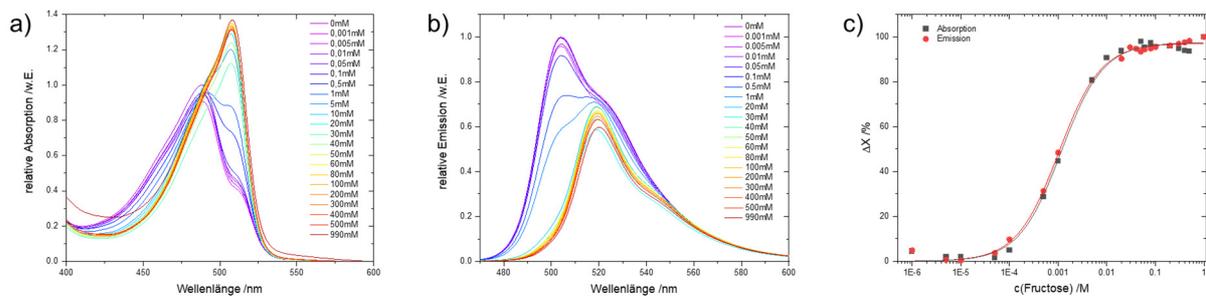


Abbildung 65: Relative a) Absorptions-, b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460$  nm) und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit erhöhter Zugabe an Fructose bei einem pH-Wert von 8.5.

Die Messungen der Bindungsaffinitäten für gBBB **8** gegenüber ausgewählten Sacchariden und Diolen bei beiden pH-Werten ergibt, dass die  $K_B$ -Werte für pH 8.5 etwa doppelt so hoch liegen wie die bei pH 8 (Tabelle 6). Die dazugehörigen Spektren sind im Anhang aufgeführt (Abbildung 174 bis Abbildung 183). Zur Verdeutlichung der prozentualen Anteile an gebundenem Komplex sind die  $K_B$ -Werte mit einer Dreifarbenkodierung markiert (Erläuterung: siehe Tabelle 6 unten).

Tabelle 6: Bindungskonstanten von gBBB **8** mit ausgewählten Sacchariden und Diolen für pH 8 und 8.5 (Abs = Absorption, Em = Emission und MW = Mittelwert).

pH	8			8.5		
	Polyol	$K_B$ (Abs) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Em) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (MW) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Abs) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Em) /M <sup>-1</sup>
D-Arabinose	37 ± 1	38 ± 1	38 ± 1	113 ± 6	106 ± 5	110 ± 6
Dulcitol	189 ± 7	210 ± 5	200 ± 6	508 ± 50	617 ± 20	563 ± 38
D-Fructose	408 ± 109	483 ± 73	446 ± 93	870 ± 60	971 ± 49	920 ± 55
D-Galactose	23 ± 1	20 ± 1	22 ± 1	46 ± 5	67 ± 7	57 ± 6
D-Glucose	7 ± 1	9 ± 1	8 ± 1	14 ± 1	21 ± 1	18 ± 1
D-Melibiose	16 ± 1	28 ± 3	22 ± 2	46 ± 3	91 ± 6	69 ± 5
Pentaerythritol	114 ± 4	116 ± 5	115 ± 5	255 ± 11	255 ± 11	255 ± 11
D-Raffinose	2 ± 1	2 ± 2	2 ± 2	4 ± 1	7 ± 3	5 ± 2
D-Ribose	57 ± 2	71 ± 3	64 ± 3	198 ± 11	164 ± 6	181 ± 9
D-Stachyose	-	61 ± 6	61 ± 6	-	127 ± 11	127 ± 11

Das Farbensystem illustriert den mit Gleichung 7 berechneten prozentualen Anteil an gebildetem Komplex, bei einer Konzentration von 100 mM des jeweiligen Analyten: Grün = 85-100%, orange = 50-85% und rot < 50%. Bei einem pH-Wert von 8.5 gibt es nur zwei Diolen die weniger als 85% binden: Glucose = 64% und Raffinose = 34%.

Auch für rBBB **13** kann eine Rotverschiebung der Spektren bei Zugabe von Diolen beobachtet werden, wie beispielhaft in Abbildung 66 für die Absorptions- (von  $\lambda_{Abs} = 556$  nm zu  $\lambda_{Abs} = 574$  nm) und Emissionsspektren (von  $\lambda_{Em} = 582$  nm zu  $\lambda_{Em} = 586$  nm) mit zunehmender Konzentration an Fructose bei pH 8.5 gezeigt ist. Die resultierenden Titrationskurven sind in Abbildung 66c dargestellt.

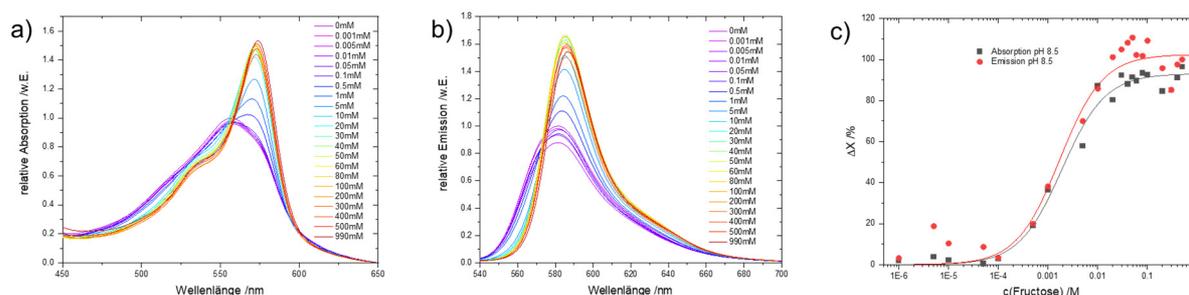


Abbildung 66: Relative a) Absorptions-, b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 530$  nm) und c) resultierende Titrationskurven von **13** mit erhöhter Zugabe an Fructose bei einem pH-Wert von 8.5.

Alle gemessenen Bindungskonstanten für rBBB **13** mit Sacchariden und Diolen bei pH 8 und 8.5 sind in Tabelle 7 gezeigt (elektronischen Spektren und Titrationskurven in Abbildung 184 - Abbildung 193 im Anhang). Allerdings sind die Bindungskonstanten, mit Ausnahme von Dulcitol, hier allgemein kleiner im Vergleich zu gBBB **8**.

Tabelle 7: Bindungskonstanten von **13** mit ausgewählten Sacchariden und Diolen für pH 8 und 8.5 (Abs = Absorption, Em = Emission und MW = Mittelwert).

pH	8			8.5		
	$K_B$ (Abs) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Em) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (MW) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Abs) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (Em) /M <sup>-1</sup>	$K_B$ (MW) /M <sup>-1</sup>
<b>D-Arabinose</b>	14 ± 3	20 ± 4	17 ± 4	26 ± 6	48 ± 12	37 ± 9
<b>Dulcitol</b>	334 ± 87	559 ± 212	447 ± 150	436 ± 132	675 ± 281	556 ± 220
<b>D-Fructose</b>	179 ± 31	252 ± 76	216 ± 54	524 ± 87	582 ± 139	553 ± 116
<b>D-Galactose</b>	18 ± 2	22 ± 7	20 ± 5	26 ± 4	48 ± 15	37 ± 11
<b>D-Glucose</b>	1 ± 1	-	1 ± 1	5 ± 2	-	5 ± 2
<b>D-Melibiose</b>	10 ± 2	-	10 ± 2	8 ± 2	-	8 ± 2
<b>Pentaerythritol</b>	78 ± 15	80 ± 19	79 ± 17	102 ± 14	111 ± 16	107 ± 15
<b>D-Raffinose</b>	-	-	-	-	-	-
<b>D-Ribose</b>	30 ± 5	41 ± 12	36 ± 9	111 ± 22	103 ± 23	107 ± 23
<b>D-Stachyose</b>	-	47 ± 25	47 ± 25	-	73 ± 19	73 ± 19

Gleiche Farbkodierung wie in Tabelle 6.

Ein Vergleich der Bindungsaffinitäten beider Verbindungen **8** und **13** zeigt, dass die Ergebnisse mit der Reihenfolge der in der Literatur beschriebenen Selektivitäten für Monosaccharide übereinstimmen.<sup>[156,169,179,208,218]</sup> Außerdem kann festgestellt werden, dass Oligosaccharide an gBBB **8** schlechter binden als ihre Monosaccharide. Diese Beobachtung ist ebenfalls mit der Literatur konform.<sup>[169,205]</sup> Nur Melibiose bei gBBB **8** weicht von dieser Regel ab. Ebenso kann für beide Farbstoffe **8** und **13** eine hohe Bindungsaffinität zu den offenkettigen Polyolen, Pentaerythritol und Dulcitol beobachtet werden. Dies kann auf eine größere Zahl von möglichen Bindungsstellen sowie auf geringere Spannungen in der Geometrie zurückgeführt werden.<sup>[310]</sup> Ein beispielhafter Vergleich mit den Bindungskonstanten der Bodipys aus Kapitel 2.2.2.3 zeigt, dass bei gBBB der  $K_B$ -Wert für D-Fructose bei pH 8.5 etwas kleiner ist ( $K_B = 920 \pm 55 \text{ M}^{-1}$ ) als der  $K_B$ -Wert von MESO 4 in einer Wasser-Methanol Mischung ( $K_B = 1475 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>[220]</sup> Im Vergleich zu dem literaturbekannten  $\beta$ -borylierten Bodipy (pH = 9.5) können für D-Fructose bessere Bindungseigenschaften für sowohl gBBB als auch rBBB festgestellt werden, jedoch schlechtere für D-Galactose.<sup>[221]</sup>

Aufgrund der interessanten Eigenschaften der Sialinsäure (Kapitel 2.2.1.3) wird sie für beide Farbstoffe auf ihr Bindungsverhalten untersucht. Es kann keine spektrale Verschiebung beobachtet werden, jedoch erfährt die Spektrenform bei erhöhter Zugabe von Sialinsäure eine Veränderung (Abbildung 67). Dies kann eventuell auf eine sehr schwache Bindung mit Überlagerung der Banden hindeuten.

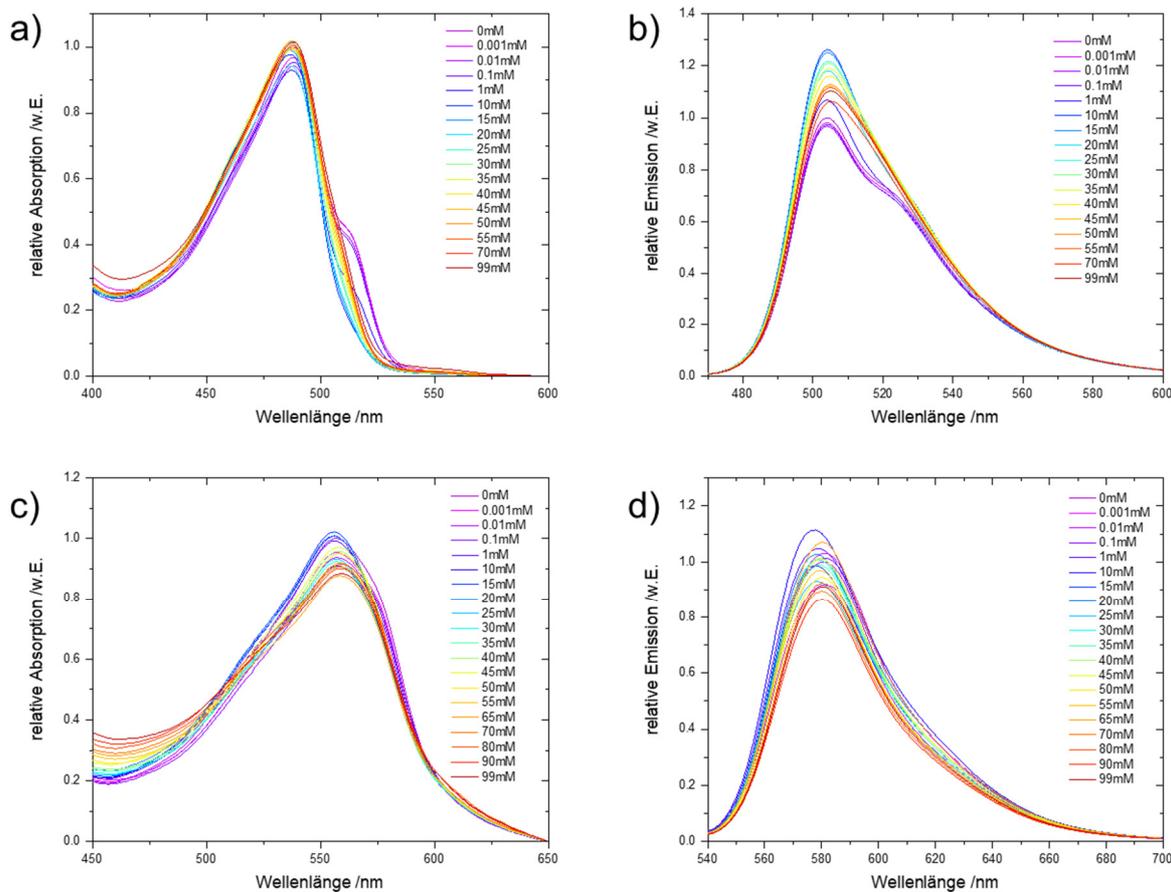


Abbildung 67: Relative a) Absorptions- und b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460 \text{ nm}$ ) mit erhöhter Zugabe von Sialinsäure zu gBBB bei pH 8.5, sowie für rBBB in c) und d) mit  $\lambda_{Anr} = 530 \text{ nm}$ .

Zum Erhalt einer auswertbaren spektralen Verschiebung werden die Spektren zusätzlich noch in pH 11.5 gemessen. Wie in Abbildung 68 ersichtlich, werden bei den Titrations von gBBB **8** (a und b) und rBBB **13** (d und e) bei erhöhter Zugabe Verschiebungen der Spektren zu höheren Energien beobachtet:

- für gBBB **8**:  $\lambda_{Abs} = 512 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{Abs} = 488 \text{ nm}$  und  $\lambda_{Em} = 524 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{Em} = 506 \text{ nm}$

- für rBBB **13**:  $\lambda_{Abs} = 575 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{Abs} = 562 \text{ nm}$  und  $\lambda_{Em} = 588 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{Em} = 582 \text{ nm}$

Die beobachtete hypsochrome Verschiebung der elektronischen Spektren könnte darauf hinweisen, dass Sialinsäure nicht nur mit zwei Hydroxyl-Gruppen bindet, sondern vermutlich noch andere Komplexbildungen eine Rolle spielen (Kapitel 2.2.1.3).<sup>[311]</sup> Jedoch zeigen die Titrationskurven in Abbildung 68c und f, dass nur sehr kleine Werte für  $K_B$  bei beiden Farbstoffen erhalten werden (beide  $K_B < 1 \text{ M}^{-1}$ ). Entweder besitzt Sialinsäure nur eine schlechte Bindungsaffinität zu den synthetisierten Boronsäuren oder es liegt hier eine fehlende spektroskopische Signatur vor, sodass die Affinität nicht bestimmt werden kann. Ein

Indiz für letzteres kann in der Literatur gefunden werden. Sialinsäure zeigt mit einer fluoreszierenden Boronsäure erst bei Zugabe von chelatbildendem  $Zn^{2+}$  eine Fluoreszenzänderung die ausreicht um die Bindungsaffinität zu bestimmen.<sup>[311]</sup> Es wird hier allerdings auf weitere Untersuchungen verzichtet.

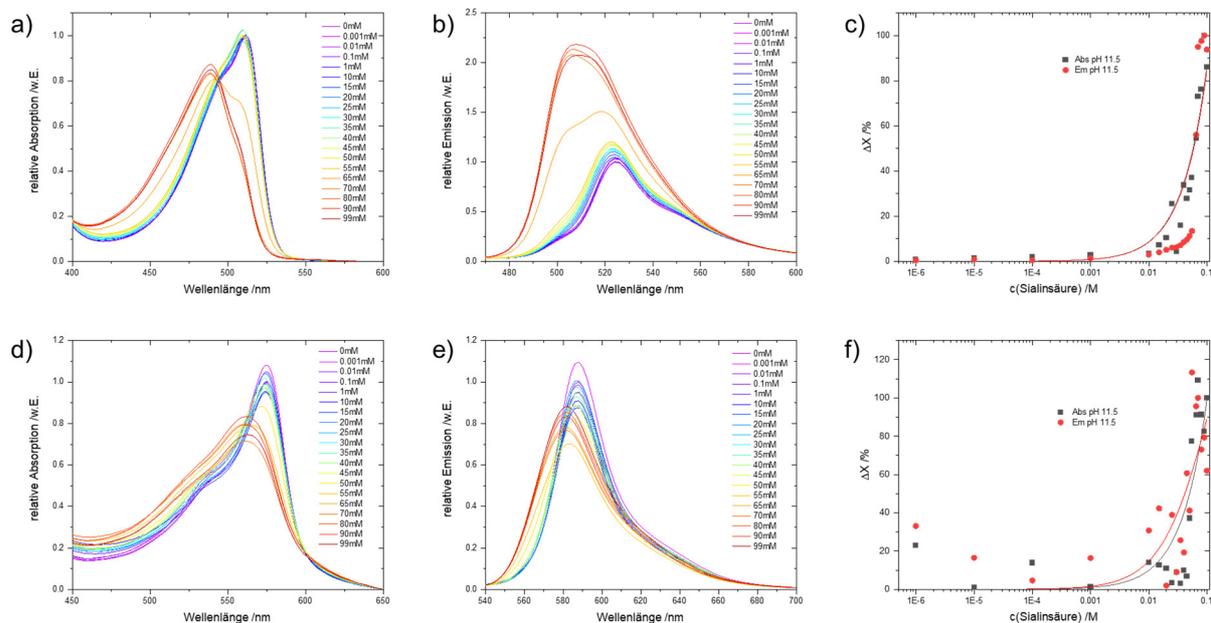


Abbildung 68: Relative a) Absorptions- und b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460$  nm) und c) resultierende Titrationskurven von gBBB mit erhöhter Zugabe an Sialinsäure bei pH 11.5, sowie für rBBB in d), e) mit  $\lambda_{Anr} = 530$  nm und f).

Für alle anderen Polyole werden weitere Untersuchungen zur Bestimmung der Änderung von Fluoreszenz-Eigenschaften vorgenommen. Aufgrund der beobachteten größeren Bindungsaffinitäten bei pH 8.5, werden die weiteren Messungen bei diesem pH-Wert durchgeführt.

### 3.2.1.3.4.2. Auswirkungen auf Fluoreszenzquantenausbeute $\Phi_{FI}$ und Fluoreszenzlebenszeit $\tau_{FI}$

Bei der Bindung der synthetisierten Farbstoffe **8** und **13** mit Polyolen ist, mit wenigen Ausnahmen, sowohl eine Erhöhung der Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{FI}$  (Tabelle 8) als auch der Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{FI}$  (Abbildung 69 und Tabelle 9) als Folge der Diolbindung zu beobachten. Mit Ausnahme von Glucose ( $\Phi_{FI} = 76 \pm 5\%$ ), Raffinose ( $\Phi_{FI} = 78 \pm 5\%$ ) und Stachyose ( $\Phi_{FI} = 67 \pm 5\%$ ), erhöhen bei gBBB **8** alle zugesetzten Liganden die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{FI}$ . Die maximale Erhöhung von 11% mit einem Wert von  $\Phi_{FI} = 88 \pm 5\%$ ,

wird mit Pentaerythritol erhalten. Die Absenkung durch Stachyose kann vermutlich durch Streuung der viskosen, trüben und gelblichen Lösung erklärt werden.

Wie Tabelle 8 zeigt, ist die Erhöhung von  $\Phi_{\text{FI}}$  bei rBBB **13** deutlich stärker ausgeprägt als bei gBBB **8**. Lediglich Raffinose ( $\Phi_{\text{FI}} = 37 \pm 5\%$ ) und Stachyose ( $\Phi_{\text{FI}} = 43 \pm 5\%$ ) führen hier zu keinem bzw. nur sehr geringem Anstieg. Die Kombination mit Pentaerythritol hingegen zeigt die größte Steigerung der Fluoreszenzquantenausbeute mit 30% und einem Wert von  $\Phi_{\text{FI}} = 67 \pm 5\%$ . Auf eine Farbkodierung analog zu Tabelle 6 und Tabelle 7 wird hier aufgrund der unterschiedlich verwendeten Polyol-Konzentrationen verzichtet.

*Tabelle 8: Alle gemessenen Fluoreszenzquantenausbeuten  $\Phi_{\text{FI}}$  bei pH = 8.5 für gBBB **8** und rBBB **13** in Kombination mit Polyolen.*

<b>Diol</b>	<b>c(Diol) /mM</b>	<b><math>\Phi_{\text{FI}}</math> / % (<math>\pm 5\%</math>) Bodipy 8</b>	<b><math>\Phi_{\text{FI}}</math> / % (<math>\pm 5\%</math>) Bodipy 13</b>
<b>Ohne Diol</b>	0	77	37
<b>D-Arabinose</b>	990	86	61
<b>Dulcitol</b>	10	84	55
<b>D-Fructose</b>	990	84	65
<b>D-Galactose</b>	990	82	63
<b>D-Glucose</b>	990	76	59
<b>D-Melibiose</b>	90	85	53
<b>Pentaerythritol</b>	495	88	67
<b>D-Raffinose</b>	99	78	37
<b>D-Ribose</b>	990	82	61
<b>D-Stachyose</b>	100	67	43

Um die Fluoreszenzlebenszeiten von gBBB **8** und rBBB **13** mit Polyolen zu bestimmen werden TCSPC-Histogramme der entsprechenden Lösungen gemessen. Die TCSPC-Histogramme, aus welchen die Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{\text{FI}}$  von gBBB (**8**) und rBBB (**13**) bei zugesetztem Polyol (~100 mM) bestimmt werden können, sind in Abbildung 69a und b gezeigt.

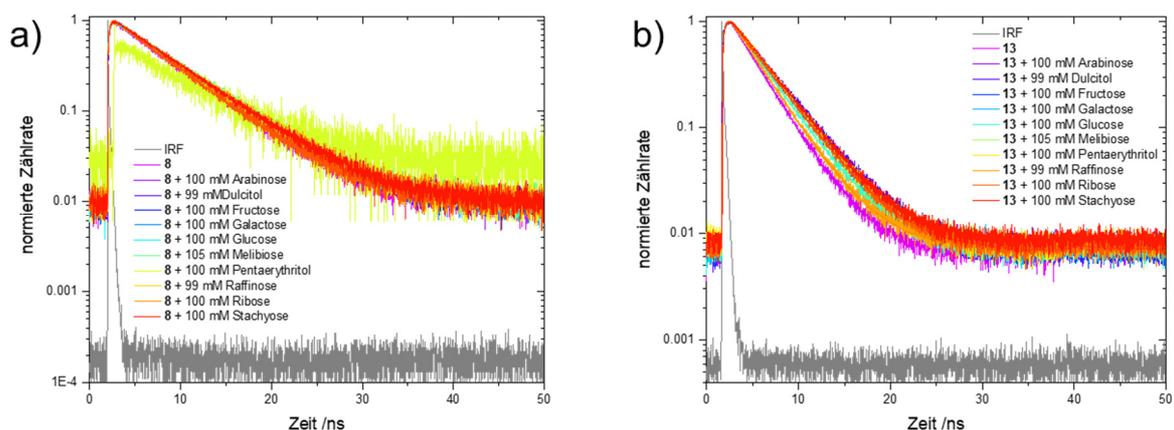


Abbildung 69: TCSPC-Histogramme mit ~100 mM Polyol bei pH 8.5 für a) gBBB **8** und b) rBBB **13**.

Die Ergebnisse der Fluoreszenzlebenszeit-Messungen  $\tau_{FI}$  sind in Tabelle 9 aufgelistet. Erneut, mit Ausnahme von Raffinose ( $\tau_{FI} = 5.9 \pm 0.1$  ns), führen alle Liganden zu einem Anstieg der Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{FI}$  zwischen 0.4 ns und 1.1 ns bei gBBB **8**. Der größte Anstieg wird wieder mit Pentaerythritol beobachtet. Die Steigerungen der Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{FI}$  für rBBB **13** liegen in einem ähnlichen Bereich zwischen 0.3 ns und 1.0 ns, wobei die Werte allgemein zwischen 2-3 ns niedriger liegen als die von gBBB **8**. Es wird hier die gleiche Farbkodierung wie in Tabelle 6 bzw. Tabelle 7 angewendet.

Tabelle 9: Alle gemessenen Fluoreszenzlebenszeiten  $\tau_{FI}$  bei pH = 8.5 für gBBB **8** und rBBB **13** in Kombination mit Polyolen.

Diol	c(Diol) /mM	$\tau_{FI}$ /ns ( $\pm 0.1$ ) Bodipy <b>8</b>	$\tau_{FI}$ /ns ( $\pm 0.1$ ) Bodipy <b>13</b>
Ohne Diol	0	5.8	3.0
D-Arabinose	100	6.2	3.8
Dulcitol	99	6.2	4.0
D-Fructose	100	6.3	3.9
D-Galactose	100	6.2	3.8
D-Glucose	100	6.2	3.6
D-Melibiose	105	6.5	3.8
Pentaerythritol	100	6.9	3.8
D-Raffinose	99	5.9	3.3
D-Ribose	100	6.4	3.8
D-Stachyose	100	6.3	3.9

Außerdem kann durch pH-Titration der  $\tau_{FI}$  von gBBB **8** bzw. rBBB **13** mit Zugabe von 100 mM Fructose ein ähnlicher Kurvenverlauf wie für die Titrationskurven der jeweiligen

Absorptionen erreicht werden (Abbildung 70), was ein Indiz für die sterisch günstigere tetraedrische Boron-Form bei Bindung von Sacchariden sein kann. Ein solches Verhalten konnte bereits auch für die reinen Bodipys gBBB und rBBB in Kapitel 3.2.1.3.3 festgestellt werden. Auch hier wurde die Erhöhung auf die Änderung der Konfiguration von trigonal zu tetraedrisch bei höherem pH-Wert zurückgeführt. Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass die Lebenszeiten von tetraedrisch koordiniertem Bor höher liegen als bei trigonal koordiniertem. Sodass mittels Fluoreszenzlebensdauer-Messungen hier eine Aussage über die Koordination des Bors getroffen werden kann. Dies kann z.B. bei dem literaturbekannten Boronsäure-Bodipy MESO 1 (Kapitel 2.2.2.3), welcher keine pH-abhängige Lebenszeit zeigt, nicht verwendet werden.<sup>[219]</sup>

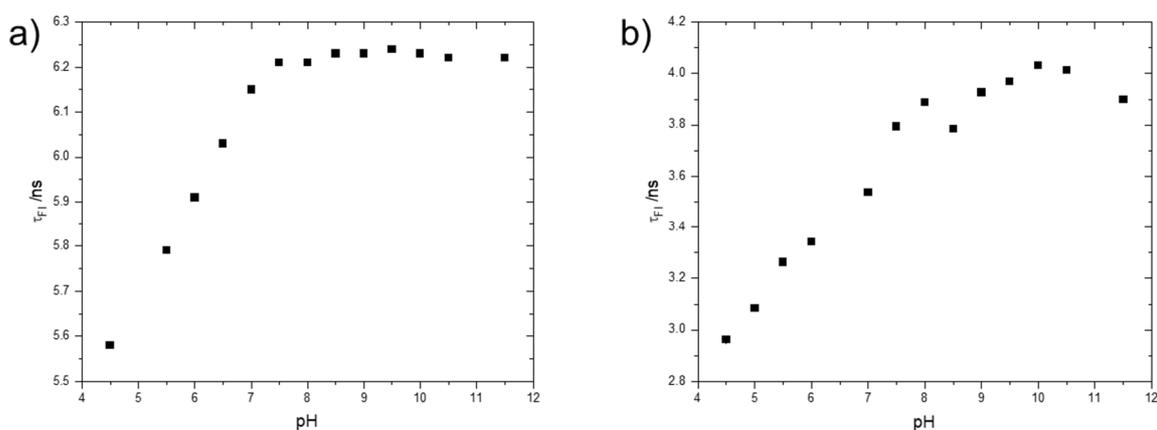


Abbildung 70: pH-abhängige Fluoreszenzlebenszeiten mit 100 mM Fructose von a) gBBB und b) rBBB.

Sowohl bei Fluoreszenzquantenausbeuten  $\Phi_{FI}$ , als auch bei Fluoreszenzlebensdauern  $\tau_{FI}$  kann ein Anstieg nach Zugabe von Ligand beobachtet werden. Auch aus der pH-Titration der Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{FI}$  nach Zugabe von Fructose wird ein Anstieg der Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{FI}$  bei höheren pH-Werten beobachtet. Die besser bindenden Dirole bewirken dabei einen größeren Effekt als die schwächer bindenden Dirole. Für ein selektives Markieren eines Liganden reichen die Änderungen jedoch noch nicht aus.

### 3.2.1.3.4.3. Bestimmung von Säurekonstanten $pK_a$

Die in der Theorie beschriebene pH-Sensitivität von Boronsäuren und -estern (Kapitel 2.2.2) kann auch für die beiden BBB **8** und **13** bestätigt werden.<sup>[169,183,200]</sup> Die elektronischen Spektren, wie sie für gBBB **8** und rBBB **13** mit 100 mM Fructose durch pH-Titrationen erhalten werden, sind in Abbildung 71 gezeigt. Für gBBB **8** kann eine bathochrome Verschiebung der Absorptions-Spektren von  $\lambda_{Abs} = 487$  nm zu  $\lambda_{Abs} = 507$  nm ( $\Delta\lambda_{Abs} = 20$  nm) festgestellt werden, welche sich nur gering von der spektralen Verschiebung der Boronsäure

unterscheidet ( $\lambda_{\text{Abs}} = 486 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{\text{Abs}} = 511 \text{ nm}$ ,  $\Delta\lambda_{\text{Abs}} = 25 \text{ nm}$ ). Auch die Emissionsspektren beinhalten eine Verschiebung der Intensitätsmaxima zu niedrigeren Energien von  $\lambda_{\text{Em}} = 504 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{\text{Em}} = 520 \text{ nm}$  ( $\Delta\lambda_{\text{Em}} = 16 \text{ nm}$ ). Eine Rot-Verschiebung sowohl der Absorptions- ( $\Delta\lambda_{\text{Abs}} = 17 \text{ nm}$ ), als auch der Emissionsmaxima ( $\Delta\lambda_{\text{Em}} = 10 \text{ nm}$ ) findet auch bei der Bindung von Fructose an rBBB **13** statt, wie aus Abbildung 71d und e ersichtlich ist.

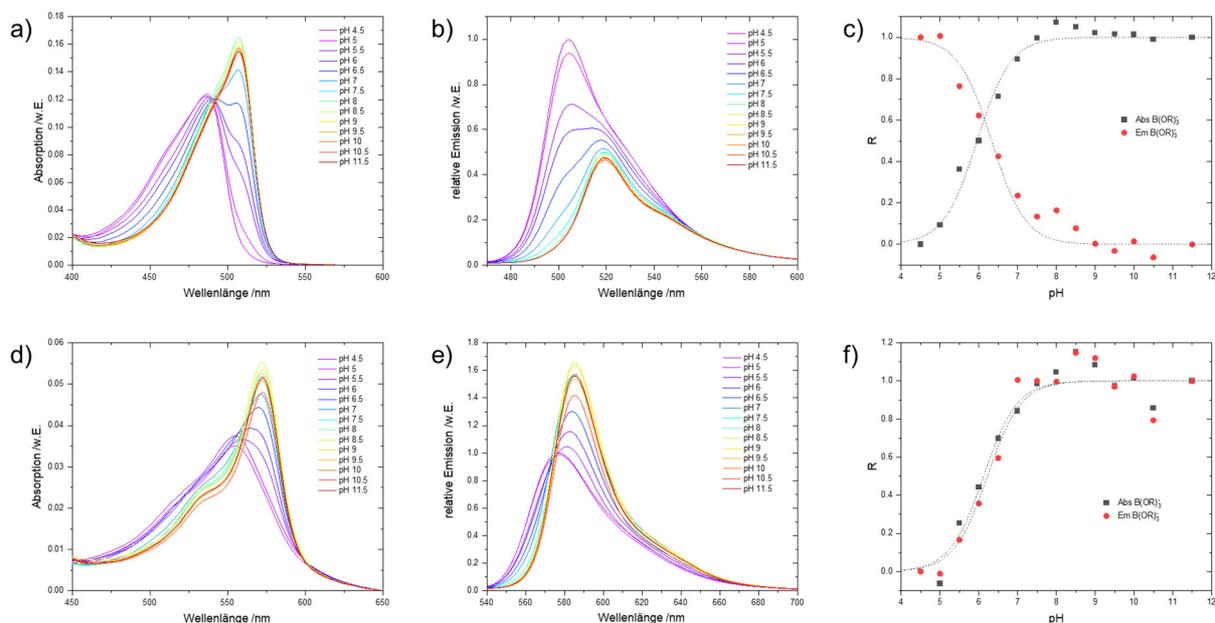


Abbildung 71: pH-Titrationskurven unter Zugabe von 100 mM Fructose mit a) Absorptions- und b) relativen Emissionsspektren ( $\lambda_{\text{Anr}} = 460 \text{ nm}$ ) von gBBB, c) daraus resultierende Titrationskurven, sowie das Gleiche für rBBB in d), e) mit  $\lambda_{\text{Anr}} = 530 \text{ nm}$  und f).

Die Mittelwerte der aus den Absorptions- und Emissionsmaxima ermittelten  $\text{pK}_a$ -Werte für gBBB **8** und rBBB **13** sind in Tabelle 10 gezeigt (die einzelnen  $\text{pK}_a$ -Werte befinden sich im Anhang in Tabelle 14, verglichen dazu die Werte mit Methode 2 in Tabelle 15). Auf Grundlage der erhaltenen  $K_B$ -Werte für unterschiedliche Dirole, kommt es zu einer mehr und weniger starken Absenkung des  $\text{pK}_a$ -Wertes. Die stärkste Absenkung für beide Farbstoffe wird durch Bindung an Fructose beobachtet, welches auch den am stärksten bindenden Liganden darstellt. Für alle gemessenen elektronischen Spektren für gBBB **8** bzw. rBBB **13** (Abbildung 194 bis Abbildung 211) können bei Zugabe der Polyol-Verbindungen ähnliche spektrale Verschiebungen für den jeweiligen Farbstoff beobachtet werden (mit Ausnahme von Sialinsäure).

Tabelle 10: Gemittelte  $pK_a$ -Werte für gBBB 8 und rBBB 13 (MW = Mittelwert) (Farbenkode siehe Tabelle 6).

+ Diol	Bodipy 8 $pK_a$ (MW)	Bodipy 13 $pK_a$ (MW)
Ohne Diol	$8.7 \pm 0.1$	$8.9 \pm 0.1$
D-Arabinose	$7.3 \pm 0.1$	$7.8 \pm 0.1$
Dulcitol	$7.6 \pm 0.1$	$7.8 \pm 0.1$
D-Fructose	$6.2 \pm 0.1$	$6.2 \pm 0.1$
D-Galactose	$7.4 \pm 0.1$	$8.0 \pm 0.2$
D-Glucose	$7.6 \pm 0.1$	$7.8 \pm 0.1$
D-Melibiose	$8.2 \pm 0.1$	$7.0 \pm 0.1$
Pentaerythritol	$6.7 \pm 0.2$	$6.8 \pm 0.2$
D-Raffinose	$8.7 \pm 0.1$	$8.9 \pm 0.1$
D-Ribose	$7.0 \pm 0.1$	$7.4 \pm 0.1$
D-Stachyose	$7.2 \pm 0.1$	$7.5 \pm 0.1$

#### 3.2.1.3.4.4. Korrelation von Bindungsaffinität $K_B$ und Säurekonstante $pK_a$

Werden die Spektren von Zuckertitrationsen und pH-Titrationsen in einen Vergleich gesetzt, können ähnliche spektrale Verschiebungen zu höheren Wellenlängen festgestellt werden. Abbildung 72 repräsentiert diesen Sachverhalt sehr deutlich. Die Auftragung der  $pK_a$ -Werte als Funktion der  $K_B$ -Werte für den jeweiligen Farbstoff zeigt eine Korrelation zwischen den Werten. Je kleiner der  $pK_a$ -Wert, desto größer der  $K_B$ -Wert. Somit kann bestätigt werden: gebundene Diole führen zu einer Herabsenkung des  $pK_a$ -wertes. Die Ausnahme bildet lediglich Dulcitol für beide Farbstoffe. Dulcitol zeigt einen hohen  $pK_a$ -Wert bei hoher Bindungsaffinität. Eine solch starke Korrelation würde aufgrund von Nebeneffekten, wie sterischer Wechselwirkung, Konformationsänderungen, Bindung zu weiteren Hydroxylen und dem  $pK_a$ -Wert der Liganden nicht erwartet werden.<sup>[203,204]</sup> Eine Bestimmung der Korrelationskoeffizienten (mit Maskierung von Dulcitol) führt zu  $R^2$  (gBBB) = 0.77 und  $R^2$  (rBBB) = 0.74.

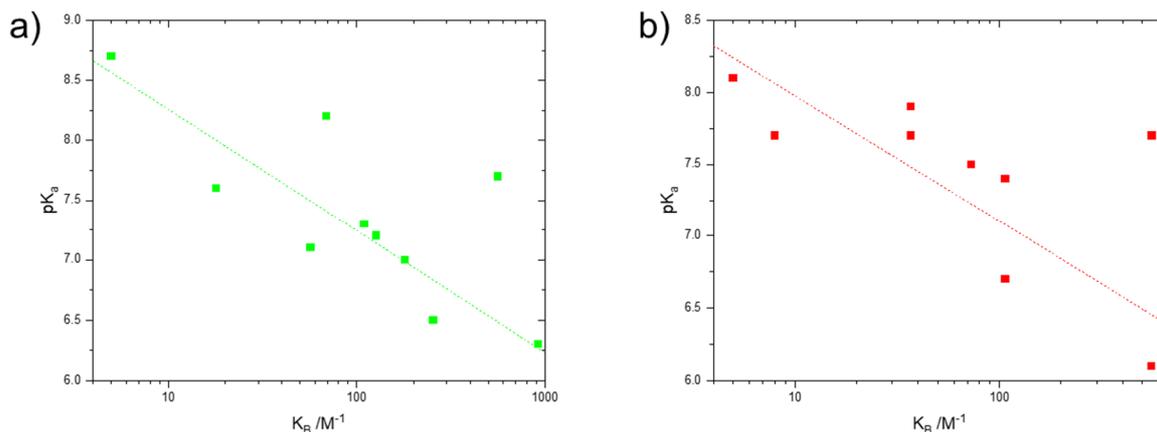


Abbildung 72: Korrelation zwischen  $pK_a$ - und  $K_B$ -Werten a) gBBB **8** und b) rBBB **13**.

Ein Vergleich der Bindungsaffinitäten der beiden Farbstoffe gBBB **8** und rBBB **13** wird in Abbildung 73 dargestellt. Je größer die  $K_B$ -Werte werden, desto näher liegen sie für beide Farbstoffe beieinander. Hieraus folgt, dass der elektronische +M-Effekt des Substituenten in der  $\alpha$ -Position nur eine untergeordnete, aber messbare Rolle spielt.<sup>[202]</sup>

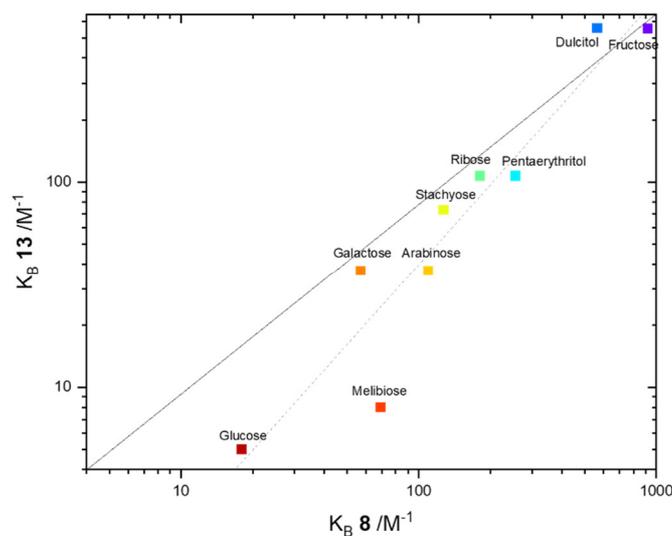


Abbildung 73: Korrelation der  $K_B$ -Werte für gBBB **8** und rBBB **13** (mit gestrichelter Korrelationsgeraden und durchgezogener Ursprungsgeraden).

### 3.2.1.3.4.5. Messungen der Fluoreszenzanisotropie

Das größere Moleküle langsamer rotieren als kleinere ist intuitiv und wurde in Kapitel 2.4.3 bereits dargelegt.<sup>[312–315]</sup> Dies wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch für unterschiedlich große Zucker-Moleküle getestet, mit der Hypothese, dass unterschiedliche Größen von Mono-, Di-, Tri- und Tetrasacchariden einen Einfluss auf die Rotationsbewegung der Moleküle besitzen. Der Nachteil der bisher durchgeführten Fluoreszenzmessungen liegt

darin, dass die gut bindenden Dirole die photophysikalischen Eigenschaften der BBB nahezu gleich beeinflussen und somit eine Unterscheidung der gut bindenden Zucker erschweren. Bisher kann hauptsächlich eine Einteilung in besser und schlechter bindende Zucker gemacht werden. Hier wird jedoch davon ausgegangen, dass die Saccharide je nach ihrem Oligomerisierungsgrad mit unterschiedlicher Geschwindigkeit rotieren und dadurch eine bessere Entscheidungsgrundlage bieten. Untersuchungen zur zeitaufgelösten Anisotropie werden auf Basis der höheren Bindungsaffinitäten und des besser definierten Übergangsdipolmomentes lediglich mit gBBB **8** durchgeführt. Es sei noch erwähnt, dass stationäre Anisotropiemessungen keine Änderungen ergeben (Daten nicht gezeigt).

Nach vertikal polarisierter Anregung erfolgt die Messung der zum Anregungslicht vertikalen oder horizontalen Emissionsintensitäten der Probe. Aus diesen Intensitäten, wie sie in Abbildung 74a für gBBB ohne Fructose und mit 100 mM Fructose dargestellt sind, können die Anisotropiezerfälle über Gleichung 19 berechnet werden. Die resultierenden Kurven können Abbildung 74b für den Boronsäurepinakolester **7** und gBBB **8** in reinem Puffer oder stark konzentrierter Fructose-Lösung entnommen werden. Die Zerfallskurven für gBBB **8** mit unterschiedlichen Zuckern werden in Abbildung 74c dargestellt, die Ergebnisse der Messungen werden in Tabelle 11 gezeigt.

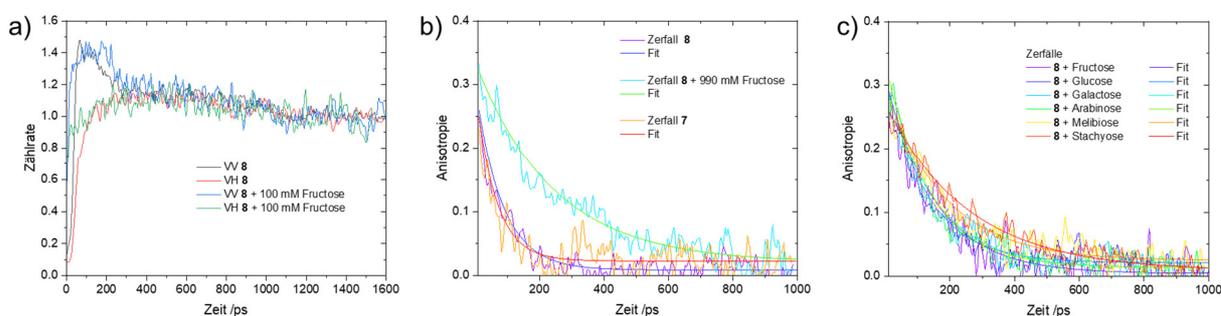


Abbildung 74: a) Vertikale und horizontale Intensitäten von **8** ohne Fructose und **8** mit 100 mM Fructose, b) und c) zeigen die resultierenden Zerfallskurven für **7** und **8** mit und ohne Zucker bzw. die Zerfallskurven für **8** mit Zusatz von ~100 mM (bzw. 200 mM bei Glucose) der untersuchten Saccharide.

Der Vergleich der Rotationskorrelationszeit  $\tau_{\text{Rot}}$  von gBBB **8** ohne Fructose und gBBB **8** mit 100 mM Fructose zeigt einen Anstieg der Rotationskorrelationszeit  $\tau_{\text{Rot}}$  in Folge der Esterbildung ( $\tau_{\text{Rot}}(\mathbf{8}) = 82 \pm 3$  ps und  $\tau_{\text{Rot}}(\mathbf{8}_{100\text{mM Fructose}}) = 154 \pm 7$  ps). Zur Feststellung des Einflusses der Viskosität auf die weiteren Messungen, werden Viskositäten  $\eta$  der Zuckerlösungen bestimmt (Tabelle 11). Mit Gleichung 13 kann der Einfluss der Viskositäten durch Berechnung der Volumina korrigiert werden. Die Messungen ergeben jedoch, dass die Viskositätsänderungen der Lösungen mit Ausnahme von Stachyose nur <10% betragen und

damit bei 100 mM Lösungen vernachlässigbar sind. Zur Verdeutlichung der prozentualen Anteile an gebundenem Komplex bei ~100 mM (bzw. für Glucose 200 mM für einen höheren prozentualen gebundenen Anteil) wird eine Dreifarbenkodierung analog zu Tabelle 6 verwendet. Auf die Messung mit Raffinose wird wegen der schlechten Bindungsaffinität verzichtet.

Tabelle 11: Rotationskorrelationszeiten  $\tau_{\text{Rot}}$ , initiale Anisotropien  $r_0$  (+ offset  $a$ ) und berechnete Volumina  $V_{\text{mol}}$  für mit gBBB markierte Saccharide, sowie Dichten  $\rho$  und Viskositäten  $\eta$  der gemessenen Lösungen (bei 22°C).

System	c(Diol) /mM	$\rho$ /g·mL <sup>-1</sup>	$\eta$ /mPa·s	$\tau_{\text{Rot}}$ /ps	$r_0 + a$	$V_{\text{mol}}$ /mM <sup>-1</sup>
<b>7</b>	0	1.0045	0.991	62 ± 4	0.30 ± 0.02	154
<b>7 + Fructose</b>	990	1.0643	1.552	197 ± 7	0.35 ± 0.01	311
<b>8</b>	0	1.0045	0.991	82 ± 3	0.30 ± 0.01	203
<b>8 + Fructose</b>	990	1.0643	1.552	239 ± 9	0.33 ± 0.01	377
<b>8 + Arabinose</b>	100	1.0098	1.035	140 ± 4	0.33 ± 0.01	332
<b>8 + Fructose</b>	100	1.0107	1.036	154 ± 7	0.32 ± 0.01	365
<b>8 + Galactose</b>	100	1.0109	1.036	152 ± 5	0.31 ± 0.01	360
<b>8 + Glucose</b>	200	1.0175	1.087	127 ± 5	0.32 ± 0.01	287
<b>8 + Melibiose</b>	90	1.0150	1.088	182 ± 7	0.29 ± 0.01	411
<b>8 + Stachyose</b>	100	1.0280	1.223	254 ± 9	0.29 ± 0.01	506

Für die gut bindenden Monosaccharide (Arabinose, Fructose und Galactose) liegen die Rotationskorrelationszeiten alle bei  $\tau_{\text{Rot}} \approx 140 - 155$  ps (Abbildung 75). Sowohl der pinakolgeschützte Bodipy **7** als auch der freie Boronsäure-Bodipy **8** zeigen Rotationskorrelationszeiten von  $\tau_{\text{Rot}} < 100$  ps und hydrodynamische Volumina ( $\langle V_m \rangle$  (**7**)  $\approx 200$  mM<sup>-1</sup>  $\approx V_m$ (**8**)), welche somit kleiner sind, als die Monosaccharid-Ester (mit hohen  $K_B$ -Werten) von **8**. Die Rotationskorrelationszeit  $\tau_{\text{Rot}}$  der schlechter bindenden Glucose bewegt sich hingegen eher in Richtung des freien Farbstoffs ( $\tau_{\text{Rot}}$  (Glucose)  $\approx 127$  ps). Größere Werte für Rotationskorrelationszeiten  $\tau_{\text{Rot}}$  und damit größere hydrodynamische Volumina werden für das gut bindende Tetramer Stachyose ( $\tau_{\text{Rot}} \approx 254$  ps) und das gut bindende Dimer Melibiose ( $\tau_{\text{Rot}} \approx 182$  ps) erhalten. Ein höheres Molekulargewicht des Systems bedeutet ein höheres hydrodynamisches Volumen und damit einhergehend eine größere Rotationskorrelationszeit. Dieser Sachverhalt ist durch den nahezu linearen Verlauf der Anpassungsgeraden zwischen Molekulargewicht und Rotationskorrelationszeit in Abbildung

75 dargestellt. Dieser Verlauf lässt vermuten, dass die Fluoreszenzanisotropie zur Abschätzung des Oligomerisierungsgrades verwendet werden kann.

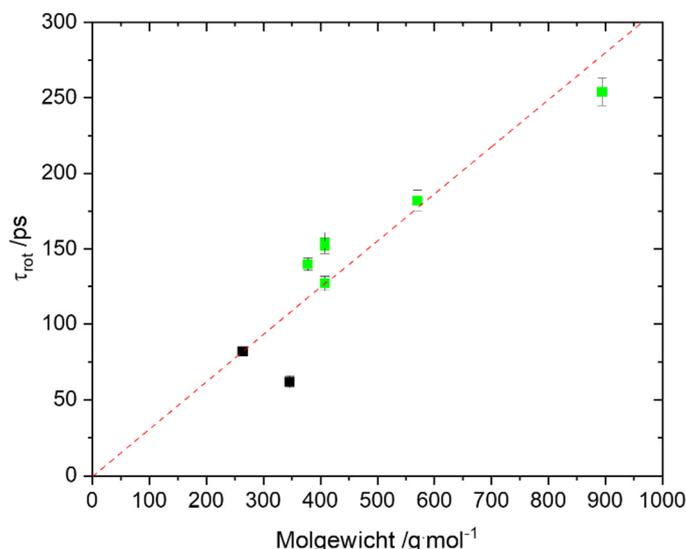


Abbildung 75: Vergleich der Rotationskorrelationszeiten ausgewählter Saccharide mit gBBB **8** als Funktion des Molekulargewichts. Das Farbensystem illustriert den mit Gleichung 7 berechneten prozentualen Anteil an gebildetem Komplex, bei der jeweiligen Saccharid-Konzentration (vergleiche Tabelle 11).

Ein Vergleich von Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  zwischen Bodipy **7** und gBBB **8** zeigt, dass Bodipy **7** schneller rotiert als **8**. Das stimmt allerdings nicht mit der Erwartung überein. Der Pinakolester **7** sollte größer sein als die freie Boronsäure **8** und daher eine höhere Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  besitzen. Ein möglicher Erklärungsansatz dafür wäre, dass die freien Hydroxylgruppen der Boronsäure **8** mit dem polaren Puffer wechselwirken können. Dadurch besitzt gBBB eine geringere Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  als Bodipy **7**, welcher nicht mit dem polaren Puffer wechselwirken kann.

Durch die Synthese der  $\beta$ -borylierten Bodipy-Derivate konnten multifunktionelle Farbstoffe entwickelt werden. Es konnten zwei Boronsäure-basierte selektive Saccharid-Sonden auf Bodipy-Basis entwickelt und erfolgreich synthetisiert werden: ein grün und ein rot fluoreszierender Bodipy. Beide zeigen Änderungen ihrer Fluoreszenzeigenschaften bei Bindung mit Diolen. Sowohl die Verwendung der  $\beta$ -Position als Substitutionsstelle als auch die Anforderung der Asymmetrie konnten umgesetzt werden. Folglich konnten zeitaufgelöste Anisotropiemessungen durchgeführt werden, mit denen eine Unterscheidung des Oligomerisierungsgrades in Zukunft möglich sein kann.



### 3.2.2. Silanisierte Bodipys

Einen weiteren multifunktionalisierten  $\beta$ -substituierten Bodipy soll durch die Synthese eines  $\beta$ -silanisierten Bodipys erhalten werden. Dadurch sollte der Bodipy vermutlich in der Lage sein, an eine Oberfläche kovalent gebunden zu werden (Kapitel 2.3.3). Wie in Kapitel 2.4.3 bereits dargelegt, liegt das Bodipy-Übergangsdipolmoment  $\mu$  parallel zur langen  $C_2$ -Achse, entlang der beiden  $\beta$ -Positionen des Grundgerüsts (Abbildung 76). Eine Immobilisierung senkrecht zu dieser Achse würde in TIRF-Messungen vermutlich zu Donut-artigen Bildern führen, wie es in Kapitel 2.3.6 beschrieben wird. Durch die Lage des Übergangsdipolmomentes des Bodipys bietet sich eine Substitution der  $\beta$ -Position für ein solches Vorhaben sehr gut an und ist daher das angestrebte Ziel (Abbildung 76). Aufgrund des beobachteten negativen Einflusses von konjugierten Doppelbindungen in der  $\beta$ -Position auf die Fluoreszenzeigenschaften (Kapitel 3.1.2) ist es wichtig, dass dies bei der Syntheseplanung des Endproduktes beachtet und vermieden wird. Einige der in der Theorie beschriebenen Synthesen (2.1.3.3) kommen dadurch hier nicht mehr in Frage.

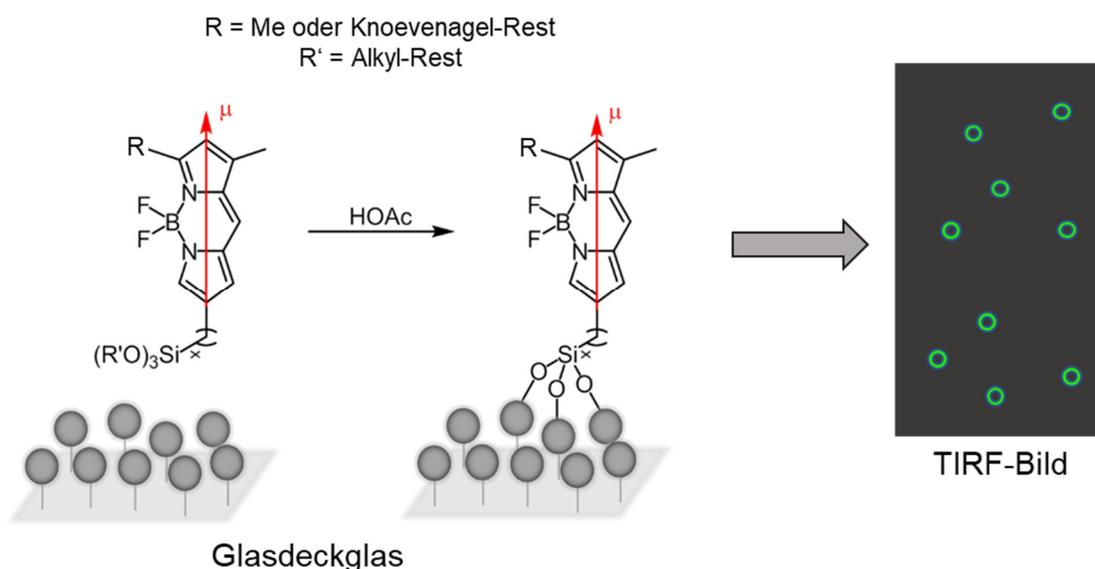
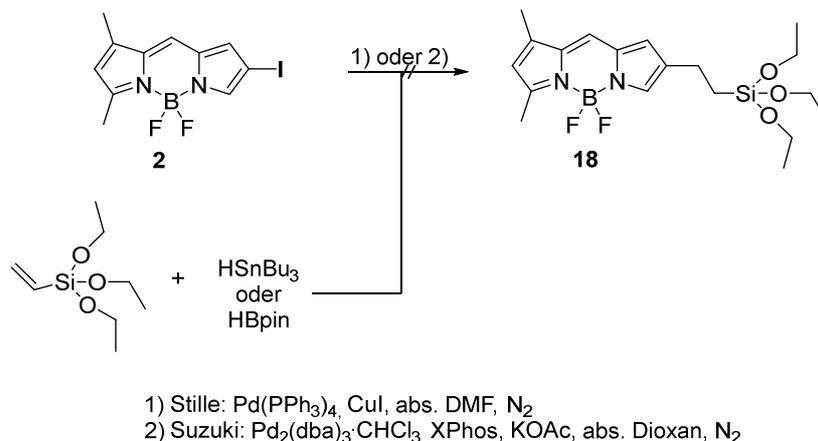


Abbildung 76: Darstellung der Immobilisierungsstrategie.

In Bezug auf zukünftige Messungen z.B. auf Einzelmolekülniveau sind für das Design des Farbstoffes noch weitere Aspekte wichtig. Der Chromophor soll keine weiteren reaktiven Mehrfachbindungen (außer dem Bodipy-Gerüst mit  $\alpha$ -Substituenten) besitzen, was die Reaktionsverfolgung der Epoxidierung der Doppelbindung des eingeführten  $\alpha$ -Substituenten auf Einzelmolekülniveau ermöglicht.<sup>[15]</sup> Eine weitere Anforderung besteht in der Synthese eines unsymmetrischen Bodipys, analog zu der Synthese der Saccharid-Sonde. Damit sollen möglicherweise vorhandene sterische Wechselwirkungen der Methylgruppen in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -

Position mit der (Glas)-Oberfläche im Vorhinein schon ausgeschlossen werden. Aus diesen Gründen wird ein synthetisches Konzept entwickelt, wie es in Schema 31 dargestellt ist.



Schema 31: Synthetisches Konzept eines immobilisierbaren Bodipys, verwirklicht über dessen  $\beta$ -Position.

Durch den  $\beta$ -iodierten Bodipy **2** (Kapitel 3.1.1) soll mittels Kreuzkupplungsreaktionen eine Silaneinheit in  $\beta$ -Position eingeführt werden. Das Silan-Reagenz wird dabei *in situ* entweder mittels Borpinakol oder Tributylzinnhydrid hergestellt und anschließend unter Suzuki- oder Stille-Bedingungen unmittelbar weiter mit dem Bodipy umgesetzt.

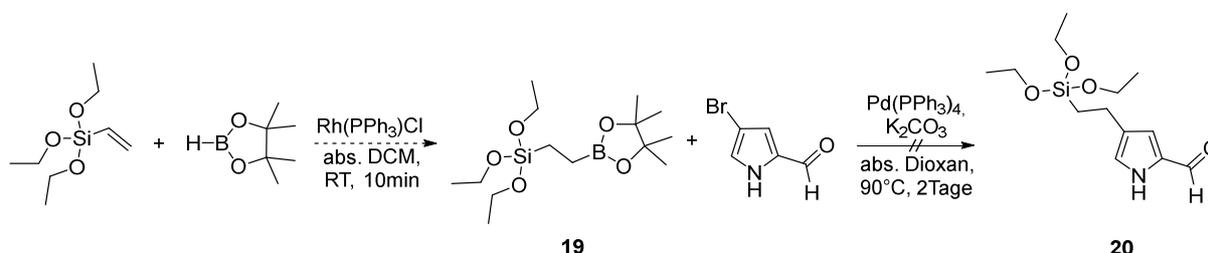
### 3.2.2.1. Synthese eines immobilisierbaren Bodipys

Die weitere Umsetzung von Bodipy **2** erfolgt mit *in situ* generierten Kreuzkupplungsreaktionen, entweder als Suzuki- oder Stille-Kupplung (Tabelle 12).

Tabelle 12: Experimentelle Bedingungen für die Silan-Bodipy-Synthese über *in situ* generierte Kreuzkupplungsreagenzien ausgehend von  $\beta$ -Iod-Bodipy **2**.

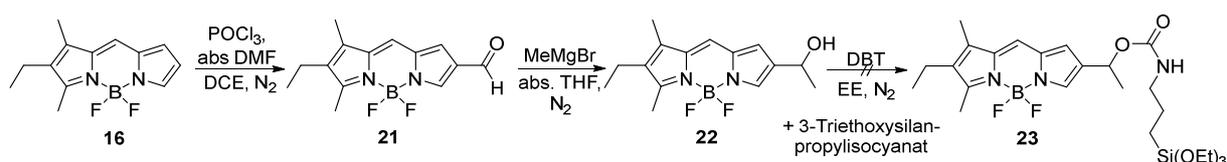
Silan	Reagenz	Katalysator/Zusätze	Lösemittel	Bedingungen
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HSnBu <sub>3</sub>	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> , PBF <sub>4</sub> Cy <sub>3</sub> , DIPEA	abs. DCM	RT, 2h <sup>[296]</sup>
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HSnBu <sub>3</sub>	AIBN	-	60°C, 24h <sup>[316]</sup>
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HSnBu <sub>3</sub>	AIBN	Toluol	70°C, 24h <sup>[317]</sup>
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HBpin	Rh(PPh <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Cl	abs.DCM	RT, 10min <sup>[318]</sup>
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HBpin	LiAlH <sub>4</sub>	-	110°C, 3h <sup>[319]</sup>
Vinyl-Si(OEt) <sub>3</sub>	HBpin	[Ru-(p-cymene)Cl <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	-	RT, 24h <sup>[320]</sup>

Keine der in Tabelle 12 aufgeführten *in situ* Generierungen des Silan-Reagenzes mit anschließender Bodipy-Substitution führt zu dem gewünschten silanisierten Bodipy **18**. Eine Synthese von **18** auf diesem Wege ist nicht erfolgreich. Allerdings führt auch eine Präfunktionalisierung von Brompyrrolcarbaldehyd zu silanisierten Pyrrolcarbaldehyd **20** mit dem *in situ* generierten borylierten Silan **19** zu keiner Umsetzung (Schema 32).<sup>[318,321]</sup>



Schema 32: Syntheseversuch eines silanisierten Pyrrolcarbaldehyds **20** über eine Präfunktionalisierung von Brompyrrolcarbaldehyd mit *in situ* boryliertem Silan **19**.

Auch die Umsetzung von Bodipy **7** in einer Suzuki-Reaktion mit Brompropyltriethoxysilan, unter gleichen Bedingungen wie bei Synthese **8** aus **7**, kann keine Produktbildung herbeiführen (Daten nicht gezeigt). Daher wird auf die weitere Syntheseroute mit *in situ* generierten Silanen verzichtet. Ein Grund für die fehlgeschlagenen Reaktionen könnte die Hydrolyseempfindlichkeit von Alkoxysilanen sein, die in Folge dessen zu Polymerisierungen neigen könnten. Daher wird in einer alternativen Syntheseroute darauf geachtet, die Alkoxysilan-Substitution erst im letzten Schritt der Synthese durchzuführen. Die neue alternative Syntheseroute ist in Schema 33 dargestellt.



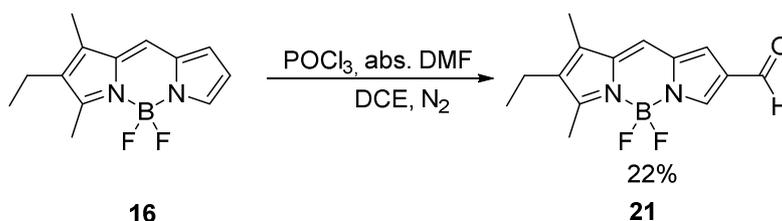
Schema 33: Alternative Syntheseroute des  $\beta$ -silanisierten Bodipys über einen  $\beta$ -Formyl-Bodipy.

Ausgehend von dem unsymmetrischen Bodipy **16** wird in einer Vilsmeier-Haak-Formylierung zunächst eine  $\beta$ -Formylierung vorgenommen. Im Anschluss kann Aldehyd **21** in einer Grignard-Reaktion zum Alkohol **22** reduziert werden. Die Einführung des Alkoxy-Silans zu Bodipy **23** erfolgt durch Reaktion mit Triethoxysilanpropylisocyanat.

---

## Synthese von Aldehyd-Bodipy 21

Formylierungen von Bodipys in  $\beta$ -Position können ohne vorherige Funktionalisierung des Bodipy-Gerüsts erfolgen.<sup>[322–324]</sup> Zur Vermeidung einer Formylierung in beiden  $\beta$ -Positionen, erfolgt die Synthese ausgehend von der literaturbekannten Verbindung **16**, die auch im vorherigen Kapitel bereits verwendet wurde. Die Synthese von Aldehyd **21** ist in Schema 34 dargestellt.



Schema 34: Synthese von Verbindung **21**.

Zunächst erfolgt die Synthese des Vilsmeier-Haack-Reagenzes aus absolutem Dimethylformamid und Phosphoroxychlorid bei 0°C. Anschließend erfolgt die Zugabe des in Dichlorethan gelösten Bodipy **16**.<sup>[325]</sup> Überschüssiges Reagenz wird nach Ende der Reaktion durch gekühlte Natriumhydrogencarbonat-Lösung vorsichtig unter Kühlung entfernt. Die Extraktion und säulenchromatographische Aufreinigung liefert den  $\beta$ -formylierten Bodipy **21** in 22% Ausbeute.

## Charakterisierung von Aldehyd-Bodipy 21

Die Charakterisierung erfolgt mittels NMR-Spektroskopie. Ein MS-Spektrum von Verbindung **21** kann leider nicht erfolgreich gemessen werden. Die fluoreszenzspektroskopische Untersuchung aller erfolgreich synthetisierten Bodipys aus Kapitel 3.2.2.1 erfolgt in Kapitel 3.2.2.2. Charakteristischstes Signal im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 77) ist das Singulett bei 9.84 ppm mit Integration eins, welches dem H-Atom der Carbonylfunktion in der  $\beta$ -Position zugeordnet werden kann. Die in der zweiten  $\beta$ -Position vorhandene Ethyl-Gruppe kann durch das Quartett bei 2.46 ppm und das Triplett bei 1.12 ppm mit einer Gesamtintegration von fünf erfolgreich charakterisiert werden. Ansonsten befinden sich noch drei H-Atome des Bodipy-Gerüsts bei 8.00 ppm (1x) und 7.21 ppm (2x), sowie die zwei Methylgruppen in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Position bei 2.24 ppm und 2.64 ppm als Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, mit jeweils einer Integration von drei. Im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum befinden sich alle zu erwartenden Signale, wobei das Signal bei 185.1 ppm hervorzuheben ist, welches zu den Verschiebungen von Carbonyl-C-Atomen passt und somit den Aldehyd-Substituenten repräsentiert (Abbildung 140 im Anhang). Das Signal im  $^{19}\text{F-NMR}$ -Spektrum für die  $\text{BF}_2$ -

Einheit bei -145.71 ppm macht die NMR-Charakterisierung von Verbindung **21** komplett (Abbildung 141).

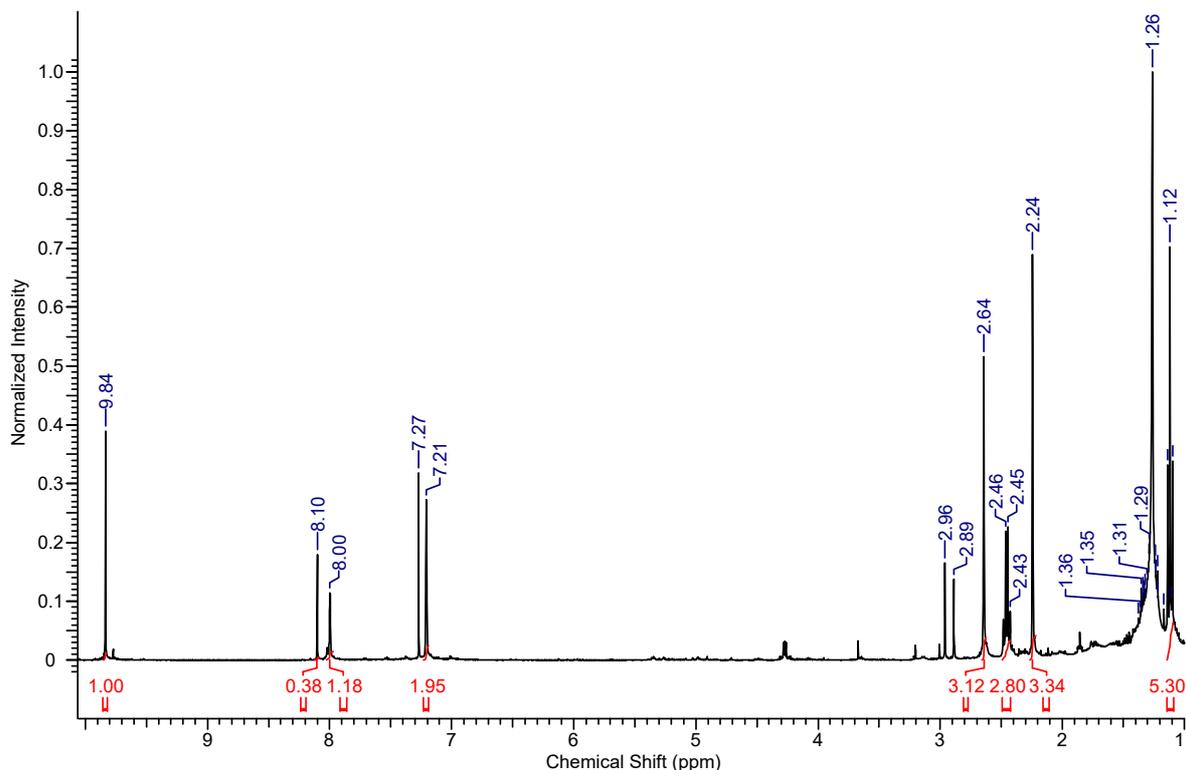
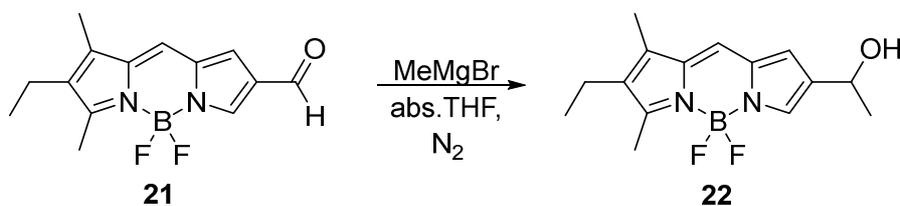


Abbildung 77:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **21** in  $\text{CDCl}_3$ .

## Synthese von Alkohol-Bodipy **22**

Nach erfolgreicher Synthese von Verbindung **21** erfolgt deren Reduzierung zum sekundären Alkohol über eine Grignard-Reaktion (Schema 35).<sup>[55]</sup>



Schema 35: Synthese von Verbindung **22**.

Aufgrund sehr kleiner Maßstäbe für die Synthese wird hier darauf verzichtet, das Grignard-Reagenz selbst herzustellen. Stattdessen wird eine kommerziell erhältliche Methylmagnesium-Bromid-Lösung (1 M in THF) verwendet. Das Grignard-Reagenz wird hierbei nur im geringen Überschuss eingesetzt, um literaturbekannte Substitutions-Reaktionen der Fluor-Atome der  $\text{BF}_2$ -Einheit zu vermeiden.<sup>[326]</sup> Aus demselben Grund wird auch darauf

---

verzichtet, nach der DC-Detektion trotz noch leicht vorhandenem Edukt die Reaktion weiterrühren zu lassen oder die Temperatur zu erhöhen. Eine Bestimmung der Ausbeute konnte nicht durchgeführt werden.

### **Charakterisierung von Alkohol-Bodipy 22**

Die Messung eines  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums ist wegen zu geringer Mengen hier leider nicht erfolgreich. Daher erfolgt die Charakterisierung mittels  $^1\text{H}$ - und  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren, sowie eines Massenspektrums und fluoreszenzspektroskopischer Analyse (Kapitel 3.2.2.2). Im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum ist ein doppelter Signalsatz bei  $\sim -146$  ppm vorhanden, was dafür spricht, dass zwei Bodipy-Derivate nebeneinander im Produkt vorliegen (Abbildung 143, Anhang). Vermutlich kann das Edukt nicht vollständig umgesetzt werden, wodurch die beiden Derivate **21** und **22** nicht vollständig durch die säulenchromatographische Aufreinigung getrennt werden können. Eine Substitution der F-Atome der  $\text{BF}_2$ -Einheit kann jedoch durch das  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum weitestgehend ausgeschlossen werden. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (Abbildung 78) setzt sich diese Vermutung fort, da die Integrationen, insbesondere im Bereich von 1-2 ppm, höher liegen als erwartet und bei höheren Verschiebungen ( $> 6.5$  ppm) ebenfalls leichte Verunreinigungen zu beobachten sind. Dennoch kann das breite Singulett bei 1.59 ppm mit Integration eins der Hydroxyl-Gruppe und das Dublett bei 1.53 ppm mit Integration drei der Methylgruppe, benachbart zum sekundären Alkohol, zugeordnet werden. Ansonsten stimmen die restlichen Signale mit nur geringen Verschiebungen mit den Signalen aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Eduktes **21** überein, sodass die Intaktheit des Bodipy-Gerüsts gewährleistet ist. Ein weiteres Indiz für die erfolgreiche Reduzierung vom Aldehyd zum Alkohol stellt das nicht mehr vorhandene CHO-Singulett bei 9.84 ppm dar (vergleiche das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Bodipy **21**, Abbildung 138 im Anhang).

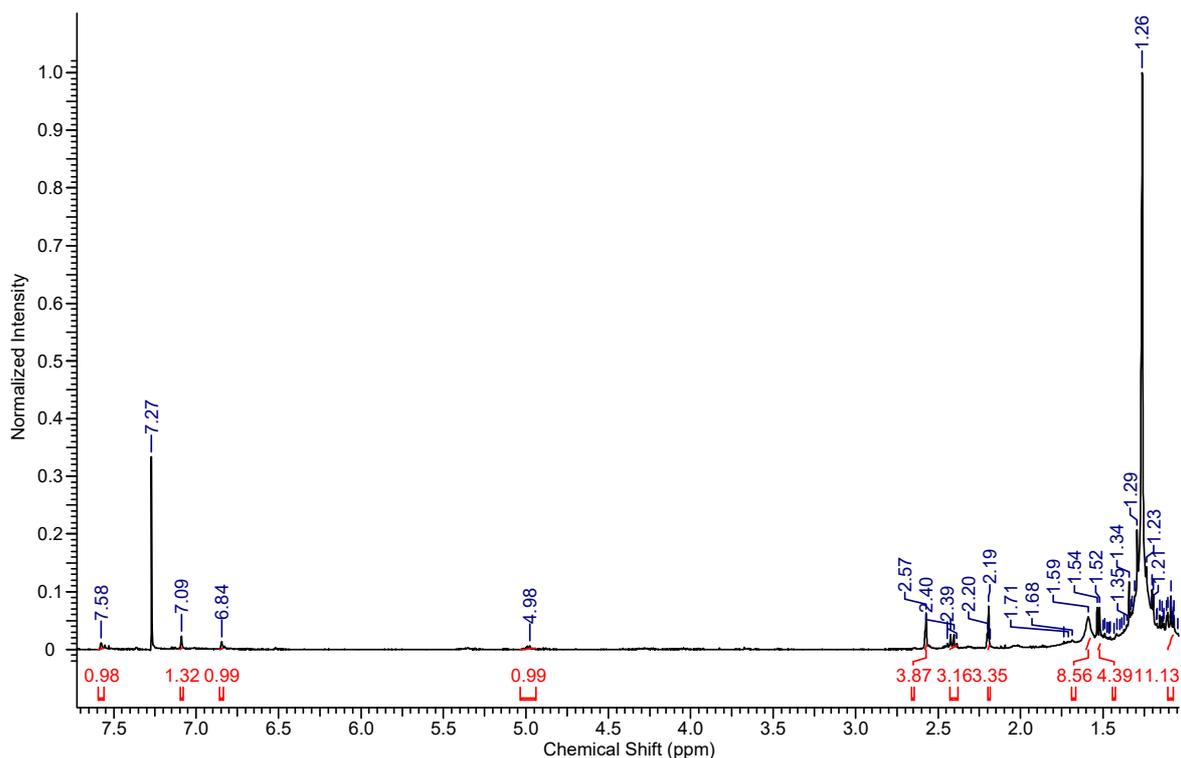


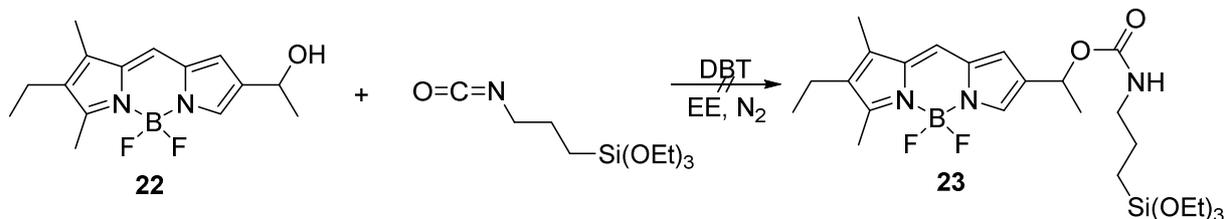
Abbildung 78:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **22** in  $\text{CDCl}_3$ .

Aufgrund der nicht 100% Reinheit der NMR-Spektren wird ebenfalls ein MS-Spektrum der Verbindung gemessen, wobei das  $[\text{M-H}]^-$  Ion der Verbindung **22** ( $m/z = 291.15$ ) erfolgreich detektiert werden kann (Abbildung 165, Anhang).

Wenn hier auch nicht von einer reinen Verbindung ausgegangen werden kann, sondern vermutlich einem Gemisch aus den Verbindungen **21** und **22**, wird mit dem in Schema 36 dargestellten Syntheseweg fortgefahren, da eine Wechselwirkung zwischen Aldehyd und Silan im nächsten Schritt nicht zu erwarten ist.

### Synthese von Bodipy **23**

Nach erfolgreicher Synthese der hydroxylierten Verbindung **22**, kann die Umsetzung zum  $\beta$ -silanisierten Bodipy **23** durchgeführt werden (Schema 36).

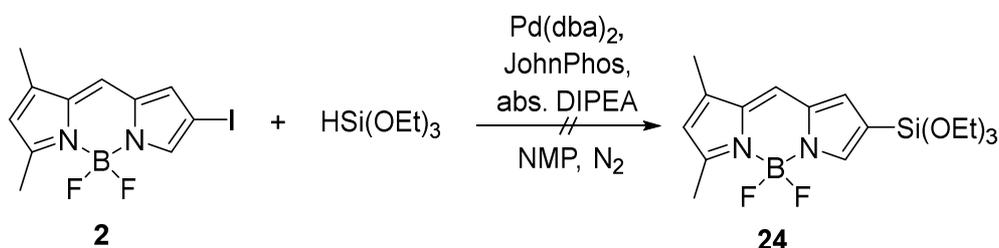


Schema 36: Synthese von Verbindung **23**.

Angelehnt an die Reaktionsbedingungen von Kato *et al.* zur Herstellung von Bodipy-basierten Silicananopartikeln wird, unter Zugabe von Dibutylzinndilaurat, Bodipy **22** mit 3-Triethoxysilanpropylisocyanat umgesetzt.<sup>[115]</sup> Nach mehreren Tagen unter Erhitzen auf 75°C kann jedoch keine Fluoreszenz der Reaktionslösung mehr festgestellt werden. Die Silanisierung von Alkohol **22** zum gewünschten Produkt **23** kann leider nicht erfolgreich durchgeführt werden. Einerseits weil Bodipy **22** offensichtlich unter den verwendeten Reaktionsbedingungen nicht stabil ist. Und andererseits kann eine Hydrolyse und damit eine Polymerisierung des Silans nicht ausgeschlossen werden. Ein alternativer Syntheseweg ist notwendig.

### Synthese von Silan-Bodipy **24**

Zur Verkürzung des Syntheseweges wird nochmals eine Alternativroute entwickelt, die eine direkte Funktionalisierung des Bodipy-Gerüsts mit einem Silan beinhaltet (Schema 37).



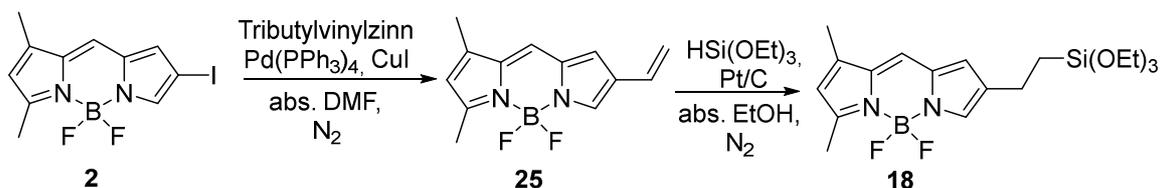
Schema 37: Direkt-Synthese von  $\beta$ -silanisiertem Bodipy **24**.

Aryliodide können mit Triethoxysilanen unter Anwesenheit von Palladium(0), JohnPhos und Diisopropylethylamin mit wasserfreien Bedingungen zu silanisierten Derivaten umgesetzt werden.<sup>[327]</sup> Eine Reaktionskontrolle mittels DC nach einem halben Tag ergibt noch vorhandenes Edukt, bei gleichzeitiger Bildung einer neuen fluoreszierenden Spezies. Zur weiteren Umsetzung wird zwei weitere Tage gerührt und anschließend durch Extraktion aufgearbeitet. Die erneute DC-Kontrolle zeigt weiterhin die neu entstandene Verbindung, allerdings auch noch geringe Mengen des Eduktes. Jedoch stellt sich die vermeintlich neue Spezies auf der DC nur als Dimethyl-Bodipy **14** heraus. Somit wird bei der Reaktion Bodipy **2** nicht zu Verbindung **24** silyliert, sondern zum Dimethyl-Bodipy **14** hydriert.

### Synthese von Vinyl-Bodipy **25**

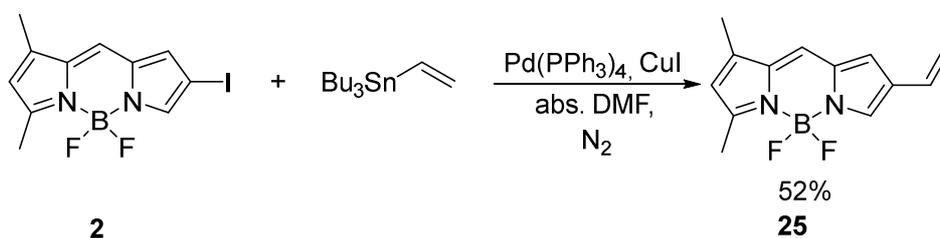
Aufgrund der Tatsache, dass es bei der Silylierung des  $\beta$ -iodierten Bodipy **2** zu einer partiellen Halogen-Substitution durch Wasserstoff kommt, wird ein zusätzlicher Syntheseschritt eingeführt. Dabei wird aus dem  $\beta$ -iodierten Bodipy **2** zunächst der vinylierte

Bodipy **25** gebildet und im Anschluss erst die Hydrosilylierung zu **18** durchgeführt (Schema 38).



Schema 38: Syntheseroute von Zielverbindung **18**.

Die Substitution des Iods durch eine Vinylgruppe wird, wie in Schema 39 gezeigt, über eine im Arbeitskreis bekannte Stille-Kupplung mit Tributylvinylzinn durchgeführt.<sup>[17]</sup>



Schema 39: Synthese von Verbindung **25**.

Unter Schutzgas wird der iodierter Bodipy **2** in absolutem Dimethylformamid gelöst und anschließend mit Tributylvinylzinn, Palladium(0) und Kupferiodid versetzt. Der in  $\beta$ -Position vinylierte Bodipy kann so mit einer Ausbeute von 52% als violetter Farbstoff erhalten werden. Es wird beobachtet, dass ein *Upscaling* für diese Reaktion nicht durchführbar ist, weil sich dann bei der säulenchromatographischen Aufreinigung das Produkt mit der Zeit auf der Säule zersetzt. Leider kann keine Untersuchung des Zersetzungsproduktes unternommen werden, da es nicht erfolgreich aus dem Kieselgel isoliert werden kann. Es wird lediglich festgestellt, dass es nicht mehr fluoreszierend ist. Vorstellbar wäre eine Dimerenbildung in Folge von Reaktionen mit saurem Kieselgel. Eine Änderung der Reaktionsbedingungen (abs. Toluol statt abs. DMF, erhitzen auf 95°C statt RT, ohne Zusatz von Kupferiodid und Verkürzung der Reaktionszeit von 20 h auf 6 h) kann dieses Problem nicht lösen und auch keine Ausbeuten-Steigerung bewirken.<sup>[328]</sup> Es ist empfehlenswert den Ansatz nicht größer als 0.3 mmol von Edukt **2** zu wählen, um solche ungewünschten Nebeneffekte bei der Aufreinigung zu vermeiden.

### Charakterisierung von Vinyl-Bodipy **25**

Die Charakterisierung von Vinyl-Bodipy **25** erfolgt mittels NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie sowie fluoreszenzspektroskopisch (Kapitel 3.2.2.2). Die charakteristischsten

Signale für die erfolgreiche Synthese von diesem Bodipy im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 79) sind das Singulett mit Integration eins bei 6.17 ppm, welches dem H-Atom zwischen den beiden Methylgruppen am Bodipygerüst zugeordnet werden kann. Damit ist eine Funktionalisierung in dieser Position ausgeschlossen. Außerdem können die drei Signale mit jeweils Integration eins der Vinylgruppe identifiziert werden, die von dem Dublett vom Dublett bei 6.56 ppm und den beiden Dublett von Dubletts bei 5.54 ppm ( $\text{H}_{\text{trans}}$ ) und 5.13 ppm ( $\text{H}_{\text{cis}}$ ) verursacht werden. Im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum sind alle zu erwartenden Signale zu finden (Abbildung 145 im Anhang). Des Weiteren zeigt das  $^{19}\text{F-NMR}$ -Spektrum ein Quartett bei -146.5 ppm, wodurch die  $\text{BF}_2$ -Einheit nachgewiesen ist (Abbildung 146 im Anhang).

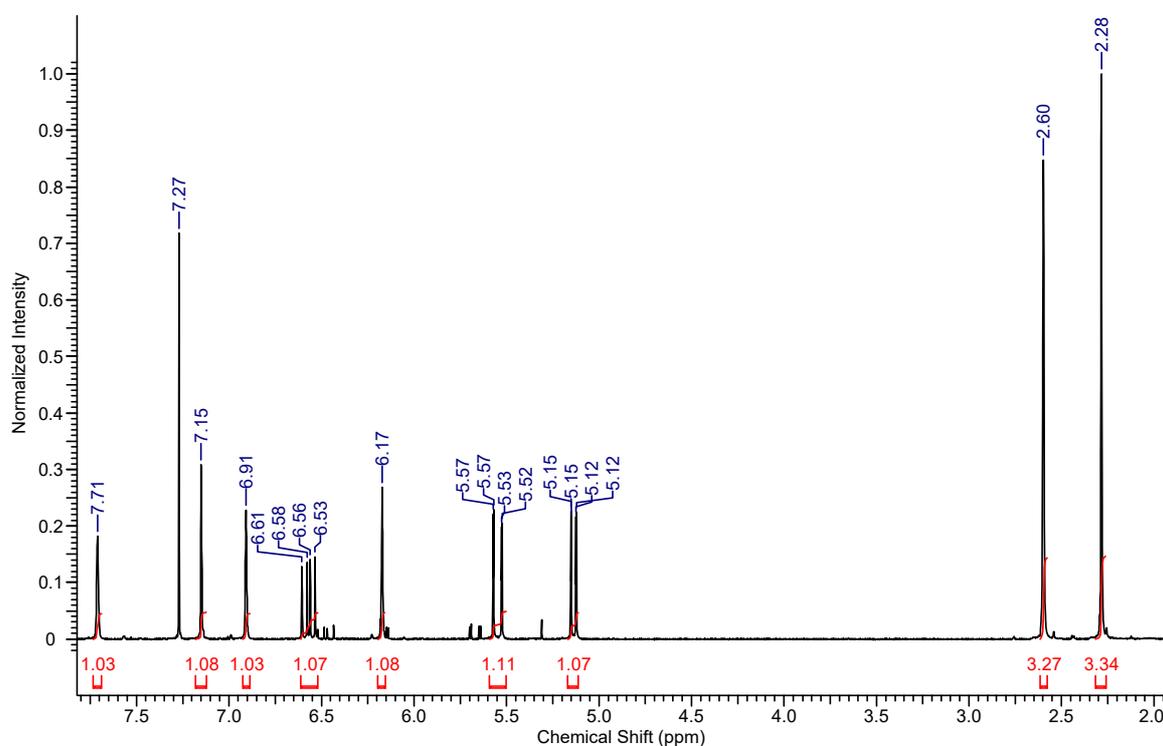


Abbildung 79:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **25** in  $\text{CDCl}_3$ .

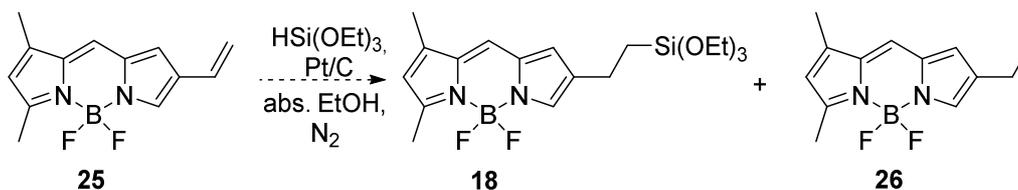
Das Massenspektrum in Abbildung 166 im Anhang zeigt den Massenpeak bei  $m/z = 245.11$ , welches dem  $[\text{M-H}]^-$  Ion entspricht.

### Synthese von Triethoxysilan-Bodipy **18**

Die Umsetzung des  $\beta$ -vinylierten Bodipy **25** zum immobilisierbaren Bodipy **18** erfolgt mittels Platin auf Kohle-Katalysator, unter Verwendung von Triethoxysilan als Silanisierungsreagenz (Schema 40). Wichtig zu erwähnen sei hier, dass die Umsetzung von Bodipy **25** mit

---

Triethoxysilan und anderen Katalysatoren, wie zum Beispiel Karstedt<sup>[329]</sup> oder Hexachloroplatinsäure,<sup>[330]</sup> zu keiner Umsetzung führen.



Schema 40: Synthese von Zielverbindung **18** und Hydrierungs-Nebenprodukt **26**.

Vor der Umsetzung werden alle verwendeten Glasgeräte mit einer Trimethylsilylchlorid-Chloroform Lösung behandelt und im Trockenschrank für mehrere Stunden getrocknet. Dies dient zur Deaktivierung der Glasoberfläche, sodass das Triethoxysilan nicht an den dieser gebunden wird. Anschließend wird, angelehnt an eine Patentvorschrift, der Bodipy in absolutem Alkohol gelöst, mit Platin-Katalysator und Silan versetzt und erhitzt.<sup>[331]</sup> Anstelle von Methanol wie im Patent beschrieben, wird allerdings Ethanol verwendet, mit der Erwartung, dass die Ethoxy-Gruppen am Silan nicht durch Methoxy-Gruppen substituiert werden. Während einer solchen Alkoxy-Substitution am Silan wäre die Gefahr einer möglichen Polymerisierung des Silans gegeben. Außerdem sind Ethoxy-Gruppen hydrolysestabiler als Methoxy-Gruppen, wodurch eine höhere Stabilität gegen Polymerisationen gegeben sein sollte.<sup>[332,333]</sup> Eine DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Eduktes sowie zwei neu entstandene Produkte. Der Katalysator wird über Watte abfiltriert und die Lösung bis zur Trockene eingeeengt. Ein Teil wird versucht über Säulenchromatographie aufzureinigen und der andere Teil wird zur Charakterisierung über Massenspektrometrie in Roh-Form verwendet. Durch die säulenchromatographische Aufreinigung kann lediglich eine der beiden Fraktionen isoliert werden, die zweite Fraktion bleibt zu Beginn am Kieselgel der Säule haften und kann nicht mehr isoliert werden. Auch eine Kieselgel-Passivierung mit Hexamethyldisilazan-Zusatz zum Eluenten kann dies nicht ermöglichen.

### Charakterisierung von Bodipy 26

Zunächst wird die Fraktion charakterisiert, die mit säulenchromatographischer Aufreinigung isoliert werden kann. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum in Abbildung 80 zeigt ein Quartett mit Integration zwei bei 2.52 ppm und ein Triplett mit einer Integration von drei bei 1.22 ppm, was dafür spricht, dass es zu einer Hydrierung der Doppelbindung gekommen ist.

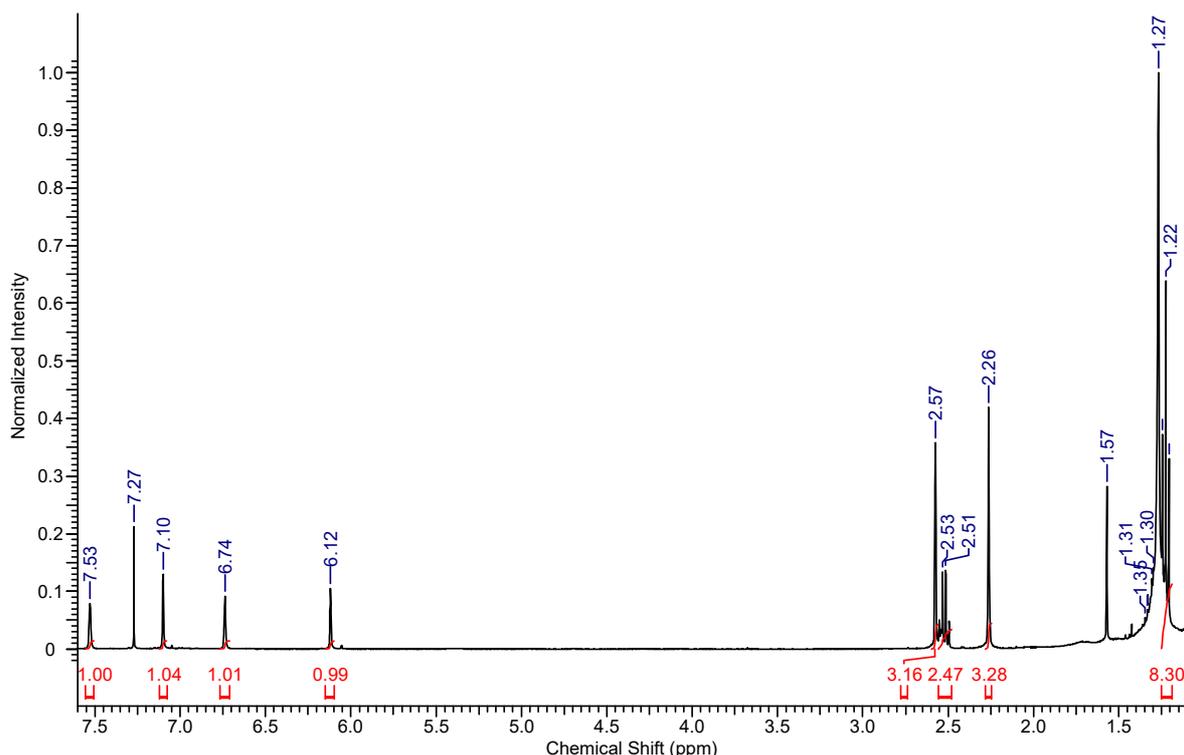


Abbildung 80:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **26** in  $\text{CDCl}_3$ .

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind die Signale bei 19.8 ppm und 14.6 ppm für eine solche Ethyl-Gruppe ebenfalls vorhanden (Abbildung 148 im Anhang). Die Aufrechterhaltung des Bodipy-Gerüsts kann neben der Fluoreszenz auch durch das Signal im  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum gezeigt werden (Abbildung 149 im Anhang). Als Nebenprodukt der Reaktion entsteht vermutlich Verbindung **26**. Auf eine fluoreszenzspektroskopische Charakterisierung wird daher verzichtet.

### Charakterisierung von Triethoxysilan-Bodipy **18**

Es wird vermutet, dass es sich bei der zweiten Fraktion, die nicht vom Kieselgel isolierbar ist, um die gewünschte Verbindung **18** handelt. Grund hierfür könnte sein, dass die Ethyl-Gruppen am Siloxan durch das saure Kieselgel abgespalten werden und die dann entstehenden freien Hydroxyl-Gruppen an den Hydroxyl-Gruppen des Kieselgels haften bleiben. Die Charakterisierung von Bodipy **18** über  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie kann aufgrund der fehlenden Aufreinigung nicht durchgeführt werden. Allerdings kann ein  $^{29}\text{Si}$ -NMR-Spektrum vom Rohprodukt gemessen werden. Ein Vergleich zwischen dem Silicium-NMR-Spektrum von dem verwendeten Reagenz Triethoxysilan (Abbildung 81a) mit dem Silicium-NMR-Spektrum der Reaktionslösung zeigt (Abbildung 81b), dass das Signal bei -58.31 ppm verschwindet, während neue Signale bei -85.91 ppm, -86.81 ppm und -93.84 ppm

entstehen. Das breite Hintergrundsignal wird vom Silica-Glas des NMR-Röhrchens verursacht.

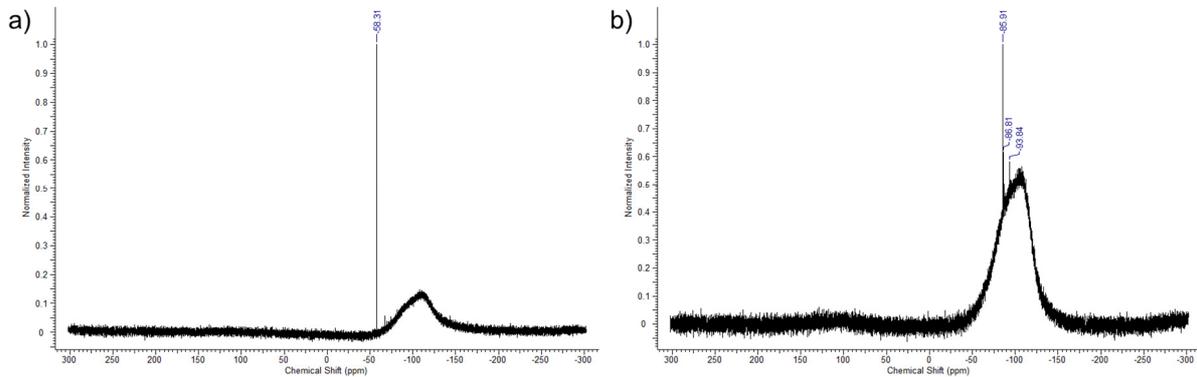


Abbildung 81:  $^{29}\text{Si}$ -NMR-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  von a) Triethoxysilan (Reagenz) und b) Reaktionsmischung.

Allerdings könnte es sich bei den neuen Signalen um polymerisierte Derivate handeln, wodurch nicht eindeutig belegt werden kann, dass es sich um das gewünschte Produkt **18** handelt. Aus diesem Grund wird zusätzlich ein Massenspektrum des Rohproduktes gemessen. Die Massenspektrometrie führt jedoch lediglich zu polymerisierten Derivaten (Abbildung 82).

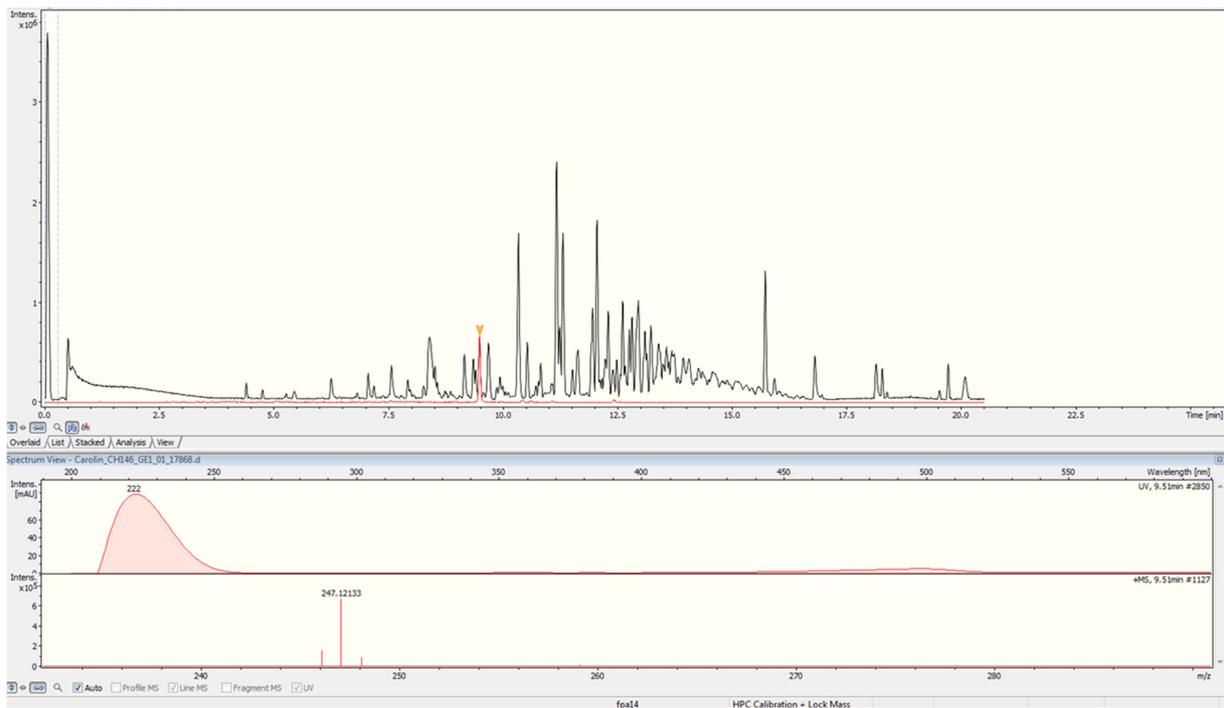


Abbildung 82: ESI-Massenspektrum des Rohproduktes des Ansatzes von Bodipy **18**.

Der Grund für die Polymerisation während der Massenspektrometrie-Messung könnte sein, dass im ESI Modus gemessen wird, weil Flüssigchromatographie-MS (*Liquid*

---

*chromatography* = LC) das Silan vermutlich zerstören würde. Im ESI-Modus wird jedoch ebenfalls sauer gemessen, wodurch es wiederum zur oben beschriebenen Entschützung kommen kann und infolgedessen zu Polymerisationen. Solche Polymerisationen können auch beobachtet werden, wenn die Reaktion nach Abfiltrieren des Katalysators an Luft einige Stunden steht, wie die Bilder in Abbildung 83 zeigen. Es entsteht eine gelartige, fluoreszierende Substanz, die unlöslich in den gängigsten Labor-Lösungsmitteln ist, wie z.B. Dichlormethan, Aceton, Wasser, DMSO, DMF und Hexan.

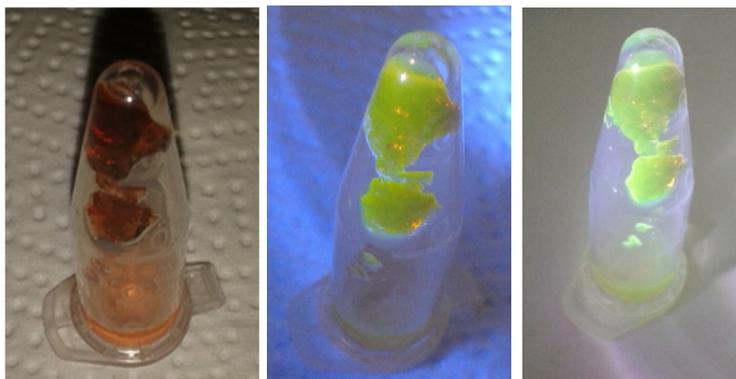


Abbildung 83: Ansatz von Verbindung **18** nach einem Tag an Luft.

### 3.2.2.2. Elektronische Eigenschaften von **21**, **22** und **25**

Zur fluoreszenzspektroskopischen Charakterisierung von CHO-Bodipy **21** wird die Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{\text{Fl}} = 2.9 \pm 0.1 \text{ ns}$  (Abbildung 84b) und die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{\text{Fl}} = 34 \pm 5\%$  in Dichlormethan bestimmt. Die Aufnahme der elektronischen Spektren erfolgt ebenfalls in Dichlormethan und ist in Abbildung 84a dargestellt. Das Absorptionsmaximum liegt bei  $\lambda_{\text{Abs}} = 472 \text{ nm}$ , das Anregungsmaximum bei  $\lambda_{\text{Anr}} = 495 \text{ nm}$  und das Emissionsmaximum bei  $\lambda_{\text{Em}} = 518 \text{ nm}$ . Die Abweichung von Absorptions- und Anregungsspektrum könnte dafürsprechen, dass sich im Produkt noch eine nicht-fluoreszierende Verunreinigung befindet. Kleine Verunreinigungen in den NMRs können diesen Verdacht bestätigen. Eine Entfernung der möglichen Verunreinigung oder Charakterisierung derselben ist allerdings nicht erfolgreich

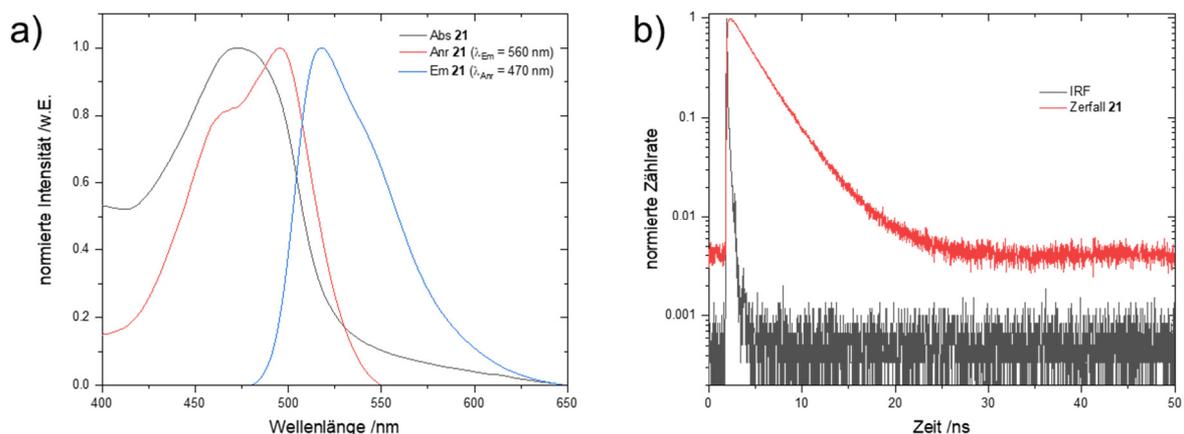


Abbildung 84: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **21** in DCM.

Die Charakterisierung der spektroskopischen Eigenschaften von Hydroxyl-Bodipy **22** zeigt, dass sowohl bei der Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{FI}$  als auch bei der Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{FI}$  (Abbildung 85b) eine Steigerung um 13% bzw. 1.3 ns, im Vergleich zum Edukt **21**, festgestellt werden kann ( $\Phi_{FI}$  (**22**) =  $47 \pm 5\%$  und  $\tau_{FI}$  (**22**) =  $4.2 \pm 0.1$  ns). Demnach bewirkt die Reduktion von Aldehyd zum Alkohol eine Verbesserung der Fluoreszenzquantenausbeute und -lebenszeit. Auch für die elektronischen Spektren von Verbindung **22** kann eine Änderung durch Reduktion der Carbonyl-Funktion festgestellt werden. Im Vergleich zu Verbindung **21** ist eine leichte bathochrome Verschiebung der Spektren festzustellen ( $\lambda_{Abs} = 507$  nm,  $\lambda_{Anr} = 513$  nm,  $\lambda_{Em} = 528$  nm), allerdings bleibt die Abweichung zwischen Absorptions- und Anregungsspektren nahezu identisch (Abbildung 85a). Aufgrund der veränderten mesomeren und induktiven Effekte vom Aldehyd (-M und -I) zum Alkohol (+M und -I), entspricht die beobachtete bathochrome Verschiebung den Erwartungen, wie dies bereits in Kapitel 2.1.3 dargelegt wurde.

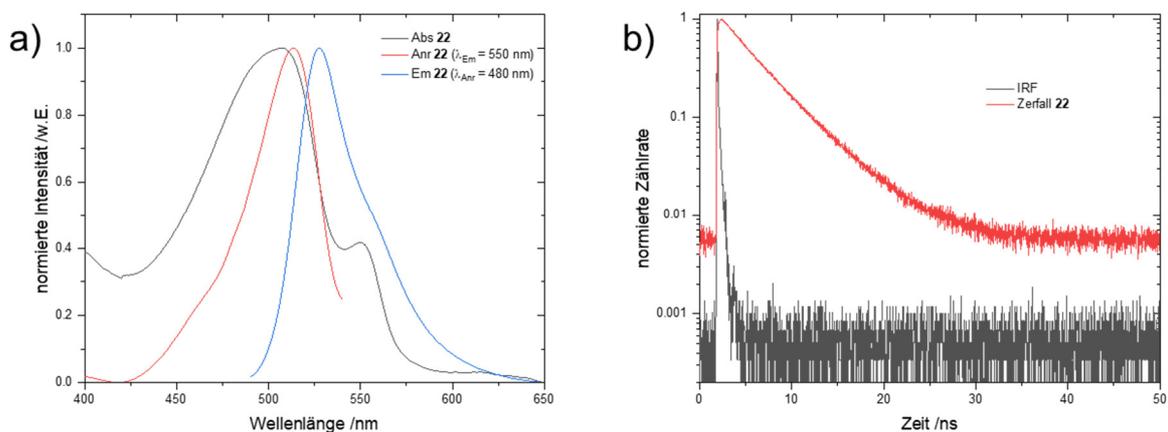


Abbildung 85: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **22** in DCM.

Elektronische Spektren von  $\beta$ -Vinyl Bodipy **25** in Dichlormethan werden in Abbildung 86a) gezeigt. Die Vinylgruppe verursacht dabei durch Erweiterung des chromophoren Systems eine leichte bathochrome Verschiebung der Spektren zu  $\lambda_{\text{Abs}} = 509$  nm,  $\lambda_{\text{Anr}} = 515$  nm und  $\lambda_{\text{Em}} = 534$  nm. Bodipy **25** zeigt eine Fluoreszenzlebenszeit von  $\tau_{\text{Fl}} = 4.8 \pm 0.1$  ns (Abbildung 86b). Entsprechend dem  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3** liegen auch die Fluoreszenzquantenausbeuten von  $\beta$ -Vinyl-Bodipy in Dichlormethan bei  $\Phi_{\text{Fl}} \leq 5\%$ . Das spricht weiterhin für die Vermutung, dass die konjugierten Doppelbindungen in  $\beta$ -Position zu einer drastischen Reduzierung der Fluoreszenzquantenausbeute führen.

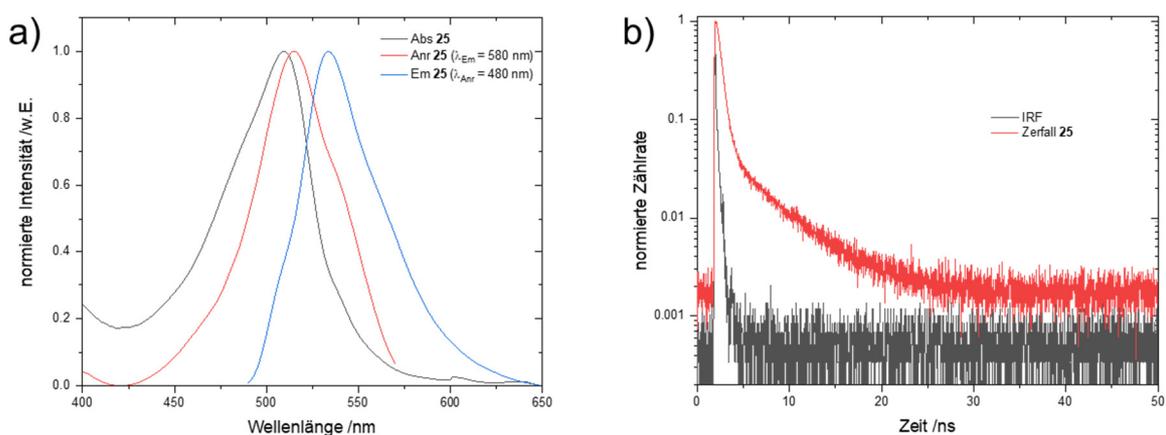


Abbildung 86: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **25** in DCM.

### 3.2.2.3. Immobilisierung auf Glasoberflächen

Obwohl eine Aufreinigung des Rohproduktes offensichtlich nicht erfolgreich ist, besteht die Möglichkeit den Triethoxysilan-Bodipy **18** aus der Rohlösung auf Deckgläsern zu immobilisieren. Hierzu wird die Rohlösung auf säureaktivierten Deckgläsern aufgebracht, mehrere Male mit Wasser und DCM gewaschen, um nicht gebundene Verbindungen, wie Bodipy **26** von der Glasoberfläche zu entfernen. Die erhaltene Glasoberfläche wird anschließend mittels TIRF-Mikroskop untersucht. Es werden TIRF-Aufnahmen (Abbildung 87) von reinen Deckgläsern gemacht, die als Blindprobe dienen (Reihe a), Deckgläser, die vorher mit Edukt **25** behandelt werden (Reihe b) und Deckgläser, die mit Rohprodukt von **18** behandelt werden (Reihe c). Ein Vergleich der TIRF-Aufnahmen zeigt, dass weder die Blindprobe noch die Deckgläser mit Edukt Signale auf dem Deckglas zeigen. Die Glasoberfläche, die mit Rohlösung behandelt wurde, zeigt hingegen Fluoreszenz-Signale. Das spricht dafür, dass die Immobilisierung erfolgreich aus der Rohlösung erfolgen kann.

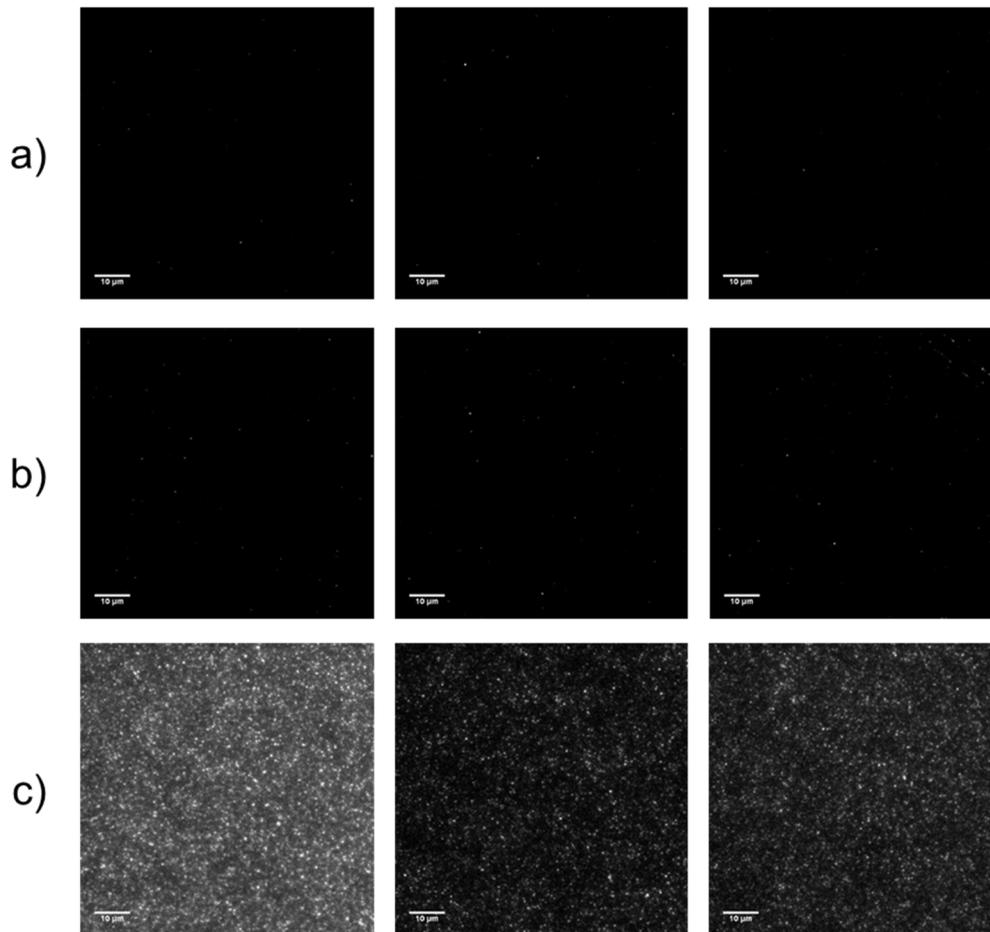


Abbildung 87: TIRF Aufnahmen mit je drei Deckgläsern von a) Blindprobe, b) Edukt und c) Produktmischung (gemessen von Matthias Jourdain [EMCCD (0.5 s, 11.4 mW,  $\lambda_{Anr} = 488 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{Det} = 500 - 550 \text{ nm}$ )]).

Ein weiteres Indiz, dass die Immobilisierung auf der Glasoberfläche funktioniert hat und damit ein Indiz für die erfolgreiche Synthese von Triethoxysilan-Bodipy **18**, sind die Einzelmolekülsuren in Abbildung 88, die aus den TIRF-Aufnahmen erhalten werden. Diese Spuren zeigen die Fluoreszenzlöschung einzelner Moleküle durch den stufenförmigen Abfall des Kurvenverlaufs.

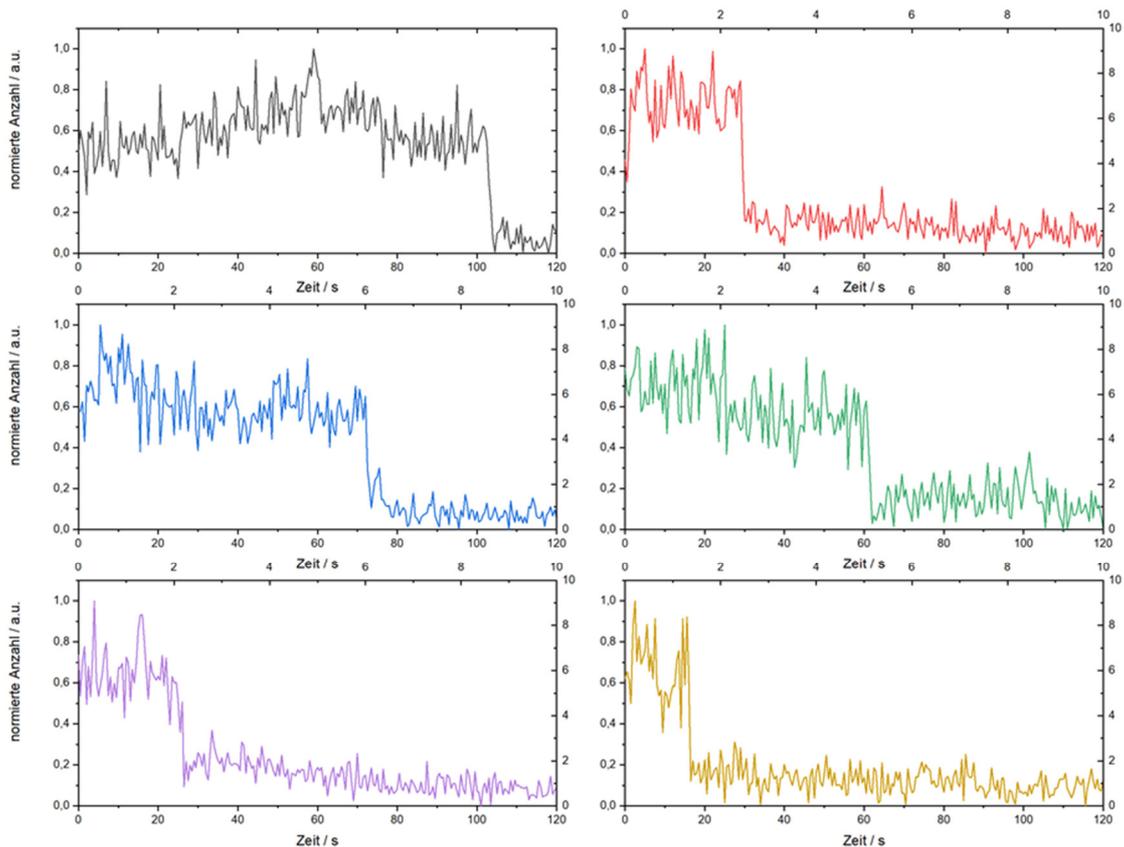


Abbildung 88: Aus den TIRF-Aufnahmen erhaltene Einzelmolekülsuren.

Zusätzlich zur Immobilisierung auf ein Deckglas wird der auf Glaskugeln aufgebracht Farbstoff untersucht, in dem die Rohlösung von Bodipy **18** über Nacht mit Glaskugeln in DMF gerührt wird. Die Glaskugeln werden am nächsten Tag mit Wasser und DCM gewaschen und getrocknet. Als Vergleich wird das gleiche Verfahren mit Edukt **25** durchgeführt. Anschließend werden die erhaltenen Glaskugeln von Edukt **25** sowie der Rohlösung unter einem konfokalen Fluoreszenz-Mikroskop in Glycerin beobachtet (Abbildung 89). Bei der Aufnahme der mit Edukt behandelten Glaskugeln ist nahezu kein Kontrast vorhanden, solange die Helligkeit gering eingestellt ist. Wird diese erhöht, fluoresziert der Hintergrund stärker als die Glaskugeln, welche nahezu keine Fluoreszenz aufweisen. Dieser Hintergrund ist bei den mit der Rohlösung behandelten Glaskugeln deutlich weniger vorhanden, und es kann eine fluoreszierende Glaskugeloberfläche beobachtet werden. Der Vergleich von Edukt und Produkt zeigt, dass auf den Glaskugeln, die mit der Rohlösung behandelt werden, deutlich Farbstoff auf der Oberfläche gebunden ist.

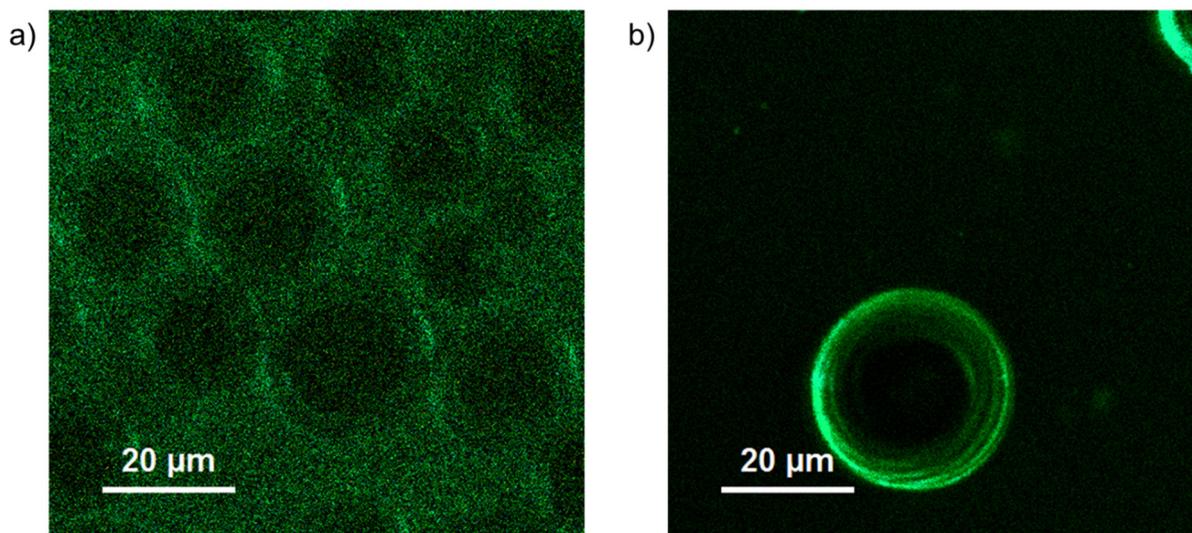


Abbildung 89: Konfokale Mikroskop-Aufnahmen ( $\lambda_{Anr} = 470 \text{ nm}$ ,  $1 \mu\text{W}$ , gemessen in Zusammenarbeit mit Alexander Grandjean) der behandelten Glaskugeln in Glycerin mit a) **25** und b) **18**.

Eine vollständige Charakterisierung über NMR-Spektroskopie oder MS-Spektrometrie von Verbindung **18** ist bisher noch nicht erfolgreich. Jedoch kann mit der Analyse der markierten Glaskugeln und -oberflächen mittels totaler interner Reflektionsfluoreszenz-Mikroskopiemessungen (TIRF) und Fluoreszenzlebensdauer-Mikroskopiemessungen (FLIM) gezeigt werden, dass die Silanisierung von Edukt **25** zu **18** vermutlich stattgefunden hat.

Aufgrund der Schrägbeziehung von Silicium und Bor im Periodensystem, wird vermutet, dass auch Verbindung **8** (grünfluoreszierender  $\beta$ -Boronsäure Bodipy = gBBB) zur Immobilisierung auf Gläsern verwendet werden kann. Ein Vergleich der beiden Elemente zeigt einige Gemeinsamkeiten. Beide Elemente haben eine hohe Affinität zu Sauerstoff und kommen daher in der Natur nur als sauerstoffhaltige Verbindungen vor, wie beispielsweise Kieselsäure, Silicate, Borsäure, Borate und Borosilicate verdeutlichen.<sup>[334]</sup> Die Borosilicate zeigen außerdem, dass Verbindungen existieren, die sowohl Bor als auch Silicium beinhalten. Dies ist bei einer Glasimmobilisierung von Vorteil, da Glas aus  $\text{SiO}_2$  besteht. Der Vergleich der beiden Elemente zeigt auch, dass nach Pauling beide eine ähnliche Elektronegativität aufweisen: Silicium liegt bei 2.0, Bor hat mit 1.8 nur 0.2 weniger.<sup>[335]</sup> Ein weiteres gemeinsames Merkmal besteht in dem schwach sauren Charakter der Hydroxy-Verbindungen der beiden (Bor- und Kieselsäure) und deren ausgeprägter Tendenz zu kondensieren.<sup>[334]</sup> Diese Gemeinsamkeiten führen zu der Annahme, dass eine Immobilisierung auch über eine Bor-Einheit möglich sein könnte. Diese Annahme wird mit TIRF- und konfokalen Mikroskop-Aufnahmen überprüft (Abbildung 90).

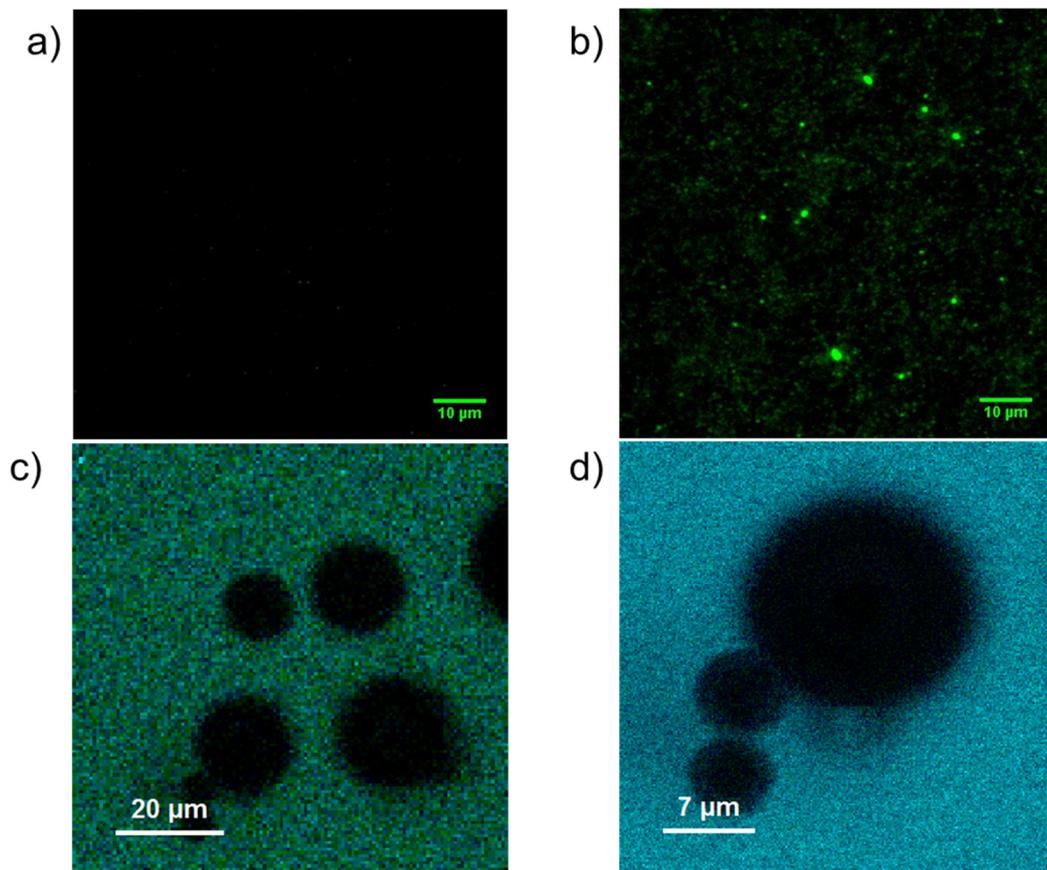


Abbildung 90: a) TIRF von Verbindung **7** (als Kontrollexperiment), b) TIRF von Verbindung **8** [von Matthias Jourdain, EMCCD (0.5 s, 11.4 mW,  $\lambda_{Anr} = 488 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{Det} = 500 - 550 \text{ nm}$ ), c) und d) konfokale Mikroskop Aufnahmen ( $\lambda_{Anr} = 470 \text{ nm}$ , 1  $\mu\text{W}$ , gemessen in Zusammenarbeit mit Alexander Grandjean) von Verbindung **8**.

Die Bilder zeigen, dass auf der Oberfläche der Glasobjektträger der TIRF-Aufnahmen eine sehr hohe Beladungsdichte von Fluoreszenzfarbstoff **8** (Abbildung 90b) vorhanden ist. Im Gegensatz dazu kann bei den mit Bodipy **8** behandelten Glaskugeln keine Oberflächen-Fluoreszenz festgestellt werden (Abbildung 90d). Eine Vermutung ist, dass sich die Boronsäure-Bodipys nicht kovalent an die Glasoberfläche binden, sondern vermutlich lediglich adsorbieren (Kapitel 2.3.1). Das würde erklären, warum eine hohe Dichte auf den TIRF-Deckgläsern, aber keine Immobilisierung auf den Glaskugeln zu sehen ist. Eine Erklärung für diese Messergebnisse könnte das zum Aufschlännen der Kügelchen verwendete Glycerin sein. Bei Glycerin handelt es sich um einen mehrwertigen Alkohol, welcher in Konkurrenz zu den  $\text{Si}(\text{OH})_x$  Gruppen der Glasoberfläche stehen könnte. Ein solches Phänomen würde auch die hohe Hintergrundfluoreszenz in Abbildung 90c und d erklären.

---

Die erfolgreiche Synthese eines über die unsymmetrische  $\beta$ -Position immobilisierbaren Bodipys lässt sich durch die Ergebnisse der TIRF-Messungen und konfokale Mikroskop-Aufnahmen vermuten. Wünschenswert wäre hier noch eine NMR-spektroskopische Charakterisierung des Bodipys. Erste Experimente in dieser Richtung könnten sein, dass die Ethoxygruppen durch sterisch anspruchsvollere Reste ausgetauscht werden, die weniger hydrolyseempfindlich sind. Somit wäre eine säulenchromatographische Aufreinigung denkbar. In Frage käme z.B. der Einsatz von TMS-Nukleophilen unter Anwesenheit von Tetrabutylammoniumfluorid.<sup>[336]</sup>

Mit der Synthese eines immobilisierbaren Bodipys konnten die Weichen für einen weiteren multifunktionaler Bodipy auf  $\beta$ -funktionalisierter Bodipy-Basis gestellt werden. Durch Einführung einer konjugierten Doppelbindung in  $\alpha$ -Position (analog **8** zu **13**) könnten aufbauend auf arbeitskreisbekanntem Vorexperimenten<sup>[15]</sup>, Untersuchungen auf Einzelmolekülniveau durchgeführt werden.



---

### 3.3. BF<sub>2</sub>-Substitution

Neben der  $\beta$ -Position kann auch die BF<sub>2</sub>-Einheit der Bodipys verwendet werden, um multifunktionelle Farbstoffe herzustellen. Angestrebt wird hier ein trifunktionelles Kontrastmittel. Die fluoreszierenden Eigenschaften des Bodipys sollen mit einer Targeting-Funktion und radioaktiver Markierung kombiniert werden (Abbildung 91).

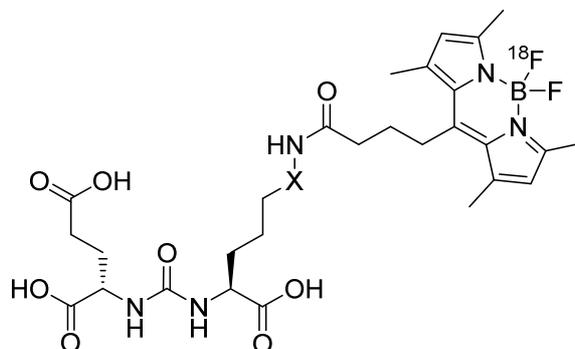
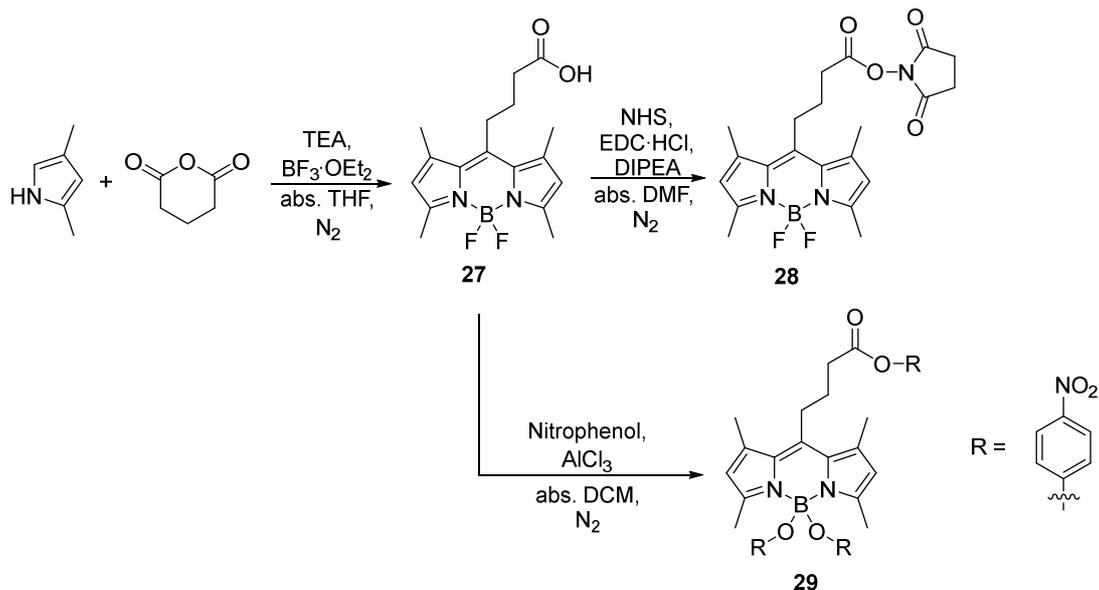


Abbildung 91: Zielstruktur des trifunktionalen Kontrastmittels (mit X = unterschiedliche Linker).

Ein solches fluoreszierendes Kontrastmittel kann mit der Targeting-Funktion gezielt an eine gewünschte Stelle im Körper gebracht werden. Gleichzeitig besteht durch die Kombination von Fluoreszenz und Radiomarkierung die Möglichkeit in dualen Messungen für <sup>18</sup>F-PET und Fluoreszenzmikroskopie Tumore zu visualisieren. So könnte es mit der Patientengabe eines solchen Kontrastmittels möglich sein, vor der Operation den Tumor mit <sup>18</sup>F-PET-Messungen zu lokalisieren und durch die Fluoreszenz während der Operation gezielt alles Tumorgewebe zu entfernen. Bodipys eignen sich hier besonders gut, weil sie in ihrer BF<sub>2</sub>-Einheit Fluor-Atome besitzen, die durch radioaktives <sup>18</sup>F-Fluorid ausgetauscht werden können (Kapitel 2.1.3.5). Als Targeting-Funktion dienen Liganden mit unterschiedlichen Linkern (X), die allerdings alle das PSMA (prostataspezifisches Membranantigen, auch bekannt als Glutamat Carboxypeptidase Typ II (GCPII)) Bindungsmotiv gemeinsam haben. Für dieses PSMA-Bindungsmotiv konnte in den letzten Jahren die Targeting-Funktion-Fähigkeit von Prostata-Tumorzellen gezeigt werden.<sup>[337–341]</sup> Die Synthese des meso-carboxylierten Bodipy **27**, sowie des NHS-Esters **28**, werden anhand literaturbekannter Synthesen entsprechend Schema 41 durchgeführt.<sup>[19,20]</sup> Die Fluoreszenz-Markierungen der PSMA-Liganden sowie deren Synthesen, als auch die <sup>18</sup>F-Markierungen der fluoreszenzmarkierten Moleküle, werden in Kooperation mit dem Institut für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums in Homburg durchgeführt und in dieser Dissertation nicht weiter beschrieben.



Schema 41: Syntheschema der Zielverbindungen **28** und **29**.

Außerdem soll, wie in Schema 41 gezeigt, eine  $\text{BF}_2$ -Substitution durch einen aromatischen Rest erfolgen. Dieser soll anschließend als gute Abgangsgruppe dienen. Aufgrund der nur gering verwendbaren Mengen an  $^{18}\text{F}$ -Fluorid bei den später durchgeführten  $^{18}\text{F}$ -Markierungen wird häufig nur ein  $^{19}\text{F}$ -Atom durch ein  $^{18}\text{F}$ -Atom ausgetauscht.<sup>[342,343]</sup> Somit handelt es sich immer noch um chemisch äquivalente Produkte, die sich nicht trennen lassen. Daher entstand die Idee, die  $^{19}\text{F}$ -Atome der  $\text{BF}_2$ -Einheit durch Aromaten-Substitution auszutauschen. So können im Anschluss bei der Substitution von einem aromatischen Rest durch ein  $^{18}\text{F}$ -Atom chemisch unterschiedliche Moleküle entstehen, welche sich zum Beispiel säulenchromatographisch aufreinigen lassen (Abbildung 92).

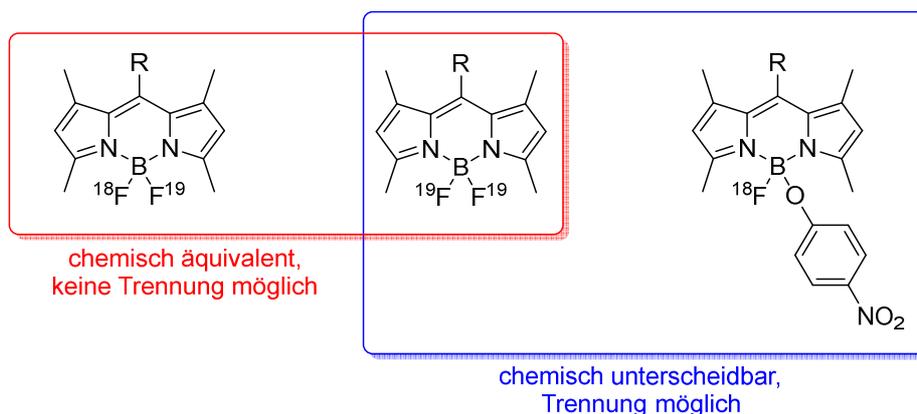


Abbildung 92: Mögliche Produkte bei durchgeführten  $^{18}\text{F}$ -Markierungen.

---

### 3.3.1. Synthese, Charakterisierung und elektronische Eigenschaften

#### Synthese und Charakterisierung von Carbonsäure-Bodipy **27** und NHS-Bodipy **28**

Die Synthesen von den Verbindungen **27** und **28** erfolgen nach literaturbekannten Bedingungen.<sup>[19,20,344]</sup> Es soll erwähnt werden, dass die Ausbeute von Verbindung **27** durch Variation der Reaktionsbedingungen und der Aufarbeitung von 21% auf 55% gesteigert werden kann (siehe Kapitel 5.2.16). Außerdem kann von Verbindung **28** eine bisher noch nicht bekannte Kristallstruktur erhalten werden (Abbildung 93 und Tabelle 26 im Anhang).

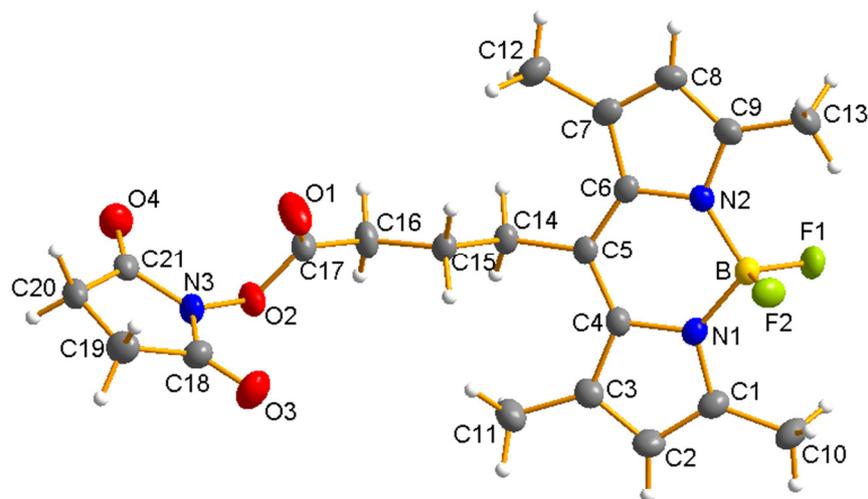
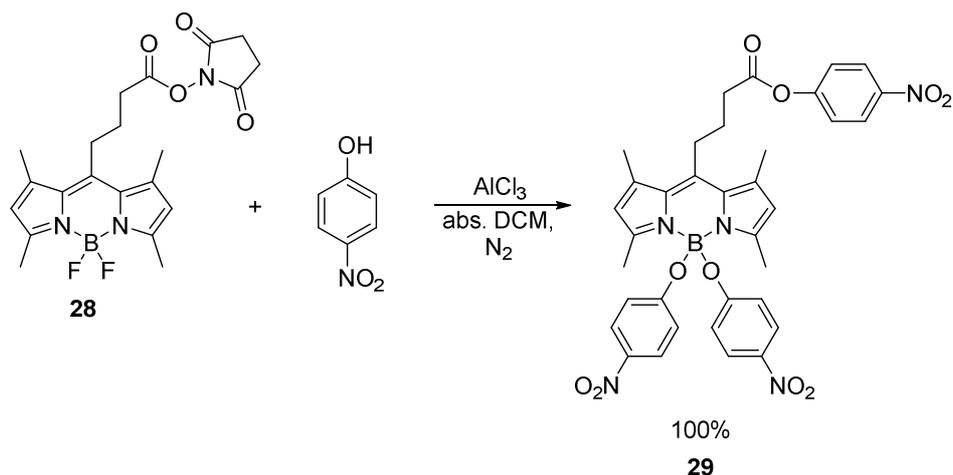


Abbildung 93: Kristallstruktur von **28** (CCDC: 2054523).

#### Synthese von Trinitrophenol-Bodipy **29**

Für eine chemische Unterscheidung der Produkte in späteren <sup>18</sup>F-Markierungen ist ein Austausch der F-Atome der BF<sub>2</sub>-Einheit notwendig. Deshalb wird Bodipy **28** unter Lewis-säurekatalysierten Bedingungen mit Nitrophenol umgesetzt (Schema 42).<sup>[345]</sup>



Schema 42: Synthese von Verbindung **29**.

Trinitrophenol-Bodipy **29** kann unter Zugabe von Aluminiumtrichlorid in quantitativen Ausbeuten in orangenen Kristallen erhalten werden. Es werden dabei nicht nur die F-Atome der BF<sub>2</sub>-Einheit ausgetauscht, sondern es findet auch eine Umesterung des NHS-Esters zum Nitrophenol-Ester statt. Die säulenchromatographische Aufreinigung genügt allerdings nicht zur vollständigen Abtrennung des Nitrophenol-Reagenzes. Zur weiteren Entfernung muss noch mehrmals im Nachhinein mit Wasser extrahiert werden. Wird ein geringerer Überschuss an Nitrophenol verwendet (statt 5.5 eq nur 3 eq), kann lediglich eine verminderte Ausbeute von Verbindung **29** erhalten werden.

### Charakterisierung von Trinitrophenol-Bodipy **29**

Eine Charakterisierung von Verbindung **29** erfolgt mittels NMR-Spektroskopie, MS-Spektrometrie, Kristallstrukturanalyse und Fluoreszenz-Spektroskopie. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (Abbildung 94) können die Signale bei 8.33 ppm, 7.98 ppm, 7.36 ppm und 6.57 ppm (mit einer jeweiligen Integration von zwei bzw. vier) den Aromaten-H-Atomen der drei Nitrophenole zugeordnet werden. Die freien H-Atome der beiden β-Positionen am Bodipy-Gerüst liegen bei 6.07 ppm (Integration zwei). Des Weiteren können die Signale bei 3.31 ppm, 2.90 ppm und 2.16 ppm mit einer jeweiligen Integration von zwei den drei CH<sub>2</sub>-Gruppen in der meso-Position zugeordnet werden. Die beiden Singulets bei 2.54 ppm und 2.44 ppm werden von den vier Methyl-Gruppen am Bodipy-Gerüst verursacht und weisen jeweils eine Integration von sechs auf. Das dazugehörige <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum ist in Abbildung 151 im Anhang gezeigt. Ein Beweis für den erfolgreichen Austausch der F-Atome der BF<sub>2</sub>-Einheit liefert das <sup>19</sup>F-NMR-Spektrum, in welchem keine Signale ersichtlich sind (Abbildung 152 im Anhang) und somit auch keine F-Atome im Molekül mehr vorhanden sind.

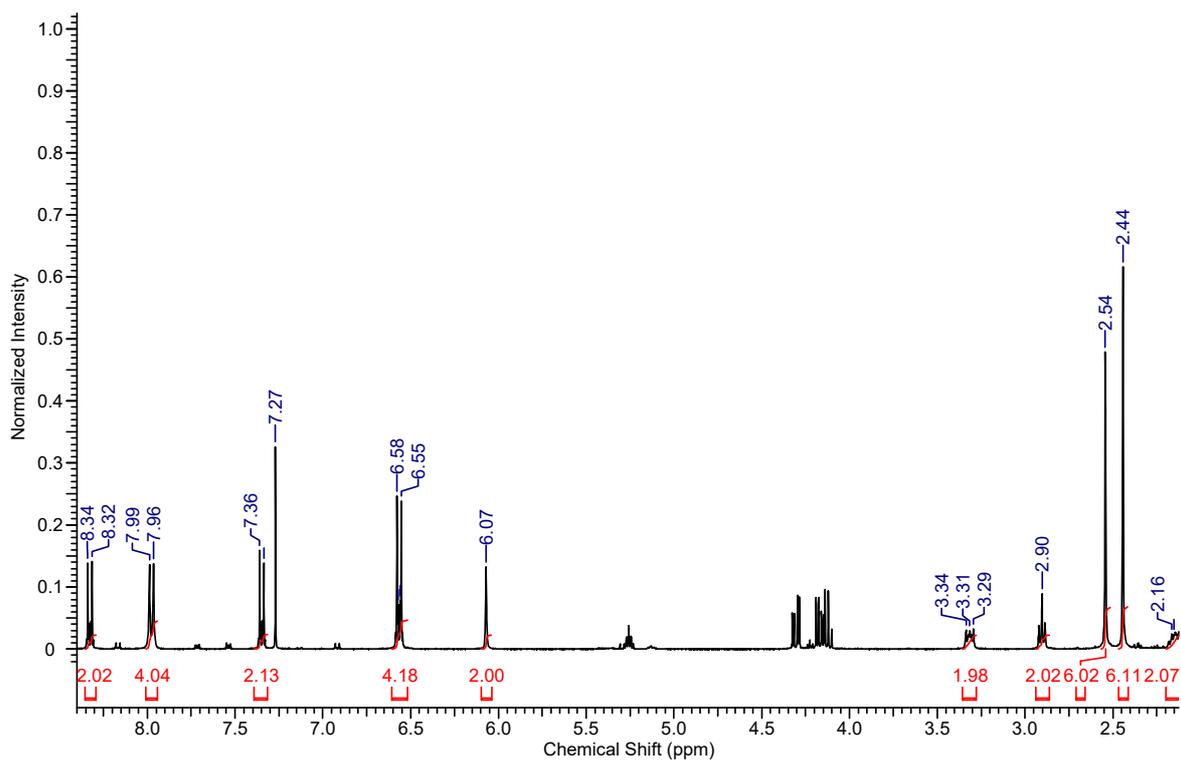


Abbildung 94:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **29** in  $\text{CDCl}_3$ .

Im Massenspektrum in Abbildung 167 im Anhang kann die Masse des  $[\text{M-H}]^-$  Ions ( $m/z = 692.22$ ) detektiert werden.

Wird Verbindung **29** in Dichlormethan gelöst, entstehen durch langsame Verdampfung des Lösungsmittels bei Raumtemperatur orange-farbige Kristalle, die mittels Röntgenstrukturanalyse untersucht werden können. Die erhaltene Kristallstruktur ist in Abbildung 95 dargestellt und spricht ebenfalls für die erfolgreiche Synthese der Zielverbindung **29**. Genauere Strukturdaten kann den Tabellen 27-30 im Anhang entnommen werden.

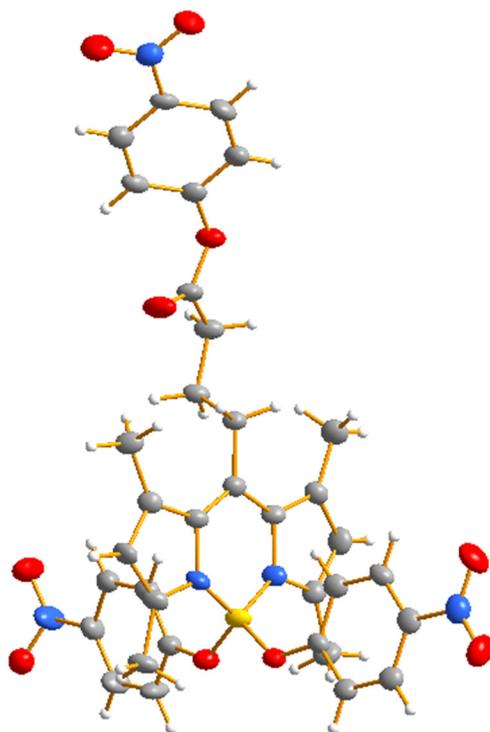


Abbildung 95: Kristallstruktur von Verbindung **29** (nicht veröffentlicht, siehe Anhang Tabelle 27-30).

Die fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen von Verbindung **29** werden in Dichlormethan durchgeführt und die resultierenden elektronischen Spektren werden in Abbildung 96a dargestellt. Im Vergleich zu Verbindung **27** kann durch die Substitution der F-Atome sowohl eine Steigerung der Fluoreszenzquantenausbeute von  $\Phi_{\text{Fl}}(\mathbf{27}) = 82\%$  auf  $\Phi_{\text{Fl}}(\mathbf{29}) = 90\%$  (jeweils  $\pm 5\%$ ), als auch der Fluoreszenzlebenszeit von  $\tau_{\text{Fl}}(\mathbf{27}) = 5.7 \text{ ns}$  auf  $\tau_{\text{Fl}}(\mathbf{29}) = 6.5 \text{ ns}$  (jeweils  $\pm 0.1 \text{ ns}$ ) beobachtet werden (Abbildung 96b). Die elektronischen Spektren bleiben jedoch unverändert bei  $\lambda_{\text{Abs}} = \lambda_{\text{Anr}} = 503 \text{ nm}$  ( $\lambda_{\text{Abs}} = \lambda_{\text{Anr}} = 502 \text{ nm}$  für **27**) und  $\lambda_{\text{Em}} = 512 \text{ nm}$  ( $\lambda_{\text{Em}} = 511 \text{ nm}$  für **27**). Diese Resultate stimmen auch mit Literaturdaten überein, dass die Substitution der F-Atome häufiger nur einen geringen Einfluss auf die spektroskopischen Eigenschaften ausübt (siehe Kapitel 2.1.3.5).

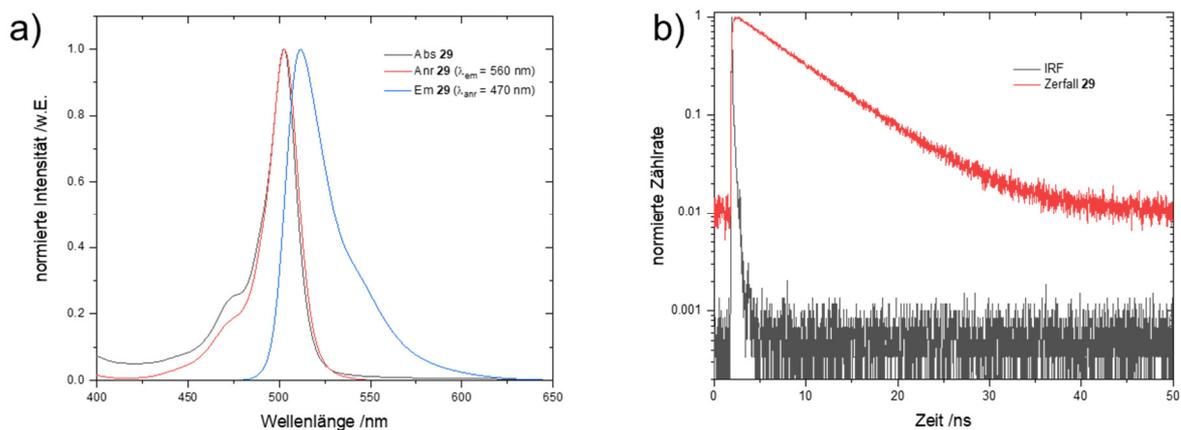


Abbildung 96: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung **29** in DCM.

### 3.3.2. $^{18}\text{F}$ -Markierungen und Fluoreszenz-Analyse

Nach erfolgreicher Synthese der Verbindungen **27**, **28** und **29** werden, in einer Kooperation mit Tobias Stemler und Mark Bartholomä vom Institut für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums in Homburg, sowohl Fluoreszenzmarkierungen von PSMA-Liganden, als auch  $^{18}\text{F}$ -Markierungen durchgeführt (Abbildung 97).

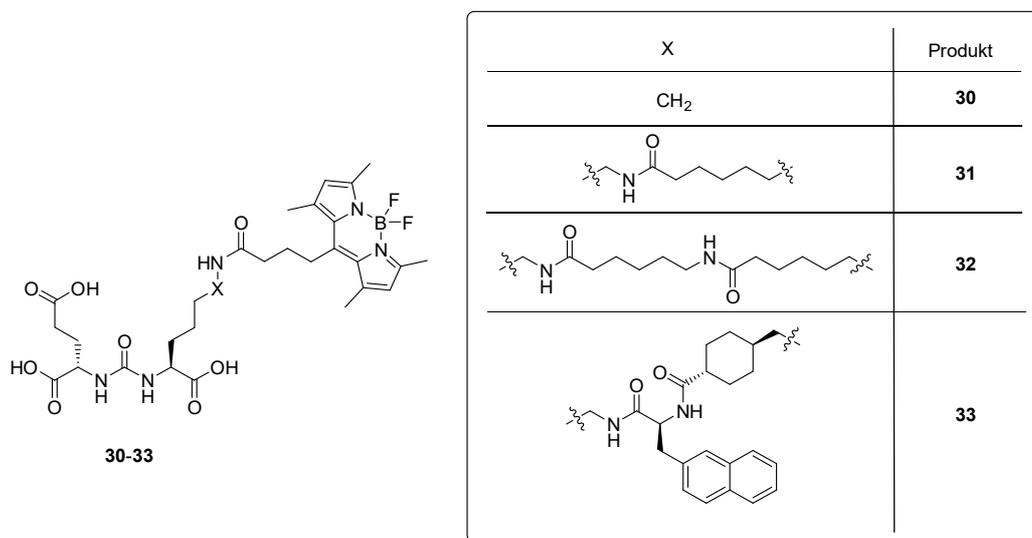


Abbildung 97: Strukturen der in Kooperation mit Homburg synthetisierten fluoreszenzmarkierten PSMA-Liganden.

Die detaillierten Ergebnisse der PSMA-Synthesen, Hürden bei der Knüpfung der PSMA-Liganden mit Bodipy **27** oder **28** und  $^{18}\text{F}$ -Markierungen von fluoreszenzmarkierten PSMA-Liganden sind im veröffentlichten Paper beschrieben und werden in der vorliegenden Arbeit nicht weiter beschrieben.<sup>[13]</sup> Die erfolgreiche Knüpfung von PSMA-Liganden mit Carbonsäure-Bodipy **27** kann über NMR-Spektroskopie und MS-Spektrometrie nachgewiesen werden (Daten dazu befinden sich in der Veröffentlichung). Zusätzlich erfolgt

---

die fluoreszenzspektroskopische Analyse der fluoreszenzmarkierten PSMA Liganden (im Anhang Abbildung 171 und Tabelle 13).

Die  $^{18}\text{F}$ -Markierung von Trinitrophenol-Bodipy **29** ist aufgrund zu vieler Nebenprodukte leider nicht erfolgreich. Auf weitere Untersuchungen wird hier verzichtet, weil die  $^{18}\text{F}$ -Markierung insbesondere von Verbindung **31** als erfolgsversprechend für zukünftige multifunktionelle Kontrastmittel anzusehen ist.

### 3.3.3. Zerfallsanalysen

Sowohl bei der Synthese der fluoreszenzmarkierten PSMA-Liganden (unter Einsatz von TFA), als auch bei den  $^{18}\text{F}$ -Markierungen (unter literaturbekannten Bedingungen mit  $\text{SnCl}_4$ , Kapitel 2.1.3.5) treten Zerfallsprodukte auf, die fluoreszenzspektroskopisch näher untersucht werden.

#### **Zerfall von Carbonsäure-Bodipy 27 in TFA**

Eine Behandlung von Bodipy **27** mit reiner Trifluoressigsäure (TFA) führt mit der Zeit zum Erlöschen der Fluoreszenz. Die elektronischen Spektren in (Abbildung 98a) zeigen, dass in den Absorptionsspektren zunächst eine Abnahme der Absorptionsintensität und nach wenigen Minuten eine Blau-Verschiebung des Absorptionsmaximums von  $\lambda_{\text{Abs}} = 496 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{\text{Abs}} = 488 \text{ nm}$  beobachtet werden kann. Es kommt jedoch nicht zur vollständigen Löschung der Absorptionsintensität. Die Emissionsspektren in Abbildung 98b hingegen zeigen zunächst eine leichte Rotverschiebung von  $\lambda_{\text{Em}} = 509 \text{ nm}$  nach  $\lambda_{\text{Em}} = 515 \text{ nm}$ , gefolgt von einem kontinuierlichen Abfallen der Fluoreszenz bis zum vollständigen Erlöschen nach 24h. Vermutlich sind die Verschiebungen und Intensitätsänderungen eine Folge der Anlagerung eines Protons an ein Stickstoff-Atom des Bodipy-Gerüsts, wodurch es zu einem Verlust der  $\text{BF}_2$ -Einheit kommt. Eine solche Dissoziation in zwei Schritten stimmt mit den Literaturdaten von Rumyantsev überein, welcher einen schnellen Protonierungsschritt des Bodipy-Gerüsts mit anschließendem Verlust der  $\text{BF}_2$ -Einheit, bei intaktem chromophoren System, postuliert.<sup>[346,347]</sup>

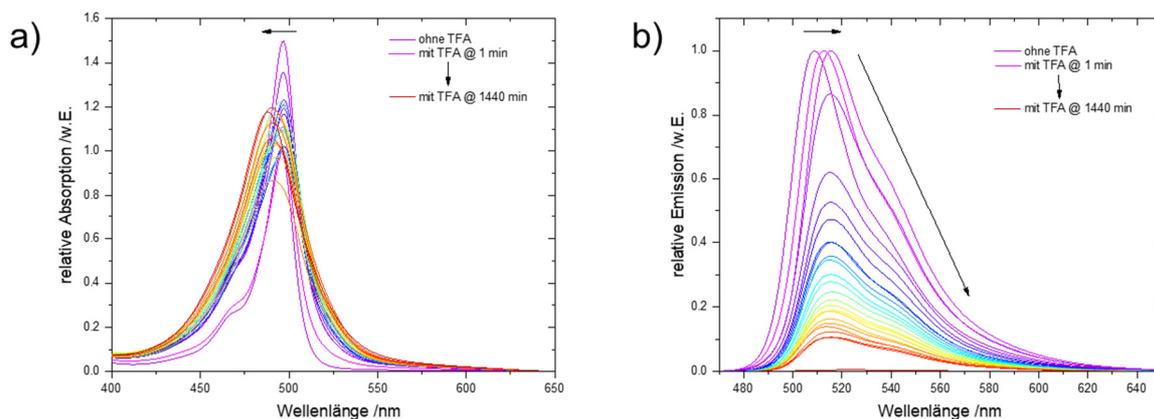


Abbildung 98: TFA-Zerfall von Verbindung **27** mit a) Absorptions- und b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460 \text{ nm}$ ).

Werden die Emissionsmaxima als Funktion der Zeit aufgetragen, ergibt sich eine Zerfallskurve wie in Abbildung 99. Aus einer biexponentiellen Anpassung lassen sich zwei Zerfallszeiten bestimmen, sodass von zwei unterschiedlich zerfallenden Spezies ausgegangen werden kann. Aus den kinetischen Konstanten  $k_1 = 0.168 \pm 0.011 \text{ min}^{-1}$  und  $k_2 = 0.018 \pm 0.006 \text{ min}^{-1}$  lassen sich die beiden Halbwertszeiten von Carbonsäure-Bodipy **27** in TFA bestimmen, zu  $\tau_{1/2} = 4.1 \pm 0.3 \text{ min}$  und  $\tau_{1/2} = 37.9 \pm 9.4 \text{ min}$ . Dieser durch TFA hervorgerufene Verlust der  $\text{BF}_2$ -Einheit kann auch bei analytischer HPLC und MS-Spektrometrie beobachtet werden.

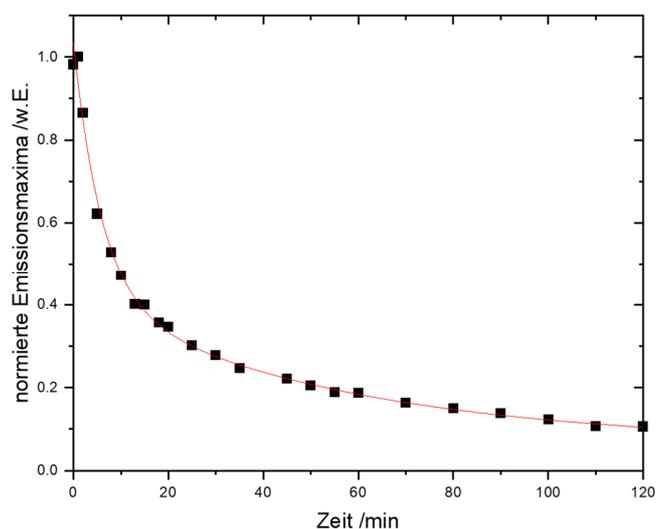


Abbildung 99: Zerfallskurve aus den Emissionsspektren von **27** mit TFA.

## Wiedereinbau von BF<sub>2</sub> durch BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>

Da die Absorption bei Zugabe von TFA vorhanden bleibt und lediglich die Fluoreszenz erlischt, liegt die Vermutung nahe, dass das chromophore System an sich erhalten bleibt und durch Wiedereinbau der BF<sub>2</sub>-Einheit, durch Zugabe von BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>, wieder zurückgewonnen werden sollte. Dazu wird der Bodipy zunächst in 1mL 99% TFA gelöst und anschließend 24h gewartet, bis Fluoreszenzlöschung erfolgt. Nach Messung der elektronischen Spektren (1μL Reaktion in 3mL Acetonitril verdünnen) wird eine Portion TEA/BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (jeweils 1 mL) zugegeben und wieder ein Emissionsspektrum gemessen. Im Emissionsspektrum ist keine Veränderung zu sehen. Die Absorptionsspektren hingegen weisen bereits nach wenigen Minuten einen Anstieg der Intensität auf. Nach erneuten 24h wird nochmals eine Portion an TEA/BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (erneut jeweils 1 mL) zugegeben und instantan die Spektren gemessen. Die Absorptionsspektren verschieben sich rot, während die Intensität der Fluoreszenzspektren anfängt zu steigen. Nach weiteren Portionen an TEA/BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> kann eine deutliche Fluoreszenz mit bloßem Auge erkannt werden (Abbildung 101) und auch die Fluoreszenzintensitäten bei λ<sub>Em</sub> = 509 nm steigen weiter an. Im Absorptionsspektrum kann wieder die ursprüngliche Absorptionsbande bei λ<sub>Abs</sub> = 496 nm von Verbindung **27** vor dem TFA-Zerfall beobachtet werden. Der BF<sub>2</sub>-Verlust in Folge der Reaktion mit TFA, kann durch BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>-Zugabe rückgängig gemacht werden.

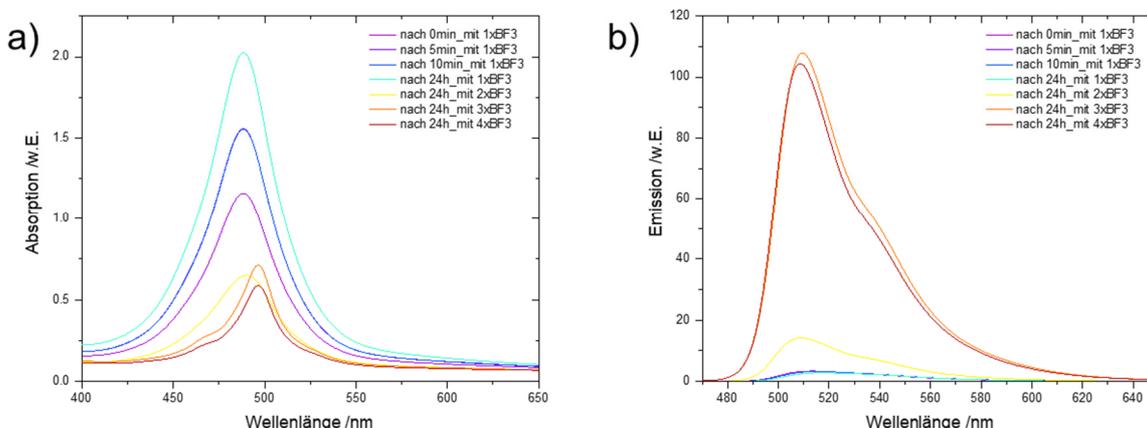


Abbildung 100: a) Absorptions- und b) Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 460 \text{ nm}$ ) nach TFA-Zerfall und anschließender Zugabe von TEA und BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (in der Legende beides zusammen mit BF<sub>3</sub> abgekürzt).

Diese Reversibilität kann ebenso mit einem Küvetten Experiment gezeigt werden. Abbildung 101 zeigt den erfolgreichen Wiedereinbau der BF<sub>2</sub>-Einheit in das Bodipy-Gerüst, durch Rückkehr der Fluoreszenz nach mehreren Zugaben an Bortrifluorid-Diethyletherat und Triethylamin.

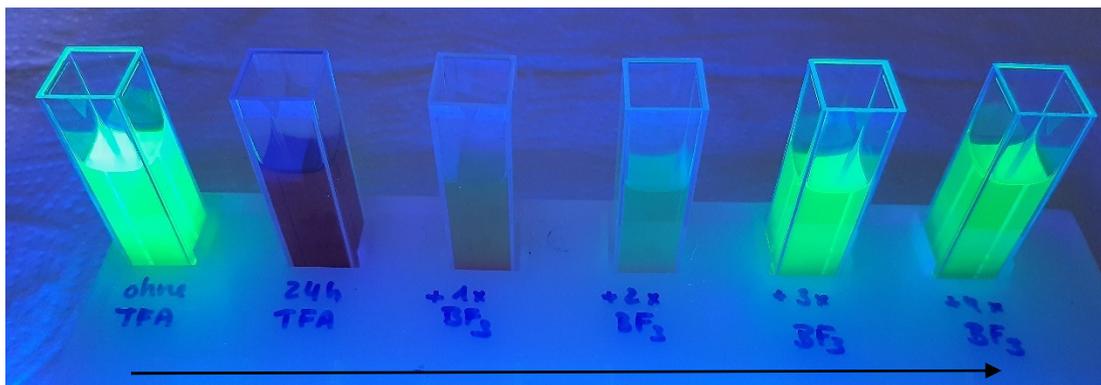


Abbildung 101: Zunächst Fluoreszenzlöschung von Verbindung **27** durch Zugabe von TFA nach 24h und anschließende Rückkehr der Fluoreszenz nach Zugabe von TEA und  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (von links nach rechts).

### Zerfall von Carbonsäure-Bodipy **27** in $\text{SnCl}_4$

Nicht nur beim Lösen des Bodipys in TFA können Zerfallsprodukte detektiert werden, auch während der  $^{18}\text{F}$ -Markierungen berichten die Kooperations-Partner von möglichen Zerfällen. Deshalb wird Verbindung **27** unter Lewis-säurekatalysierten Bedingungen, analog zu  $^{18}\text{F}$ -Markierungen gelöst (1 M  $\text{SnCl}_4$  in Acetonitril für 2h) und elektronische Spektren gemessen. Wie die Absorptionsspektren in Abbildung 102a zeigen, nimmt die Bande bei  $\lambda_{\text{Abs}} = 503 \text{ nm}$  mit der Zeit ganz leicht ab, während die dazu rotverschobene Bande ( $\lambda_{\text{Abs}} = 533 \text{ nm}$ ) mit der Zeit leicht zunimmt. In Abbildung 102b sind die Emissionsspektren gezeigt, die entstehen, wenn Bodipy **27** in 1 M Zinntetrachlorid-Acetonitril Lösung gelöst wird. Nach einer initialen roten Verschiebung der Bande von  $\lambda_{\text{Em}} = 509 \text{ nm}$  zu  $\lambda_{\text{Em}} = 520 \text{ nm}$  und der Entstehung einer zweiten Bande bei  $\lambda_{\text{Em}} = 545 \text{ nm}$ , ändern sich die Spektren über die verbleibende Zeit nicht mehr merklich.

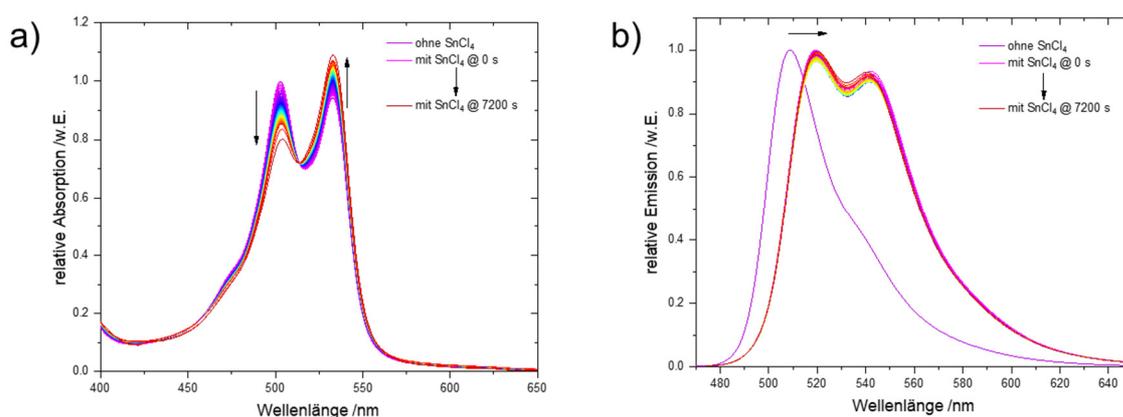


Abbildung 102:  $\text{SnCl}_4$ -Zerfall von Verbindung **27** mit a) Absorptions- und b) Emissionsspektren ( $\lambda_{\text{Arr}} = 460 \text{ nm}$ ).

Zusätzlich wird ein 3D-Fluoreszenzspektrum gemessen, welches in Abbildung 103 dargestellt ist. Die zweite Emissionsbande kann mit einem Anregungsmaximum von  $\lambda_{\text{Anr}} = 530 \text{ nm}$  detektiert werden.

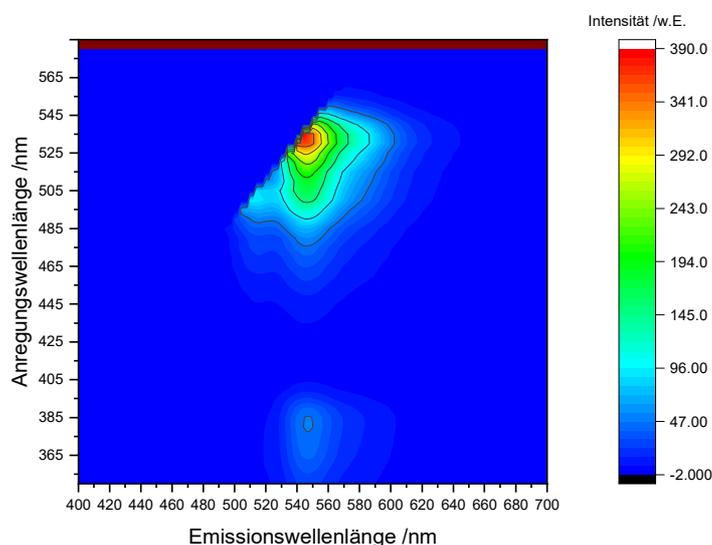
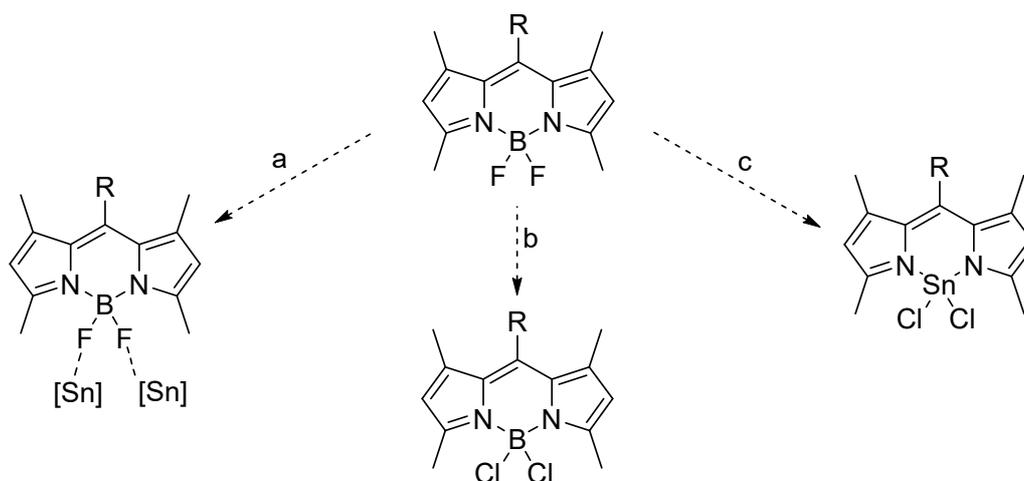


Abbildung 103: 3D-Fluoreszenzspektrum von Verbindung **27** mit 1M  $\text{SnCl}_4$  in Acetonitril.

Es gibt mehrere mögliche Erklärungen für die beobachteten Zerfälle. Entweder es kommt zu einer Intermediat-Bildung zwischen der Lewis-Säure und dem Fluor-Atom (a), oder die Fluor-Atome werden durch Chlor-Atome substituiert (b) oder  $\text{SnCl}_x$  insertiert (c, Schema 43). Sicher ist jedoch aufgrund der Fluoreszenz, dass der Chromophor, mit einem Heteroatom als Überbrückung zwischen den beiden Pyrrol-Einheiten, intakt bleibt. Letztendlich kann festgestellt werden, dass die wässrige Aufarbeitung ebenfalls teilweise (5-10%) zu demselben  $\text{BF}_2$ -Verlust führt, wie bei TFA beobachtet wird.



Schema 43: Mögliche Strukturen für den Lewis-Säurekatalysierten Zerfall von Bodipys.

---

Die Substitution der BF<sub>2</sub>-Einheit kann somit zur Synthese eines multifunktionellen Kontrastmittels auf Bodipy-Basis erfolgreich verwendet werden. Auch erste Affinitätsmessungen konnten gemacht und Informationen über Bodipy-Stabilitäten unter sauren und Lewis-sauren Bedingungen erhalten werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass es sich bei dem daraus bedingten BF<sub>2</sub>-Verlust um eine reversible Reaktion handelt.



---

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Dissertation ist die Synthese mehrerer multifunktionaler Farbstoffe auf Bodipy-Basis erfolgreich gelungen. Sowohl die unsymmetrische  $\beta$ -Position als auch die  $\text{BF}_2$ -Einheit konnten für dieses Vorhaben erfolgreich verwendet werden. Es konnten wichtige Erkenntnisse über die Auswirkungen von konjugierten Doppelbindungen in unterschiedlichen Substitutionspositionen des Bodipy-Gerüsts gewonnen werden. Neben der Synthese neuer bi- und trifunktionalisierter unsymmetrischer  $\beta$ -Bodipy-Derivate, konnte zusätzlich ein trifunktionaler  $\text{BF}_2$ -funktionalisierter Bodipy entwickelt werden.

Zunächst konnte durch die Synthese der  $\alpha$ - und  $\beta$ -styrylierten Bodipy-Derivate herausgefunden werden, dass sich konjugierte Doppelbindungen in  $\beta$ -Position negativ auf die Fluoreszenzeigenschaften, hauptsächlich auf die Fluoreszenzquantenausbeute, auswirken. Aufbauend auf diesen Ergebnissen konnten wichtige Erkenntnisse für die synthetischen Konzepte der multifunktionalen Bodipys abgeleitet werden.

So konnten zwei unsymmetrische Saccharid-Sonden auf Boronsäure Basis ( $\beta$ -Boronsäure Bodipy BBB) entwickelt werden, die eine hohe Selektivität für Fructose zeigen. Der gBBB **8** zeigt hierbei bessere Bindungsaffinitäten als rBBB **13**. Zudem konnte durch Vergleich aller spektroskopisch erhaltener Daten festgestellt werden, dass bei Bindungen zu Diolen die tetraedrische Form des Boronats gegenüber der trigonalen Boronsäure bevorzugt wird. Außerdem ist es gelungen, ein Analysenwerkzeug zu ermitteln, mit dem es zukünftig möglich sein kann, den Oligomerisierungsgrad der Saccharide (Mono, Di, Tri, Tetra, ...) über die Rotationskorrelationszeit zu bestimmen. Diese Eigenschaft eröffnet ein weites Feld für andere  $\beta$ -funktionalisierte Bodipy-Derivate, die mit unterschiedlich großen Molekülen gebunden werden können. In einem zukünftigen Projekt wäre es vorstellbar, Boronsäure-Dimere zu bilden, die über ein Polyol verbrückt sind, sodass zwischen den verbrückten Farbstoffen ein Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) vom Bodipy-Donor auf den Bodipy-Akzeptor stattfinden kann. Insbesondere von Dimeren der in dieser Arbeit synthetisierten BBB, wie sie in Abbildung 104 strukturell gezeigt sind, wären interessante spektroskopische Eigenschaften und eine Auswirkung auf die Rotationskorrelationszeit zu erwarten.

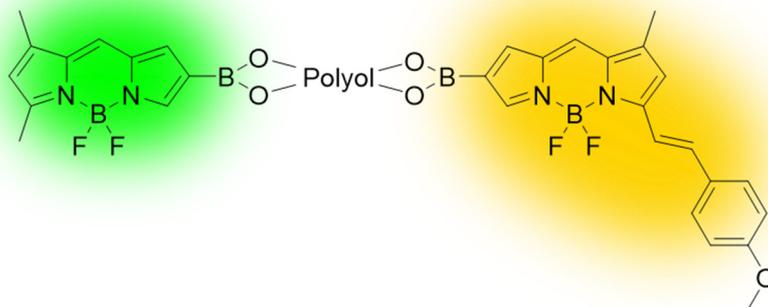


Abbildung 104: Mögliche Struktur für ein zukünftiges Boronsäure-basiertes Farbstoff-Dimer.

Ein bifunktionaler unsymmetrisch  $\beta$ -silanisierter Bodipy könnte ebenfalls erfolgreich synthetisiert werden. Für Bodipy **18** konnten sowohl gute Fluoreszenzeigenschaften gezeigt als auch die Immobilisierung auf Glasoberflächen erfolgreich durchgeführt werden. Obwohl eine Charakterisierung des  $\beta$ -silanierten Bodipy **18** über NMR-Spektroskopie und MS-Spektrometrie nicht möglich war, sprechen aber die DC-Kontrollen, TIRF-Aufnahmen und konfokalen Mikroskopie-Messungen, für eine erfolgreiche Synthese mit anschließender erfolgreicher Immobilisierung. Für zukünftige Messungen auf Einzelmolekülniveau, ist die Charakterisierung über NMR-Spektroskopie bzw. MS-Spektrometrie des Bodipys notwendig. Zusätzlich ist eventuell der Einsatz von hydrolysestabileren Silanen notwendig, z. B. durch größere Reste, wie Isopropyl oder Trimethylsilyl. Zur Erweiterung der Funktionalisierung wäre auch die zusätzliche Einführung einer Doppelbindung analog zu rBBB denkbar. Mit diesem entstehenden trifunktionalen Bodipy könnten Einzelmolekülniveau-Untersuchungen von z.B. Epoxidierungsreaktionen möglich sein. Interessant für die Zukunft wäre auch die immobilisierbaren Eigenschaften der Boronsäure auf Glasoberflächen weiter zu untersuchen, mit dem Ziel, eventuell eine alternative Immobilisierungstechnik zu Silanen zu erhalten. Vorteil wäre dabei, dass die Boronsäuren deutlich weniger zu Polymerisierungen neigen als die Siloxane, sodass vermutlich unter vereinfachten Bedingungen immobilisiert werden könnte.

Neben der Verwendung der  $\beta$ -Position zur Synthese multifunktionaler Bodipy-Farbstoffe konnte auch die Substitution der Fluor-Atome der  $\text{BF}_2$ -Einheit durch Nitrophenol oder  $^{18}\text{F}$ -Atome erfolgreich verwendet werden. Messungen der Radioaktivität und Zellgängigkeit identifizierten Verbindung **31** als vielversprechenden Kandidaten für künftige Kontrastmittel-Anwendungen. Wichtige Informationen zu Zerfallsreaktionen unter sauren und Lewis-säure-katalysierten Bedingungen konnten ebenso erhalten werden. So konnte dargelegt werden, dass es sich bei dem durch (Lewis)-sauren (wässrigen) bedingten  $\text{BF}_2$ -Verlust um eine

---

reversible Reaktion handelt, die durch Zugabe von TEA und  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  wieder rückgängig gemacht werden kann. Für künftige Anwendungen als Kontrastmittel der fluoreszenz- und  $^{18}\text{F}$ -markierten PSMA-Liganden wäre es durchaus interessant, wenn in den freien  $\beta$ -Positionen am Bodipy-Gerüst zusätzlich wasserlösliche Gruppen angebracht werden könnten. Dadurch könnte ein tetrafunktionelles Kontrastmittel erhalten werden.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass es in der vorliegenden Dissertation gelungen ist, mehrere unterschiedlich multifunktionalisierte Bodipy-Farbstoffe basierend auf  $\beta$ - oder  $\text{BF}_2$ -Substitution zu synthetisieren. Außerdem konnten über die Substitution der  $\beta$ -Bodipy-Position wichtige neue Erkenntnisse dargelegt werden. Zudem konnten Daten über die Stabilität von Bodipys erhalten werden.



---

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1. Allgemeine Angaben

**Chemikalien** für die Synthesen wurden von Merck Sigma-Aldrich Chemie (Taufkirchen, Deutschland), TCI Deutschland (Eschborn, Deutschland), Carbosynth Limited (Compton, England), Alfa Aesar (Karlsruhe, Deutschland), Carbolution Chemicals (St. Ingbert, Deutschland), VWR International (Darmstadt, Deutschland), ChemPUR (Karlsruhe, Deutschland), Fisher Scientific (Schwerte, Deutschland), Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland) und vom zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen und ohne weitere Aufreinigung direkt verwendet. Benötigte **Lösungsmittel** wurden vom zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen oder aus Laborbeständen entnommen. THF wurde unter literaturbekannten Bedingungen mehrere Tage über Molekularsieb getrocknet.<sup>[348]</sup> Alle sonstigen verwendeten absoluten Lösungsmittel wurden ebenfalls vom Chemikalienlager bezogen. Feuchtigkeits- oder sauerstoffempfindliche Reaktionen wurden unter Stickstoff-Atmosphäre in ausgeheizten Glasgeräten durchgeführt.

Die **pH-Puffer** für die  $pK_a$ - und  $K_B$ -Bestimmungen wurden durch Lösen der Puffer-Salze (Natriumacetat, Kaliumdihydrogenphosphat und Natriumhydrogencarbonat) in destilliertem Wasser (50 mM) hergestellt. Die pH-Werte wurden mit 0.1 M oder 1 M NaOH und 1 M HCl justiert (Acetat 4.5 und 5, Phosphat 5.5-8.5 und Carbonat 9-11.5). Die Justage erfolgte mit einer kalibrierten pH-Glas-Elektrode SenTix®52 von WTW (Xylem Analytics, Weilheim, Deutschland).

**Reaktionskontrollen** wurden mittels Dünnschichtchromatographie durchgeführt. Dafür wurden 0.2 mm dicke Kieselgel 60 beschichtete Aluminium-Platten mit integriertem Fluoreszenzindikator verwendet (40 x 80 mm, Macherey Nagel, Düren, Deutschland). Die Visualisierung erfolgte mit einer UV-Licht-Lampe bei 365 nm. Die Aufreinigung über Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel 60 (230-400  $\mu$ M Partikelgröße, technische Qualität, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) vollzogen.

**NMR-Spektren** wurden mit einem 400 MHz-Kernresonanzspektrometer Bruker Avance II der Firma Bruker BioSpin (Bremen, Deutschland) gemessen. Bis auf Verbindung **8** und **13** (Aceton- $d_6$ ) konnte für alle gemessenen Proben deuteriertes Chloroform als Lösungsmittel verwendet werden. Zudem wurde immer bei Raumtemperatur gemessen. Auswertungen erfolgten mittels dem Programm ACD/NMR Processor Academic Edition der Firma Advanced Chemistry Development (ACD Labs, Toronto, Kanada).  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurden bei 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren bei 100 MHz,  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren bei 377 MHz und  $^{11}\text{B}$ -NMR-

---

Spektren bei 128 MHz gemessen. Eine Kalibrierung der NMR-Spektren auf  $\text{CDCl}_3$  wurde entsprechend nach Gottlieb *et al.* durchgeführt: 7.27 ppm für das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum und 77.0 ppm für das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum.<sup>[349]</sup>  $^{19}\text{F}$ - und  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektren wurden ohne Standards gemessen. Mit folgenden Abkürzungen für die Multiplizitäten wurde gearbeitet: bs = breites Singulett, s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett.

Alle **MS-Spektren** wurden mit einem Solarix Fourier-Transform-Ionen-Cyclotron-Resonanz-Massen-Spektrometer ausgestattet mit einem 7 Tesla Magneten (FT-ICR MS) der Firma Bruker (Bremen, Deutschland) gemessen. Die Signale wurden alle in der Region von 150-750 m/z aufgenommen. Die Daten konnten alle im negativen ESI-Ionisierungs-Modus [M-H]<sup>-</sup> erhalten werden. Zur Messung wurden die Proben in N,N-Dimethylformamid gelöst und 1/1000 mit basischem ESI-Lösungsmittel (50% Acetonitril, 1% Triethylamin) verdünnt. Alle erreichten Massengenauigkeiten der Proben lagen bei über 2 ppm oder sogar in den meisten Fällen noch besser.

Die Aufnahme der **UV-Vis-Spektren** konnte mit dem im Arbeitskreis vorhandenen Absorptionsspektrometer V-650 der Firma Jasco (Pfungstadt, Deutschland) durchgeführt werden. Quarzglasküvetten (für Dichlormethan-Messungen) oder, für wässrige Lösungen, Einmal-Plastikküvetten von Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) mit 1 cm Weglänge wurden verwendet und die Daten mit Origin 2018 (OriginLab, Northampton, USA) ausgewertet. Für die **Fluoreszenzspektren** wurde ein Fluoreszenzspektrometer DP-6500, ebenfalls von der Firma Jasco (Pfungstadt, Deutschland), eingesetzt. Sonst galten die gleichen Messbedingungen wie für die UV-Vis-Spektren. Auch für die Zerfallsexperimente der Bodipy-Carbonsäure wurden unter Zuhilfenahme der vorinstallierten Scan-Programme, die Geräte von Jasco verwendet. 3D-Fluoreszenzspektren wurden ebenfalls mit diesen Geräten aufgenommen.

**Fluoreszenzquantenausbeuten** konnten mittels des Fluoreszenz-Quantenausbeute-Spektrometers Quantaaurus-QY Absolute PL C11347 der Firma Hamamatsu Photonics Deutschland (Herrsching am Ammersee, Deutschland) bestimmt werden. Die Bestimmungen wurden in 0.8 mL durchsichtigen Gläschen mit klarem Boden mit 8 mm Durchmesser von Thermo Scientific (Langerwehe, Deutschland) durchgeführt.

**Fluoreszenzlebensdauern** von Farbstofflösungen ( $\mu\text{M}$  Konzentrationen) wurden mit einem im Arbeitskreis aufgebauten Setup gemessen.<sup>[350]</sup> Die Proben wurden mit dem abstimmbaren Faserlaser (FemtoFiber pro TVIS, TOPTICA Photonics, Gräfelfing, Deutschland) mit  $f_{\text{Rep}} = 20$  MHz, entweder bei  $\lambda_{\text{Anr}} = 490$  nm oder bei  $\lambda_{\text{Anr}} = 532$  nm, angeregt. Das Einsammeln der Fluoreszenz erfolgte durch eine Linse und Passierung durch einen Bandpassfilter (HQ filter,

---

AHF Analysentechnik AG, Tübingen, Deutschland,  $\lambda_{\text{Det}} = 500\text{-}550\text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{Det}} = 540\text{-}600\text{ nm}$  oder  $\lambda_{\text{Det}} = 555\text{-}625\text{ nm}$ ). Anschließend wurde das gesammelte Emissionslicht auf einen Einzel-Photonen Avalanche Photodioden-Detektor fokussiert (SPAD, PDM series, Micro Photon Devices (MPD) S.R.L., Bolzano, Italien). Mit der TCSPC Elektronik konnte sowohl das Fluoreszenz-Signal, als auch das Zeit-Signal mit 16 ps Auflösung gemessen werden (PicoHarp 300, PicoQuant, Berlin, Deutschland). Die Auswertung und Analyse der Daten wurde mit der von PicoQuant zur Verfügung gestellten Software SymPho Time 64 durchgeführt. Mit einer monoexponentiellen Rekonvolutions-Anpassung wurden die gemessenen Daten zusammen mit der gemessenen IRF (gemessen mit verdünnter LUDOX TM 50 mit einem OD Filter von 1.0, Sigma-Aldrich,  $\lambda_{\text{Em}} = 470\text{ nm}$ , IRF  $\sim 400\text{ ps}$  (FWHM)) ausgewertet.

**Stationäre und zeitaufgelöste Anisotropie:** Für die stationären Anisotropie-Messungen wurde das Fluoreszenzspektrometer von Jasco (Pfungstadt, Deutschland) verwendet. Sowohl in Anregungs- als auch Emissionsrichtung kamen dazu Film-Polarisatoren (FDP-203) zum Einsatz. Für die zeitaufgelösten Anisotropie-Messungen wurden Farbstofflösungen in pH-Puffern von 8.5, mit einer optischen Dichte von etwa 0.1, hergestellt. Die Proben wurden mit einem abstimmbaren Faserlaser (FemtoFiber pro TVIS, TOPTICA Photonics, Gräfelfing, Deutschland) mit  $\lambda_{\text{Anr}} = 490\text{ nm}$  und  $f_{\text{Rep}} = 80\text{ MHz}$  in vertikaler Polarisation angeregt. Die Fluoreszenz wurde in einem  $90^\circ$  Winkel durch Abbildung auf einen Strahlteiler (Optosplit III, Cairn Research, Faversham, England) gesammelt. Der Strahlteiler wurde mit einem Bandpassfilter ( $\lambda_{\text{Det}} = 500\text{-}550\text{ nm}$ , AHF Analysentechnik AG, Tübingen, Deutschland) ausgestattet und erlaubte durch Einsatz von Polarisationsfiltern (LPVISE100-A, Thorlabs, Bergkirchen, Deutschland) die Aufteilung in drei räumlich äquivalente Polarisationskanäle ( $0^\circ$ ,  $90^\circ$  und  $54.7^\circ$ ). Das Signal der drei Kanäle wurde auf den Spalt der Streak-Kamera-Eingangsoptik fokussiert (A1976-1, Hamamatsu, Herrsching am Ammersee, Deutschland). Die Detektion des Streak-Bildes wurde, durch die Verwendung eines 80 MHz Laser-Signals, ausgelöst. Die Bilder (Zeitfenster von 2 ns) wurden mit einem kommerziell erhältlichen Synchroscan-Kamera-Setup aufgezeichnet (universal streak camera C10910, M10911 Synchroscan-Einheit, Hamamatsu, Herrsching am Ammersee, Deutschland). Die IRF wurde mit Erythrosin B (50  $\mu\text{M}$ ) in einer 5 M Kaliumiodid Lösung gemessen (FWHM mit  $\Delta_{\text{tIRF}} = 40\text{ ps}$ ). Extraktion und Auswertung der Daten erfolgte mit MATLAB R 2020b (The Math Works, Natick, Massachusetts, USA). Die drei Polarisationskanäle wurden simultan auf dem Chip der Streak-Kamera detektiert. Jede einzelne Reihe von jedem individualen Kanal wurde akkumuliert, was zu den drei polarisationsabhängigen Zerfallskurven führte. Aufgrund der unterschiedlichen Weglängen im Strahlteiler, musste der Zeitpunkt  $t = 0$  durch die

---

Anwendung der IRF manuell durchgeführt werden. Der Hintergrund konnte durch die mittlere Intensität vorm Zeitpunkt 0 definiert und abgezogen werden. Normierungen von  $I_{VH}$  (vertikale Anregung und horizontale Detektion) und  $I_{VV}$  (vertikale Anregung und vertikale Detektion) wurden über *tail matching* erreicht und die Anisotropie  $r(t)$  konnte mittels Gleichung 19 berechnet werden.<sup>[292]</sup> Die Rotationskorrelationszeit  $\tau_{Rot}$  wurde durch die monoexponentielle Anpassung der Anisotropie-Zerfallskurve mit Gleichung 18 erhalten. Wobei zur Bestimmung der initialen Anisotropie zum intrinsischen Wert  $r_0$  der Offset ( $\approx 0$ ) addiert werden musste. Unter keinen Umständen wurde ein Wert von  $r_0 > 0.4$  beobachtet.

**Konfokale Fluoreszenzmikroskopie-Bilder** der fluoreszenzmarkierten hohlen Glaskugeln (PBGH-18, Kisker Biotech, Steinfurt, Deutschland) wurden an einem Mikroskop, ausgestattet mit C-Apochromat 63x/1.4 NA Multiimmersionsobjektiv (auf Glycerin eingestellt) von der Firma Carl Zeiss (Jena, Deutschland), in Zusammenarbeit mit Alexander Grandjean, durchgeführt ( $\lambda_{Anr} = 470$  nm, 1  $\mu$ W Laserleistung und  $f_{Rep} = 20$  MHz).

**TIRF-Messungen** wurden an einem Axiovert 200 (Zeiss, Jena, Deutschland) von Matthias Jourdain durchgeführt, das für Objektiv- & Prismen TIRF Messungen modifiziert wurde und mit einer EMCCD-Kamera betrieben wurde ( $\lambda_{Anr} = 488$  nm,  $\lambda_{Det} = 500-550$  nm).

Kristalle für die Messung von **Kristallstrukturen** konnten durch langsame Verdampfung aus Aceton oder Dichlormethan über Nacht bei Raumtemperatur gewonnen werden. Von Herrn Volker Huch bzw. Herrn Bernd Morgenstern wurden die notwendigen Kristalle jeweils ausgesucht und mit einem Bruker (Bremen, Deutschland) D8 Venture Diffraktometer, mit einer microfokus versiegelten Röhre und einem Photon II Detektor, vermessen. Entweder wurde monochromatische  $Mo_{K\alpha}$ -Strahlung ( $\lambda = 0.71073$  Å) oder  $Cu_{K\alpha}$  ( $\lambda = 1.54178$  Å) dafür verwendet. Das Einsammeln der Daten erfolgte entweder bei 133(2) K oder bei 152(2) K, zur Korrektur der Absorptionseffekte wurde die Multi-Scan Methode verwendet. Zur Auflösung der Daten wurde die direkte Methode nach SHELXS-97<sup>[351]</sup> verwendet, die Verfeinerung der Matrix der kleinsten Fehlerquadrate erfolgte mit  $F^2$  (SHELXL2018<sup>[352]</sup>) in das graphische Anwenderfenster Shelxle.<sup>[353]</sup> Alle Atome konnten auf der Elektronendichte-Karte positioniert und anisotropisch verfeinert werden. Alle veröffentlichten Daten sind auf der Cambridge Kristall-Datenbank frei zugänglich [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

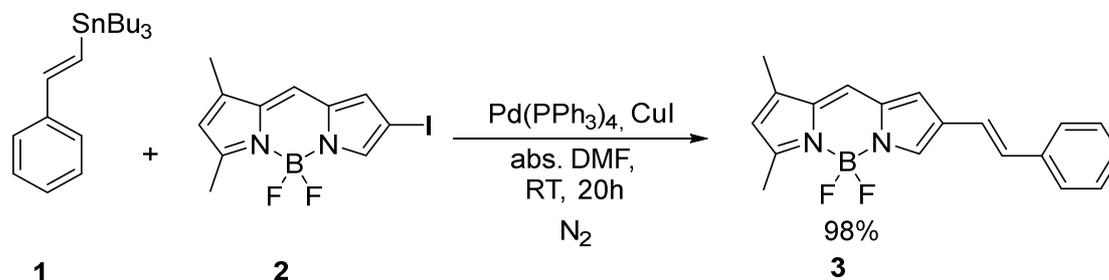
**Viskositäten und Dichten** von Zucker- und Polyhydroxylösungen wurden an einem Kugelroll-Viskosimeter Lovis 2000 ME (Anton Paar, Graz, Österreich) mit einem angekoppelten Dichtemodul DMA 4100 M (Anton Paar, Graz, Österreich) gemessen. Die Messungen, die bei 22°C durchgeführt wurden, benötigten eine 1.59 mm dicke Kapillare, ausgestattet mit einer 1 mm dicken Stahl-Kugel. Als Referenz-Lösung diente reines

---

destilliertes Wasser ( $\rho = 0.9978 \text{ g/mL}$  and  $\eta = 0.956 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ ). Alle Lösungen wurden vor der Messung für etwa 5 min im Ultraschallbad entgast.

## 5.2. Synthesen

### 5.2.1. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-styryl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **3**



Schema 44: Darstellung von  $\beta$ -Styryl-Bodipy **3**.

**2**<sup>[17]</sup> (154.6 mg, 0.45 mmol), **1** (265.4 mg, 0.67 mmol), Palladiumtetrakis(triphenylphosphin) (56.8 mg, 0.05 mmol) und Kupferiodid (16.9 mg, 0.09 mmol) wurden in 5 mL abs. DMF gelöst und 20 h bei RT gerührt. Durch Entfernen des Lösungsmittels unter Hochvakuum und anschließender säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1), konnte **3** als violetter Feststoff (141.9 mg, 0.47 mmol, 98%) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.82 (s, 1H), 7.46 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 2H), 7.35 (t, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 2H), 7.24 (tt, <sup>4</sup>J (H,H) = 1.25 Hz, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.89 (q+s, <sup>3</sup>J (H,H) = 16.31 Hz, 2H+1H), 6.17 (s, 1H), 2.61 (s, 3H), 2.28 (s, 3H).

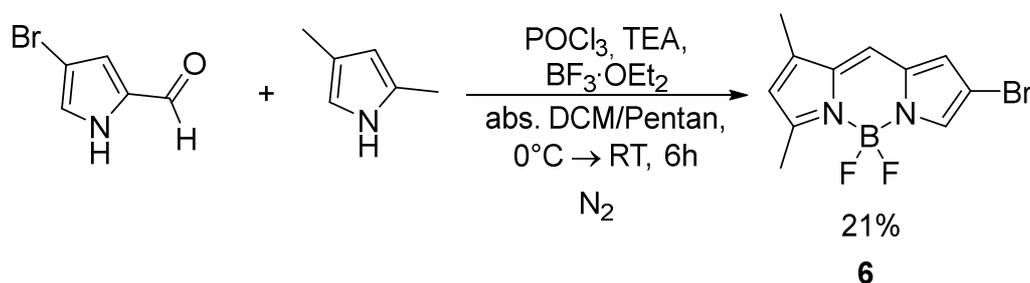
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 163.3, 145.7, 138.3, 137.4, 136.8, 133.2, 130.1, 128.6 (2C), 127.8, 127.3, 126.1 (2C), 124.2, 121.6, 121.3, 120.3, 15.2, 11.4.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -147.02 (q, J = 31.20 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub><sup>-</sup> [M-H]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 321.13801$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 321.13575$ .

CCDC-Nummer: 1890200.

## 5.2.2. Synthese von 2-Brom-5,7-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **6**



Schema 45: Darstellung von  $\beta$ -Brom-Bodipy **6**.

4-Bromopyrrol-2-carbaldehyd (413.2 mg, 2.37 mmol) wurde bei Raumtemperatur in einer Mischung aus 2 mL abs. Dichlormethan und 1 mL abs. Pentan gelöst. 2,4-Dimethylpyrrol (235.0 mg, 2.47 mmol) wurde zugefügt und auf 0°C abgekühlt. Nach der tropfenweise Zugabe von Phosphoroxychlorid (225  $\mu$ L, 2.41 mmol) bei 0°C, wurde die Lösung 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde auf 0°C gekühlt und Triethylamin (3.3 mL, 23.8 mmol) zugefügt. Nach 10 min erfolgte eine tropfenweise Zugabe von BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (3.4 mL, 26.8 mmol) bei 0°C. Die Reaktionsmischung wurde für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt und dann mit 200 mL Diethylether gequenchet. Die organische Phase wurde drei Mal mit Wasser gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Verdampfung des Lösungsmittels und anschließende säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) lieferte **6** als orangene Kristalle (146.7 mg, 0.50 mmol, 21%).

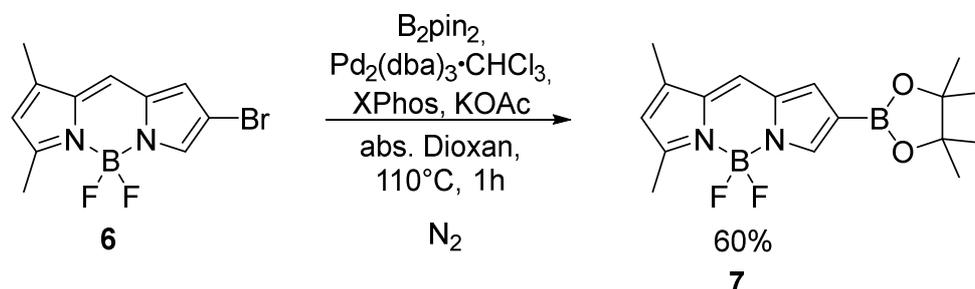
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.50 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.28 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 165.7, 147.3, 137.3, 137.2, 131.9, 125.4, 123.8, 122.2, 103.3, 15.4, 14.1, 11.4.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -146.23 (q, J = 29.97 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

CCDC-Nummer: 2071440.

### 5.2.3. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(4,4,5,5-tetra-methyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **7**



Schema 46: Darstellung von  $\beta$ -Borpinakol-Bodipy **7**.

**6** (75.6 mg, 0.25 mmol) wurde zusammen mit Bis(pinakolato)diboron (201.7 mg, 0.79 mmol), Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0)-Chloroform Addukt (3.2 mg, 0.003 mmol), XPhos (5.2 mg, 0.01 mmol) und Kaliumacetat (79.2 mg, 0.81 mmol) in 2 mL abs. Dioxan gelöst und für 1 h auf 110°C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT konnte das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt werden. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: DCM) konnte **7** (52.4 mg, 0.15 mmol, 60%) als orangene Kristalle erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.98 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 1.33 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 163.8, 146.1, 146.0, 136.9, 133.6, 133.0, 124.7, 121.6, 83.4, 24.9, 14.0, 11.4.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -146.10 (q, J = 29.97 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

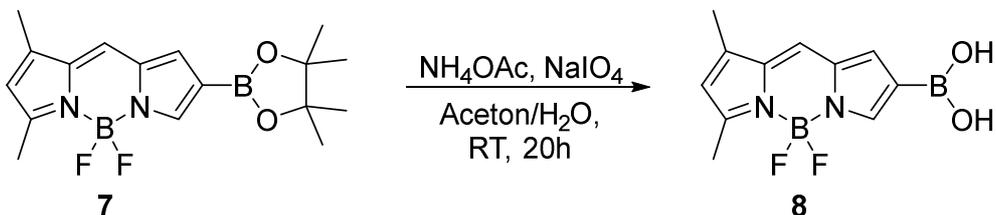
**<sup>11</sup>B-NMR** (128 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 22.62 (bs, 1B, Bpin), 0.58 (t, J = 30.32 Hz, 1B, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>B<sub>2</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 345.17627 und m/z<sub>gemessen</sub> = 345.17520.

CCDC-Nummer: 2071441.

---

#### 5.2.4. Synthese von 2-Boronsäure-5,7-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **8**



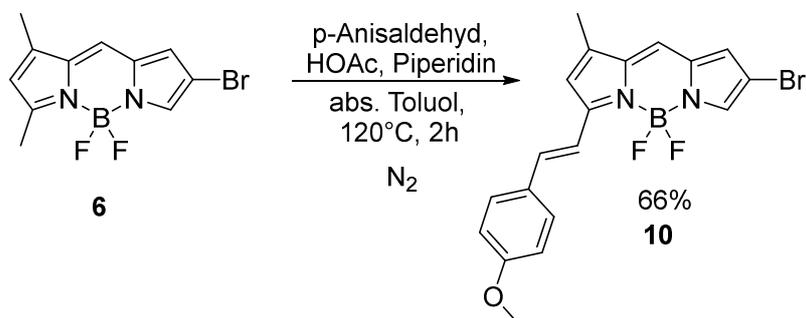
Schema 47: Darstellung von  $\beta$ -Boronsäure-Bodipy **8**.

**7** (26.0 mg, 0.10 mmol) wurde in 3 mL Aceton gelöst. Nach Hinzufügen von 0.1 M wässriger Ammoniumacetat-Lösung (1.6 mL) und Natriumperiodat (73.9 mg, 0.35 mmol) wurde die Reaktionslösung 20 h bei RT gerührt. Die DC-Kontrolle zeigte die komplette Umsetzung des Eduktes. Durch Abfiltrieren über Watte konnte eine grün-gelbe Lösung erhalten werden, die ohne weitere Aufreinigung in spektroskopischen Messungen eingesetzt wurde.

$^{11}\text{B-NMR}$  (128 MHz, Aceton- $d_6$ , 25°C):  $\delta$  (ppm) = 20.32 (bs, 1B,  $\text{B(OH)}_2$ ), 0.58 (t, J = 31.30 Hz, 1B,  $\text{BF}_2$ ).

MS (ESI) für  $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{B}_2\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2^-$  [M-H]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 263.09802$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 263.09835$ .

### 5.2.5. Synthese von 2-Brom-5-(4-methoxy)-styryl-7-methyl-4,4'-difluorobora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **10**



Schema 48: Darstellung von  $\beta$ -Brom-Methoxystyryl-Bodipy **10**.

**6** (150.5 mg, 0.50 mmol) wurde unter Zugabe von 4 Å Molsieb in 25 mL abs. Toluol gelöst. Nach Heizen auf 120°C wurden p-Anisaldehyd (50  $\mu$ L, 0.58 mmol), konzentrierte Essigsäure (375  $\mu$ L, 6.56 mmol) und Piperidin (500  $\mu$ L, 5.05 mmol) zugegeben. Die Reaktion wurde nach 2 h Heizen auf RT abgekühlt und das Lösungsmittel an der Hochvakuum-Pumpe entfernt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) lieferte **10** in violetten Kristallen (137.2 mg, 0.33 mmol, 66%).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.58 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 8.68 Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.45 (q, <sup>3</sup>J (H,H) = 16.14 Hz, 2H), 7.02 (s, 1H), 6.94 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 8.68 Hz, 2H), 6.78 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 13.69 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.30 (s, 3H).

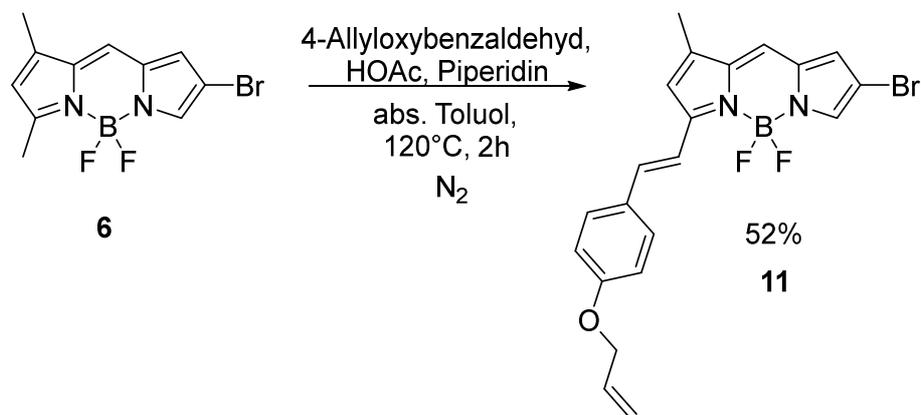
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 160.4, 147.7, 147.6, 147.1, 138.5, 132.0, 129.5, 129.0, 124.5, 124.0, 119.1, 114.3, 114.1, 55.4, 31.4, 30.2, 14.1.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -142.80 (q, J = 31.34 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>BBBrF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 415.04344 und m/z<sub>gemessen</sub> = 415.04244.

CCDC-Nummer: 2071448.

## 5.2.6. Synthese von 5-(4-Allyloxy)-styryl-2-brom-7-methyl-4,4'-difluorobora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **11**



Schema 49: Darstellung von  $\beta$ -Brom-Allyloxystyryl-Bodipy **11**.

**6** (10.1 mg, 0.03 mmol) wurde in 4 mL abs. Toluol gelöst. Nach Heizen auf 120°C wurden 4-Allyloxybenzaldehyd (23.7 mg, 0.15 mmol), konzentrierte Essigsäure (30  $\mu$ L, 0.45 mmol) und Piperidin (45  $\mu$ L, 0.45 mmol) zugegeben. Die Reaktion wurde nach 2 h Heizen auf RT abgekühlt und das Lösungsmittel an der Hochvakuum-Pumpe entfernt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) lieferte **11** als violetten Feststoff (6.87 mg, 0.02 mmol, 52%).

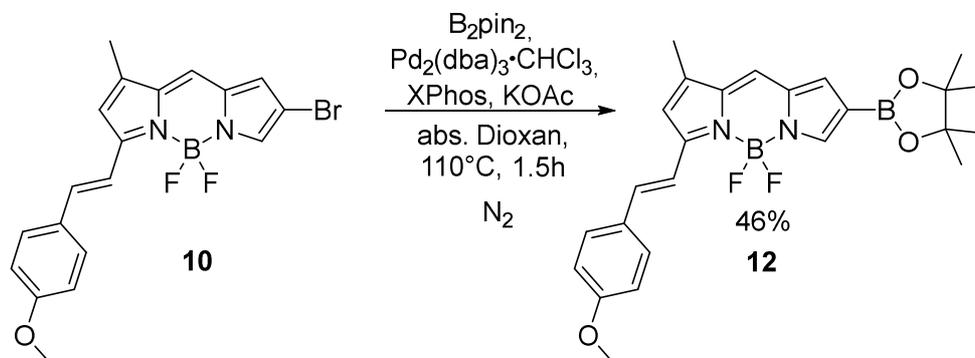
**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.59 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 8.78 Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.46 (q, <sup>3</sup>J (H,H) = 16.06 Hz, 2H), 7.05 (s, 1H), 6.96 (d, <sup>3</sup>J (H,H) = 8.78 Hz, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.06 (m, 1H), 5.45 (m, 1H), 5.34 (m, 1H), 4.61 (dt, <sup>2</sup>J (H<sub>trans</sub>,H<sub>cis</sub>) = 1.51 Hz, <sup>3</sup>J (H,H) = 5.27 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 160.7, 145.3, 142.0, 138.5, 132.7, 130.0, 128.5, 123.7, 121.1, 118.1, 117.5, 115.3, 102.7, 94.3, 68.9, 31.9, 29.4, 14.1.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -142.52 (q, J = 31.34 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>BBF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 441.05909 und m/z<sub>gemessen</sub> = 441.05909.

5.2.7. Synthese von 5-(4-Methoxy)-styryl-7-methyl-2-(4,4,5,5-tetra-methyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **12**



Schema 50: Darstellung von  $\beta$ -Borpinakol-Methoxystyryl-Bodipy **12**.

**10** (137.3 mg, 0.33 mmol) wurde zusammen mit Bis(pinakolato)diboron (340.1 mg, 1.34 mmol), Tris(dibenzylideneaceton)dipalladium(0)-Chloroform Addukt (18.0 mg, 0.02 mmol), XPhos (24.4 mg, 0.05 mmol) und Kaliumacetat (171.8 mg, 1.75 mmol) in 25 mL abs. Dioxan gelöst und für 1.5 h auf 110°C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT konnte das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt werden. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: DCM) konnte **12** (69.3 mg, 0.15 mmol, 46%) als violette Kristalle erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 8.00 (s, 1H), 7.59 (d, <sup>3</sup>J = 8.53 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.94 (d, <sup>3</sup>J = 6.78 Hz, 2H), 6.78 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 1.34 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 161.3, 145.0, 144.8, 140.7, 131.6, 129.8, 128.5, 122.2, 117.6, 114.4, 83.4, 53.4, 31.9, 29.6, 24.9, 14.0, 11.5.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -142.40 (q, J = 31.33 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

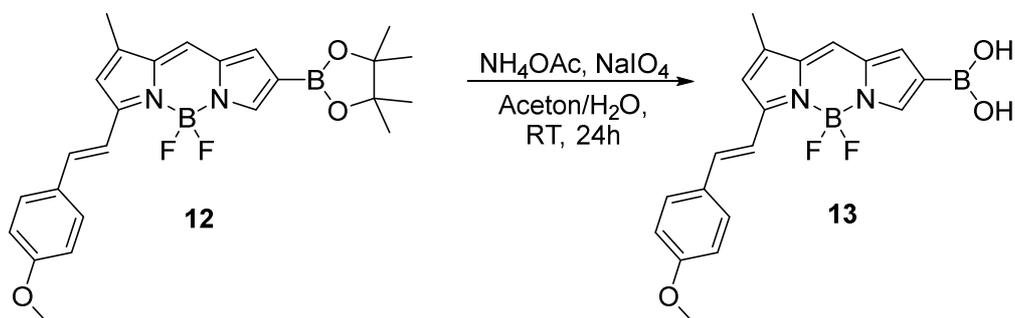
**<sup>11</sup>B-NMR** (128 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 22.56 (bs, 1B, Bpin), 0.86 (t, J = 31.30 Hz, 1B, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>B<sub>2</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 463.21814 und m/z<sub>gemessen</sub> = 463.21901.

CCDC-Nummer: 2071453.

---

### 5.2.8. Synthese von 2-Boronsäure-5-(4-methoxy)-styryl-7-methyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **13**



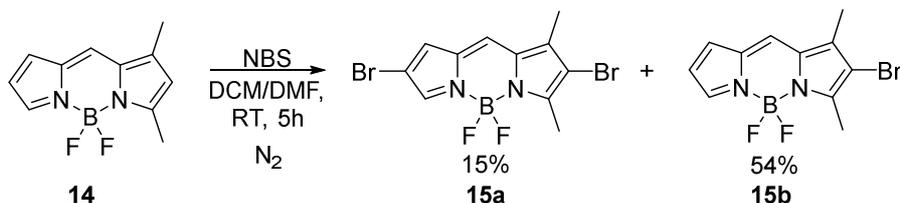
Schema 51: Entschützung des  $\beta$ -Borpinakol-Methoxystyryl-Bodipy **13**.

**12** (25.3 mg, 0.07 mmol) wurde in 3 mL Aceton gelöst. Nach Hinzufügen von 0.1 M wässriger Ammoniumacetat-Lösung (2 mL) und Natriumperiodat (51.7 mg, 0.66 mmol) wurde die Reaktionslösung 24 h bei RT gerührt. Die DC-Kontrolle zeigte die komplette Umsetzung des Eduktes. Durch Abfiltrieren über Watte konnte eine pinkfarbene Lösung erhalten werden, die ohne weitere Aufreinigung in spektroskopischen Messungen eingesetzt wurde.

$^{11}\text{B-NMR}$  (128 MHz, Aceton- $\text{d}_6$ , 25°C):  $\delta$  (ppm) = 20.30 (bs, 1B,  $\text{B}(\text{OH})_2$ ), 0.86 (t,  $J$  = 31.30 Hz, 1B,  $\text{BF}_2$ ).

MS (ESI) für  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{B}_2\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3^-$  [ $\text{M-H}$ ]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 381.13988$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 381.14089$ .

### 5.2.9. Synthese von 2-Brom-1,3-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **15**



Schema 52: Darstellung von mono- und dibromiertem Bodipy **15a** und **15b**.

**14**<sup>[109]</sup> (115.0 mg, 0.52 mmol) wurde in 40 mL einer 1:1 Mischung aus Dichlormethan und Dimethylformamid gelöst. Eine Lösung von N-Bromsuccinimid (121.9 mg, 0.68 mmol) in 10 mL Dichlormethan wurde langsam zur Bodipy-Lösung zugetropft. Nach 5 h wurde die Reaktion durch Zugabe von dest. Wasser gequencht. Die anschließende Phasentrennung und Extraktion der wässrigen Phase mit Dichlormethan führte zu einer orange-roten Lösung, die über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt wurde. Eine Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 7:3) lieferte zwei Fraktionen: **15a** als roten Feststoff (30.4 mg, 0.08 mmol, 15%) und **15b** als dunkelroten Feststoff (82.8 mg, 0.28 mmol, 54%).

#### Fraktion 1 (β-Dibrom-Bodipy): **15a**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = 7.57 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.27 (s, 3H).

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = -146.08 (q, J = 29.97 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

#### Fraktion 2 (β-Monobrom-Bodipy): **15b**

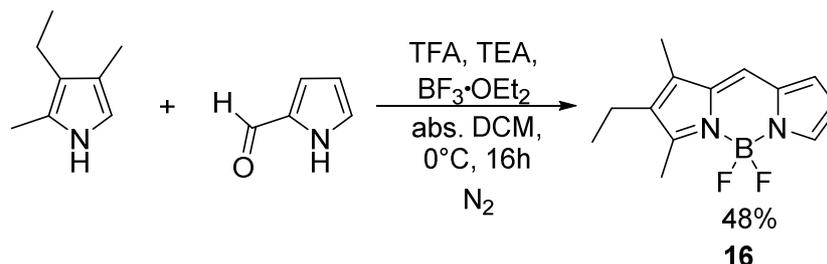
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = 7.72 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.49 (s, 1H), 2.62 (s, 3H), 2.25 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = 159.1, 141.3, 134.1, 133.0, 128.3, 125.5, 123.5, 120.7, 117.3, 111.1, 14.0, 11.2.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = -146.04 (q, J = 31.33 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

---

## 5.2.10. Synthese von 1,3-Dimethyl-2-ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **16**



Schema 53: Darstellung von Krypto-Bodipy **16**.

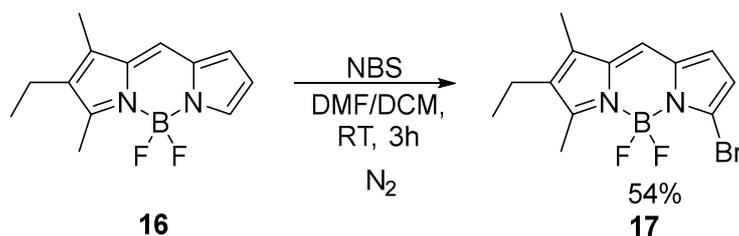
3-Ethyl-2,4-dimethylpyrrol (1.1 mL, 8.15 mmol) wurde in 30 mL abs. DCM gelöst und bei  $0^\circ\text{C}$  mit Pyrrolcarbaldehyd (669.5 mg, 7.04 mmol) und Trifluoressigsäure (0.1 mL, 1.31 mmol) versetzt. Die dunkelrot-braune Reaktionslösung wurde nach 16 h bei  $0^\circ\text{C}$  mit Triethylamin (4.0 mL, 28.86 mmol) und 5 min später mit Bortrifluorid-Diethyletherat (1 M in THF, 4.0 mL, 31.56 mmol) versetzt. Nach zusätzlichen 5 h wurde die Reaktion durch Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck beendet. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) konnte **16** als orangefarbener Feststoff (864.5 mg, 3.48 mmol, 49%) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $25^\circ\text{C}$ ):  $\delta$  (ppm) = 7.59 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.88 (d,  $^4\text{J}(\text{H,H}) = 3.51$  Hz, 1H), 6.41 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.42 (q,  $^3\text{J}(\text{H,H}) = 7.53$  Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.09 (t,  $^3\text{J}(\text{H,H}) = 7.53$  Hz, 3H).

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (377 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $25^\circ\text{C}$ ):  $\delta$  (ppm) = -146.05 (q,  $\text{J} = 31.33$  Hz, 2F,  $\text{BF}_2$ ).

MS (ESI) für  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BF}_2\text{N}_2^-$  [M-H] $^-$ :  $m/z_{\text{berechnet}} = 247.12236$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 247.12166$ .

### 5.2.11. Synthese von 3-Brom-5,7-dimethyl-6-ethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **17**



Schema 54: Darstellung von  $\alpha$ -Brom-Krypto-Bodipy **17**.

Nach Lösen von **16** (129.2 mg, 0.52 mmol) in 4 mL einer 1:1 Mischung von DMF und DCM wurde eine 1 mL DCM-Lösung von N-Bromsuccinimid (131.7 mg, 0.74 mmol) langsam zugegeben. Die Reaktion wurde 3 h bei RT gerührt und anschließend durch Zugabe von dest. Wasser gequenchet. Die entstehenden Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch ein weiteres Mal mit DCM extrahiert. Nach Vereinigung der organischen Phasen wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und am Rotationsverdampfer das Lösemittel entfernt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) konnte **17** als rote Kristalle (90.8 mg, 0.28 mmol, 54%) erhalten werden.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25°C):  $\delta$  (ppm) = 6.98 (s, 1H), 6.76 (d,  $^4J$  (H,H) = 3.76 Hz, 1H), 6.37 (d,  $^4J$  (H,H) = 3.51 Hz, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.42 (q,  $^3J$  (H,H) = 7.53 Hz, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.09 (t,  $^3J$  (H,H) = 7.53 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25°C):  $\delta$  (ppm) = 164.3, 141.0, 136.2, 135.5, 133.3, 125.5, 123.3, 121.7, 118.9, 17.3, 14.1, 13.3, 9.4.

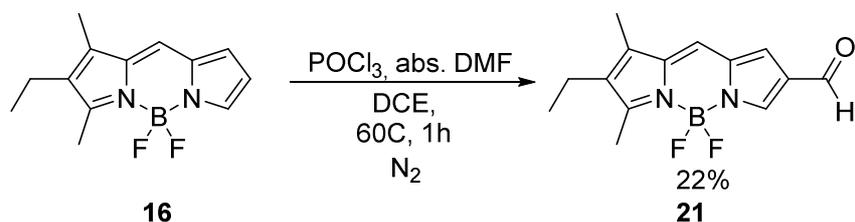
**$^{19}\text{F-NMR}$**  (377 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25°C):  $\delta$  (ppm) = -146.28 (q,  $J$  = 31.33 Hz, 2F,  $\text{BF}_2$ ).

MS (ESI) für  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{BBBrF}_2\text{N}_2^-$  [ $\text{M-H}$ ]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 325.03287$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 325.03205$ .

$\Phi_{\text{Fl}}$  (DCM) =  $23 \pm 5\%$  und  $\tau_{\text{Fl}}$  (DCM) =  $1.8 \pm 0.1$  ns (Spektren siehe Anhang: Abbildung 170).

---

## 5.2.12. Synthese von 5,7-Dimethyl-6-ethyl-2-formyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **21**



Schema 55: Darstellung von  $\beta$ -Formyl-Krypto-Bodipy **21**.

Absolutes DMF (9.1 mL, 117.0 mmol) wurde bei 0°C mit Phosphoroxychlorid (5.5 mL, 58.8 mmol) versetzt. Nach 5 min wurde das Eisbad entfernt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde **16** (280.1 mg, 1.13 mmol) in 50 mL Dichlorethan gelöst und tropfenweise in die DMF-POCl<sub>3</sub>-Lösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei 60°C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde langsam 0°C gekühlte ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung zugetropft. Die erkalteten Phasen wurden anschließend getrennt und die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und am Rotationsverdampfer zu einem gelben Öl eingengt. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 5:95) lieferte **21** (70.0 mg, 0.25 mmol, 22%) als roten Feststoff.

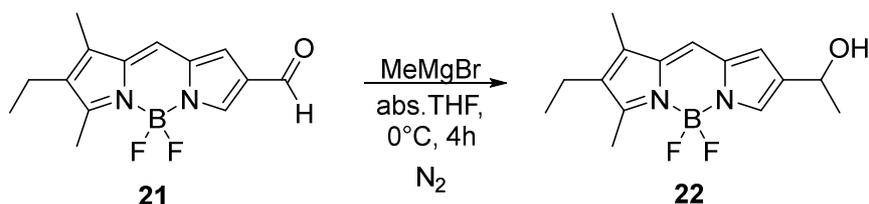
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 9.84 (s, 1H, CHO), 8.00 (s, 1H), 7.21 (2 x s, 2 x 1H), 2.64 (s, 3H), 2.46 (q, <sup>3</sup>J (H, H) = 7.78 Hz, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.12 (t, <sup>3</sup>J (H, H) = 7.78 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 185.1, 169.4, 143.0, 139.8, 139.1, 137.5, 134.2, 132.4, 130.5, 129.5, 123.5, 121.1, 17.3, 14.1, 13.9, 9.6.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -145.68 (q, J = 31.33 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

---

### 5.2.13. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(ethan-1-ol)-6-ethyl-4,4'-difluorobora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **22**



Schema 56: Darstellung von  $\beta$ -Hydroxy-Krypto-Bodipy **22**.

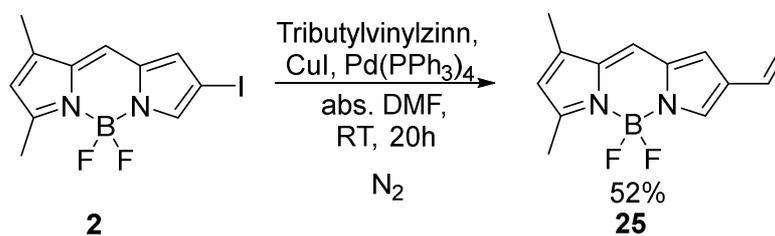
**21** (60.0 mg, 0.22 mmol) wurde in 6 mL abs. THF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Anschließend erfolgte die Zugabe einer 1 M Methylmagnesiumbromid- THF-Lösung (35  $\mu$ L, 0.29 mmol) bei 0°C. Nach 4 h bei 0°C wurde die Reaktion durch Zugabe von dest. Wasser beendet. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingedampft und säulenchromatographisch (Kieselgel, Eluent: PE/DCM/EE 4:4:2) zu einem roten Feststoff (**22**, Ausbeute n.b.) aufgereinigt.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.58 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.98 (m, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.41 (q, <sup>3</sup>J (H, H) = 7.78 Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.59 (bs, 1H, OH), 1.53 (d, <sup>3</sup>J (H, H) = 6.53 Hz, 3H), 1.09 (t, <sup>3</sup>J (H, H) = 7.53 Hz, 3H).

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -146.21 (m, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sup>-</sup> [M-H]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 291.14858$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 291.14870$ .

## 5.2.14. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-vinyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza(s)-indacen **25**



Schema 57: Darstellung von  $\beta$ -Vinyl-Bodipy **25**.

Nach Lösen von **2**<sup>[17]</sup> (179.6 mg, 0.52 mmol) in 5 mL abs. DMF, wurden Kupferiodid (23.9 mg, 0.13 mmol) und Palladiumtetrakis(triphenylphosphin) (8.5 mg, 0.01 mmol) hinzugefügt. Die Zugabe von Tributylvinylzinn (230  $\mu$ L, 0.79 mmol) erfolgte nach 5 min. Die Reaktion wurde 20 h bei RT gerührt und anschließend unter Hochvakuum bis zur Trockene eingedampft. Durch die säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1) konnte **25** als lilafarbener Feststoff (65.4 mg, 0.27 mmol, 52%) erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.71 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.56 (dd, <sup>3</sup>J (H,H<sub>cis</sub>) = 11.04 Hz, <sup>3</sup>J (H,H<sub>trans</sub>) = 17.57 Hz, 1H), 6.17 (s, 1H), 5.54 (dd, <sup>3</sup>J (H<sub>trans</sub>,H) = 17.57 Hz, <sup>2</sup>J (H<sub>cis</sub>,H<sub>trans</sub>) = 1.25 Hz, 1H), 5.14 (dd, <sup>3</sup>J (H<sub>cis</sub>,H) = 10.79 Hz, <sup>2</sup>J (H<sub>trans</sub>,H<sub>cis</sub>) = 1.25 Hz, 1H), 2.60 (s, 3H), 2.28 (s, 3H).

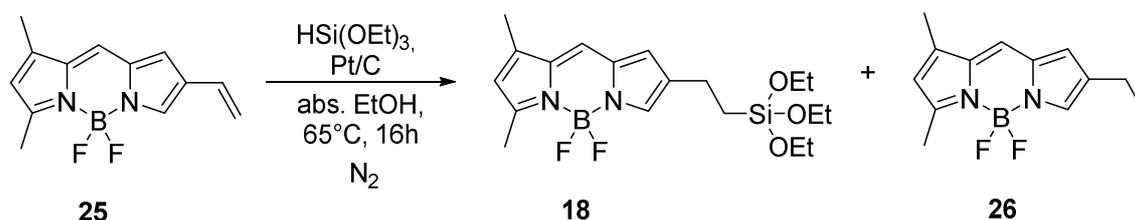
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 163.4, 145.7, 137.8, 132.9, 130.5, 128.5, 124.4, 121.9, 121.3, 120.6, 112.8, 15.2, 11.4.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -145.52 (q, J = 31.33 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub><sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 245.10671 und m/z<sub>gemessen</sub> = 245.10682.

---

## 5.2.15. Synthese von 5,7-Dimethyl-2-(triethoxysilyl)ethyl-4,4'-difluorobora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **18** und **26**



Schema 58: Darstellung von  $\beta$ -Ethyl-Silan-Bodipy **18** und dem Nebenprodukt  $\beta$ -Ethyl-Bodipy **26**.

Der verwendete Schlenk Kolben wurde mit einer Trimethylsilylchlorid in Chloroform-Mischung mehrmals ausgespült, mit Aceton nachgespült und anschließend einige Tage im Trockenschrank getrocknet. **25** (25.2 mg, 0.10 mmol) wurde in 7 mL abs. Ethanol unter Stickstoff gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von Triethoxysilan (650  $\mu$ L, 3.52 mmol) und Pt/C 5wt% (22.6 mg, 0.12 mmol). Nach 16 h Erhitzen auf 65°C wurde die Reaktionsmischung auf RT abgekühlt, über Watte abfiltriert und unter Hochvakuum zu einem grünen öligen Rückstand getrocknet. Teile davon wurden über Säulenchromatographie aufgereinigt (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1).

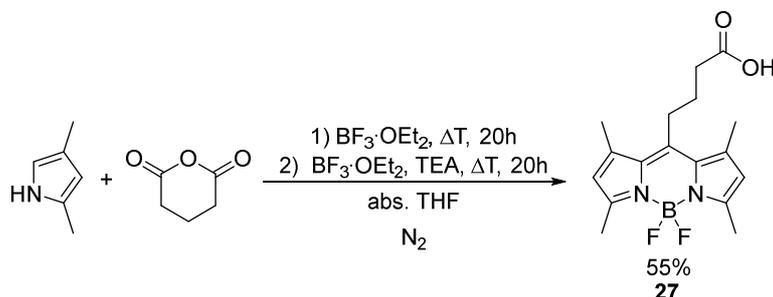
### Fraktion 1: **26**

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 7.53 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.12 (s, 1H), 2.57 (s, 3H), 2.52 (q, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.53 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.22 (t, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.78 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 161.4, 144.6, 139.3, 135.8, 135.0, 132.9, 125.0, 124.1, 120.4, 19.8, 15.0, 14.5, 11.3.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -145.65 (q, J = 31.33 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

## 5.2.16. Synthese von 1,3,7,9-Tetramethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen-butansäure **27**



Schema 59: Darstellung des Carbonsäure-Bodipys **27**.

2,4-Dimethylpyrrol (3.6 mL, 36.0 mmol), Glutarsäureanhydrid (2.02 g, 17.5 mmol) und Bortrifluorid-Diethyletherat (5.0 mL, 39.0 mmol) wurden zusammen in abs. THF gelöst und auf 80°C zum Rückfluss erhitzt. Nach 20 h wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und erneut mit Bortrifluorid-Diethyletherat (12.1 mL, 95.0 mmol) und Triethylamin (20.0 mL, 184.0 mmol) versetzt. Nach 20 h bei 60°C wurde die erkaltete Lösung durch Zugabe von dest. H<sub>2</sub>O und DCM extrahiert. Die wässrige Phase wurde zusätzlich dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und durch Verdampfen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck zu einem Feststoff eingengt. Dieser wurde säulenchromatographisch (Kieselgel, Eluent: PE/EE/HOAc 8:4:0.5) zu einem braunen Feststoff aufgereinigt. Die anschließende Extraktion mit H<sub>2</sub>O und DCM, mit Trocknung über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Einengen unter Vakuum, führte zu **27** als rot-braunem Feststoff (3.22 g, 9.63 mmol, 55%).

(Hinweis: NMR- und MS-Daten im Anhang nicht gezeigt, da literaturbekannt)

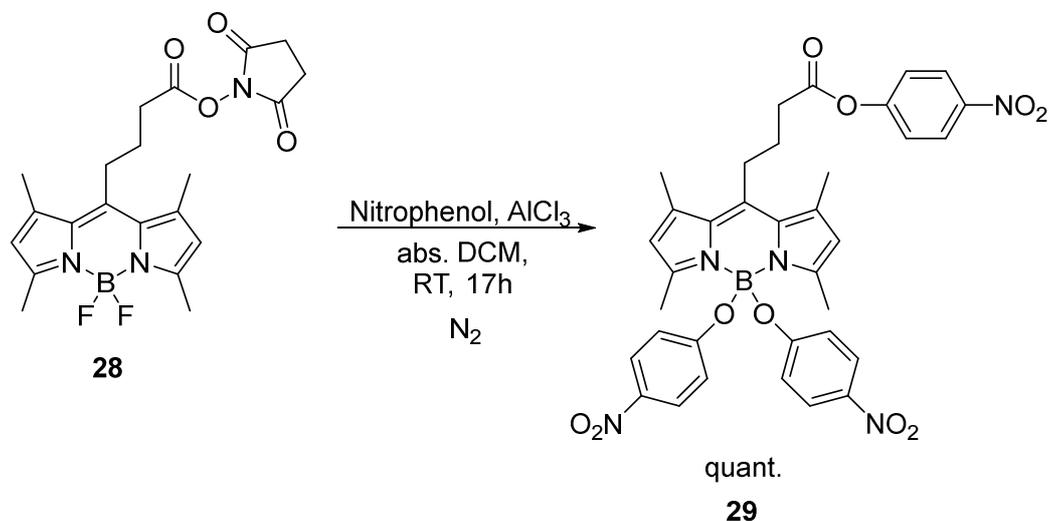
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 6.07 (s, 2H), 3.01-3.05 (m, 2H), 2.56 (t, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.43 (s, 6H), 1.94-2.02 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 177.8, 154.3, 144.6, 140.3, 131.4, 121.8, 33.9, 27.3, 26.5, 16.3, 14.4.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -146.55 (m, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>BF<sub>2</sub><sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z_{\text{berechnet}} = 333.15914$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 333.16$ .

## 5.2.17. Synthese von 1,3,7,9-Tetramethyl-4,4'-dinitrophenoxy-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen-nitrophenoxybutanoate **29**



Schema 60: Darstellung des Nitrophenol-Bodipys **29**.

Sowohl **28**<sup>[19,344]</sup> (270.0 mg, 0.63 mmol), als auch das Nitrophenol (485.8 mg, 3.49 mmol) wurden in 30 mL bzw. 15 mL abs DCM gelöst. Nach Zugabe von Aluminiumtrichlorid (251.1 mg, 1.88 mmol) zur Bodipy-DCM-Lösung, wurde die Nitrophenol-Lösung langsam bei RT zur Bodipy-Lösung zugegeben. Durch Verdampfen des Lösemittels unter vermindertem Druck, wurde die Reaktion nach 17 h beendet. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, Eluent: PE/EE 7:3) mit anschließenden mehrmaligen Waschvorgängen mit dest. Wasser lieferte **29** (435.7 mg, 0.63 mmol, quant.) als orange-farbene Kristalle.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = 8.32-8.34 (m, 2H), 7.96-7.99 (m, 4H), 7.34-7.36 (m, 2H), 6.55-6.58 (m, 4H), 6.07 (s, 2H), 3.31 (m, 2H), 2.90 (t, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.03 Hz, 2H), 2.54 (s, 6H), 2.44 (s, 6H), 2.15 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C): δ (ppm) = 170.5, 170.0, 155.5, 155.0, 144.9, 141.8, 140.8, 131.9, 125.8, 125.4, 123.1, 122.3, 69.0, 62.2, 60.4, 34.0, 29.7, 27.4, 26.8, 20.9, 20.7, 16.8, 14.9, 13.1.

MS (ESI) für C<sub>35</sub>H<sub>31</sub>BN<sub>5</sub>O<sub>10</sub><sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: m/z<sub>berechnet</sub> = 692.21695 und m/z<sub>gemessen</sub> = 692.21260.

---

## 6. Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891–4932.
- [2] G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 1184–1201.
- [3] C. S. Kue, S. Y. Ng, S. H. Voon, A. Kamkaew, L. Y. Chung, L. V. Kiew, H. B. Lee, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2018**, *17*, 1691–1708.
- [4] A. Turksoy, D. Yildiz, E. U. Akkaya, *Coord. Chem. Rev.* **2019**, *379*, 47–64.
- [5] N. Boens, B. Verbelen, W. Dehaen, *European J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 6577–6595.
- [6] A. Treibs, F. Kreuzer, *Justus Liebig's Ann. Chem.* **1968**, *718*, 208–223.
- [7] P.-H. Chung, C. Tregidgo, K. Suhling, *Methods Appl. Fluoresc.* **2016**, *4*, 045001–045009.
- [8] R. J. Johnson, M. S. Segal, Y. Sautin, T. Nakagawa, D. I. Feig, D. H. Kang, M. S. Gersch, S. Benner, L. G. Sánchez-Lozada, *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *86*, 899–906.
- [9] V. S. Malik, B. M. Popkin, G. A. Bray, J. P. Després, F. B. Hu, *Circulation* **2010**, *121*, 1356–1364.
- [10] J. B. Ernst, U. Arens-Azevêdo, B. Bitzer, A. Bosity-Westphal, M. de Zwaan, S. Egert, A. Fritsche, S. Gerlach, H. Hauner, H. Hesecker, B. Koletzko, D. Müller-Wieland, M. Schulze, K. Vrimani, B. Watzl, A. E. Buyken, *Dtsch. Adipositas-Gesellschaft, Dtsch. Diabetes Gesellschaft, Dtsch. Gesellschaft für Ernährung. Bonn*, **2018**, 1–32.
- [11] BMEL, "Pro-Kopf-Konsum von Zucker in Deutschland in den Jahren 1950/51 bis 2018/19 (in Kilogramm Weißzuckerwert). Statista. Statista GmbH, Zugriffsdatum: 30.10.," **2021**.
- [12] M. Scholz, C. Hoffmann, J. R. Klein, M. Wirtz, G. Jung, K. Oum, *Z. Phys. Chem* **2020**, *234*, 1735–1758.
- [13] C. Hoffmann, T. Stemler, I. M. Hierlmeier, S. Maus, E. Krause, S. Ezziddin, G. Jung, M. D. Bartholomä, *ChemMedChem* **2021**, *16*, 2535–2545.
- [14] C. Hoffmann, M. Jourdain, A. Grandjean, A. Titz, G. Jung, *Anal. Chem.* **2021**, *submitted*.
- [15] A. Rybina, C. Lang, M. Wirtz, K. Grußmayer, A. Kurz, F. Maier, A. Schmitt, O. Trapp, G. Jung, D. P. Herten, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 6322–6325.
- [16] M. Wirtz, A. Grüter, P. Rebmann, T. Dier, D. A. Volmer, V. Huch, G. Jung, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12694–12697.
- [17] M. Wirtz, Fluorescent Toolboxes for Reaction Monitoring in Microscopy and on the Single-Molecule Level, Universität des Saarlandes, **2015**.
- [18] E. A. Haidasz, A. T. M. Van Kessel, D. A. Pratt, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 737–744.
- [19] D. Wang, J. Fan, X. Gao, B. Wang, S. Sun, X. Peng, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7675–7683.
- [20] Z. Li, E. Mintzer, R. Bittman, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1718–1721.
- [21] J. Karolin, L. B. A. Johansson, L. Strandberg, T. Ny, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7801–7806.

- 
- [22] H. T. Bui, D. K. Mai, B. Kim, K. H. Choi, B. J. Park, H. J. Kim, S. Cho, *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*, 5601–5607.
- [23] A. C. Scanone, S. C. Santamarina, D. A. Heredia, E. N. Durantini, A. M. Durantini, *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 1061–1070.
- [24] P. Kaur, K. Singh, *J. Mater. Chem. C* **2019**, *7*, 11361–11405.
- [25] J. B. Wang, Q. Q. Wu, Y. Z. Min, Y. Z. Liu, Q. H. Song, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 744–746.
- [26] Y. Ni, J. Wu, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 3774–3791.
- [27] B. Sui, S. Tang, T. Liu, B. Kim, K. D. Belfield, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 18408–18412.
- [28] A. M. Courtis, S. A. Santos, Y. Guan, J. A. Hendricks, B. Ghosh, D. M. Szantai-Kis, S. A. Reis, J. V. Shah, R. Mazitschek, *Bioconjug. Chem.* **2014**, *25*, 1043–1051.
- [29] C. Ray, C. Schad, F. Moreno, B. L. Maroto, J. Bañuelos, T. Arbeloa, I. García-Moreno, C. Villafuerte, G. Muller, S. de la Moya, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 4594–4601.
- [30] A. Prieto-Castañeda, E. Avellanal-Zaballa, L. Gartzia-Rivero, L. Cerdán, A. R. Agarrabeitia, I. García-Moreno, J. Bañuelos, M. J. Ortiz, *ChemPhotoChem* **2018**, *3*, 75–85.
- [31] J. Bañuelos, V. Martín, C. F. A. Gómez-Durán, I. J. A. Córdoba, E. Peña-Cabrera, I. García-Moreno, Á. Costela, M. E. Pérez-Ojeda, T. Arbeloa, Í. L. Arbeloa, *Chem. - A Eur. J.* **2011**, *17*, 7261–7270.
- [32] A. Costela, I. García-Moreno, M. Pintado-Sierra, F. Amat-Guerri, M. Liras, R. Sastre, F. L. Arbeloa, J. B. Prieto, I. L. Arbeloa, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2008**, *198*, 192–199.
- [33] S. Baysec, A. Minotto, P. Klein, S. Poddi, A. Zampetti, S. Allard, F. Cacialli, U. Scherf, *Sci. China Chem.* **2018**, *61*, 932–939.
- [34] Q. P. B. Nguyen, H. M. Hwang, M. S. Song, H. J. Song, G. H. Kim, J. H. Kwon, N. Y. Shim, K. Y. Chai, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2014**, *35*, 1247–1250.
- [35] D. A. Merkushev, S. D. Usoltsev, Y. S. Marfin, A. P. Pushkarev, D. Volyniuk, J. V. Grazulevicius, E. V. Rummyantsev, *Mater. Chem. Phys.* **2017**, *187*, 104–111.
- [36] C. L. Liu, Y. Chen, D. P. Shelar, C. Li, G. Cheng, W. F. Fu, *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2*, 5471–5478.
- [37] I. Bulut, Q. Huauilmé, A. Mirloup, P. Chávez, S. Fall, A. Hébraud, S. Méry, B. Heinrich, T. Heiser, P. Lévêque, N. Leclerc, *ChemSusChem* **2017**, *10*, 1878–1882.
- [38] B. Liu, Z. Ma, Y. Xu, Y. Guo, F. Yang, D. Xia, C. Li, Z. Tang, W. Li, *J. Mater. Chem. C* **2020**, *8*, 2232–2237.
- [39] Y. Kubota, K. Kimura, J. Jin, K. Manseki, K. Funabiki, M. Matsui, *New J. Chem.* **2019**, *43*, 1156–1165.
- [40] J. Marques Dos Santos, L. K. Jagadamma, N. M. Latif, A. Ruseckas, I. D. W. Samuel, G. Cooke, *RSC Adv.* **2019**, *9*, 15410–15423.
- [41] N. Boens, V. Leen, W. Dehaen, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1130–1172.
- [42] A. Orte, E. Debroye, M. J. Ruedas-Rama, E. Garcia-Fernandez, D. Robinson, L.
-

- 
- Crovetto, E. M. Talavera, J. M. Alvarez-Pez, V. Leen, B. Verbelen, L. Cunha Dias De Rezende, W. Dehaen, J. Hofkens, M. Van Der Auweraer, N. Boens, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 102899–102913.
- [43] F. Bergström, I. Mikhalyov, P. Hägglöf, R. Wortmann, T. Ny, L. B.-A. Johansson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 196–204.
- [44] H. Lu, J. Mack, T. Nyokong, N. Kobayashi, Z. Shen, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *318*, 1–15.
- [45] J. Bañuelos Prieto, F. López Arbeloa, V. Martínez Martínez, I. López Arbeloa, *Chem. Phys.* **2004**, *296*, 13–22.
- [46] H. Lu, J. Mack, Y. Yang, Z. Shen, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 4778–4823.
- [47] L. Gai, J. Mack, H. Lu, H. Yamada, D. Kuzuhara, G. Lai, Z. Li, Z. Shen, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 1091–1102.
- [48] I. K. Petrushenko, K. B. Petrushenko, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *138*, 623–627.
- [49] T. Hecht, *Physikalische Grundlagen Der IR-Spektroskopie, Essentials*, Springer Fachmedien, Wiesbaden, **2019**.
- [50] V. E. Matulis, E. G. Ragoyja, O. A. Ivashkevich, *Int. J. Quantum Chem.* **2020**, *120*, 1–8.
- [51] I. Esnal, J. Bañuelos, I. López Arbeloa, A. Costela, I. Garcia-Moreno, M. Garzón, A. R. Agarrabeitia, M. José Ortiz, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 1547–1556.
- [52] M. Gupta, S. Mula, M. Tyagi, T. K. Ghanty, S. Murudkar, A. K. Ray, S. Chattopadhyay, *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 17766–17772.
- [53] L. Yang, R. S. Yalagala, S. Hutton, A. Lough, H. Yan, *Synlett* **2014**, *25*, 2661–2664.
- [54] S. Datta, D. A. Lightner, *Monatshefte für Chemie* **2008**, *139*, 1519–1529.
- [55] S. Zhu, J. Bi, G. Vegesna, J. Zhang, F. T. Luo, L. Valenzano, H. Liu, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 4793–4800.
- [56] K. A. Mariewskaya, D. Larkin, Y. Samoilichenko, V. Korshun, A. Ustinov, *ChemRxiv* **2020**, *1*, 1–13.
- [57] N. Boens, L. Wang, V. Leen, P. Yuan, B. Verbelen, W. Dehaen, M. Van Der Auweraer, W. D. De Borggraeve, L. Van Meervelt, J. Jacobs, D. Beljonne, C. Tonnelé, R. Lazzaroni, M. J. Ruedas-Rama, A. Orte, L. Crovetto, E. M. Talavera, J. M. Alvarez-Pez, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 1576–1594.
- [58] F. Lv, Y. Yu, E. Hao, C. Yu, H. Wang, N. Boens, L. Jiao, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 5121–5128.
- [59] G. Mirri, D. C. Schoenmakers, P. H. J. Kouwer, P. Veranič, I. Mušević, B. Štefane, *ChemistryOpen* **2016**, *5*, 450–454.
- [60] S. Kim, J. Bouffard, Y. Kim, *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 17459–17465.
- [61] G. Duran-Sampedro, A. R. Agarrabeitia, I. Garcia-Moreno, A. Costela, J. Bañuelos, T. Arbeloa, I. López Arbeloa, J. L. Chiara, M. J. Ortiz, *European J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 6335–6350.
- [62] A. B. Descalzo, H. J. Xu, Z. L. Xue, K. Hoffmann, Z. Shen, M. G. Weller, X. Z. You, K.

- 
- Rurack, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1581–1584.
- [63] Z. B. Sun, M. Guo, C. H. Zhao, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 229–237.
- [64] Y. Gobo, M. Yamamura, T. Nakamura, T. Nabeshima, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2719–2721.
- [65] S. Yamazawa, M. Nakashima, Y. Suda, R. Nishiyabu, Y. Kubo, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 1310–1315.
- [66] Z. Zhou, J. Zhou, L. Gai, A. Yuan, Z. Shen, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 6621–6624.
- [67] V. Leen, T. Leemans, N. Boens, W. Dehaen, *European J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 4386–4396.
- [68] E. Palao, G. Duran-Sampedro, S. De La Moya, M. Madrid, C. García-López, A. R. Agarrabeitia, B. Verbelen, W. Dehaen, N. Boens, M. J. Ortiz, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3700–3710.
- [69] A. B. Nepomnyashchii, M. Bröring, J. Ahrens, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8633–8645.
- [70] C. Baslak, A. N. Kursunlu, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2018**, *17*, 1091–1097.
- [71] H. Sunahara, Y. Urano, H. Kojima, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5597–5604.
- [72] V. Leen, P. Yuan, L. Wang, N. Boens, W. Dehaen, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 6150–6153.
- [73] F. Frank, L. M. Alice, P. Mauker, A. A. Alsimaree, P. G. Waddell, M. R. Probert, T. J. Penford, J. G. Knight, M. J. Hall, *Tetrahedron* **2020**, *76*, 131113–131120.
- [74] A. Schmitt, B. Hinkeldey, B. Hötzer, G. Jung, *J. Phys. Org. Chem.* **2009**, *22*, 1233–1238.
- [75] M. H. Chua, T. Kim, Z. L. Lim, T. Y. Gopalakrishna, Y. Ni, J. Xu, D. Kim, J. Wu, *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24*, 2232–2241.
- [76] S. Hoogendoorn, A. E. M. Blom, L. I. Willems, G. A. Van Der Marel, H. S. Overkleeft, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5656–5659.
- [77] Y. V. Zatsikha, T. S. Blesener, A. J. King, A. T. Healy, P. C. Goff, N. O. Didukh, D. A. Blank, Y. P. Kovtun, V. N. Nemykin, *J. Phys. Chem. B* **2021**, *125*, 360–371.
- [78] O. Buyukcakir, O. A. Bozdemir, S. Kolemen, S. Erbas, E. U. Akkaya, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4644–4647.
- [79] J. M. Merkes, T. Lammers, R. Kancherla, M. Rueping, F. Kiessling, S. Banala, *Adv. Opt. Mater.* **2020**, *8*, 1–9.
- [80] P. Majumdar, X. Yuan, S. Li, B. Le Guennic, J. Ma, C. Zhang, D. Jacquemin, J. Zhao, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 2838–2854.
- [81] K. X. Teng, L. Y. Niu, J. Li, L. Jia, Q. Z. Yang, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 13761–13764.
- [82] S. A. Garwin, M. S. Kelley, A. C. Sue, E. L. Que, G. C. Schatz, T. K. Woodruff, T. V. O'Halloran, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 16696–16705.
- [83] I. Esnal, G. Duran-Sampedro, A. R. Agarrabeitia, J. Bañuelos, I. García-Moreno, M. A. Macías, E. Peña-Cabrera, I. López-Arbeloa, S. De La Moya, M. J. Ortiz, *Phys. Chem.*
-

- 
- Chem. Phys.* **2015**, *17*, 8239–8247.
- [84] W. Qin, T. Rohand, W. Dehaen, J. N. Clifford, K. Driesen, D. Beljonne, B. Van Averbeke, M. Van Der Auweraer, N. Boens, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 8588–8597.
- [85] T. Rohand, J. Lycoops, S. Smout, E. Braeken, M. Sliwa, M. Van Der Auweraer, W. Dehaen, W. M. De Borggraeve, N. Boens, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 1061–1066.
- [86] T. Rohand, M. Baruah, W. Qin, N. Boens, W. Dehaen, *Chem. Commun.* **2006**, *2006*, 266–268.
- [87] X. Zhou, Q. Wu, Y. Yu, C. Yu, E. Hao, Y. Wei, X. Mu, L. Jiao, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 736–739.
- [88] V. Leen, V. Z. Gonzalvo, W. M. Deborggraeve, N. Boens, W. Dehaen, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4908–4910.
- [89] B. Verbelen, S. Boodts, J. Hofkens, N. Boens, W. Dehaen, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, *54*, 4612–4616.
- [90] V. Leen, E. Braeken, K. Luckermans, C. Jackers, M. Van Der Auweraer, N. Boens, W. Dehaen, *Chem. Commun.* **2009**, 4515–4517.
- [91] C. W. Wan, A. Burghart, J. Chen, F. Bergström, L. B.-A. Johansson, M. F. Wolford, T. G. Kim, M. R. Topp, R. M. Hochstrasser, K. Burgess, *Chem. - A Eur. J.* **2003**, *9*, 4430–4441.
- [92] P. E. Sonnet, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 925–929.
- [93] W. Ren, H. Xiang, C. Peng, Z. Musha, J. Chen, X. Li, R. Huang, Y. Hu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 5542–5549.
- [94] J. Wang, Q. Wu, Q. Gong, K. Cheng, Q. Liu, C. Yu, E. Hao, L. Jiao, *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361*, 769–777.
- [95] C. Thivierge, R. Bandichhor, K. Burgess, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2135–2138.
- [96] L. Jiao, C. Yu, J. Li, Z. Wang, M. Wu, E. Hao, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7525–7528.
- [97] L. Bonardi, G. Ulrich, R. Ziessel, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2183–2186.
- [98] Y. Chen, J. Zhao, L. Xie, H. Guo, Q. Li, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 3942–3953.
- [99] T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12162–12163.
- [100] C. Thivierge, J. Han, R. M. Jenkins, K. Burgess, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5219–5228.
- [101] L. Wang, J. W. Wang, A. J. Cui, X. X. Cai, Y. Wan, Q. Chen, M. Y. He, W. Zhang, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 9219–9222.
- [102] L. Jiao, W. Pang, J. Zhou, Y. Wei, X. Mu, G. Bai, E. Hao, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9988–9996.
- [103] X. Zhou, C. Yu, Z. Feng, Y. Yu, J. Wang, E. Hao, Y. Wei, X. Mu, L. Jiao, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4632–4635.
- [104] B. F. Hohlfeld, B. Gitter, K. J. Flanagan, C. J. Kingsbury, N. Kulak, M. O. Senge, A. Wiehe, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 2416–2431.
-

- 
- [105] S. Niu, G. Ulrich, P. Retailleau, R. Ziessel, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4848–4853.
- [106] A. Maity, A. Sarkar, A. Sil, S. B. Shivakiran, S. K. Patra, *New J. Chem.* **2017**, *41*, 2296–2308.
- [107] J. Strahan, B. C. Popere, P. Khomein, C. A. Pointer, S. M. Martin, A. N. Oldacre, S. Thayumanavan, E. R. Young, *Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 8488–8501.
- [108] N. Netz, C. Díez-Poza, A. Barbero, T. Opatz, *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 4580–4599.
- [109] A. M. Huynh, J. Menges, M. Vester, T. Dier, V. Huch, D. A. Volmer, G. Jung, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 433–442.
- [110] N. Zhao, S. Xuan, F. R. Fronczek, K. M. Smith, M. G. H. Vicente, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8377–8383.
- [111] V. Leen, D. Miscoria, S. Yin, A. Filarowski, J. Molisho Ngongo, M. Van Der Auweraer, N. Boens, W. Dehaen, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8168–8176.
- [112] G. Durán-Sampedro, A. R. Agarrabeitia, L. Cerdán, M. E. Pérez-Ojeda, A. Costela, I. García-Moreno, I. Esnal, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, M. J. Ortiz, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 4195–4205.
- [113] G. Zhang, M. Wang, F. R. Fronczek, K. M. Smith, M. G. H. Vicente, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 14493–14496.
- [114] C. Tahtaoui, C. Thomas, F. Rohmer, P. Klotz, G. Duportail, Y. Mély, D. Bonnet, M. Hibert, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 269–272.
- [115] T. Amamoto, T. Hirata, H. Takahashi, M. Kamiya, Y. Urano, T. Santa, M. Kato, *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 7427–7433.
- [116] B. Brizet, C. Bernhard, Y. Volkova, Y. Rousselin, P. D. Harvey, C. Goze, F. Denat, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7729–7737.
- [117] Y. Kubota, J. Uehara, K. Funabiki, M. Ebihara, M. Matsui, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6195–6198.
- [118] C. Goze, G. Ulrich, L. J. Mallon, B. D. Allen, A. Harriman, R. Ziessel, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10231–10239.
- [119] G. Ulrich, C. Goze, S. Goeb, P. Retailleau, R. Ziessel, *New J. Chem.* **2006**, *30*, 982–986.
- [120] H. Kim, K. Kim, S. H. Son, J. Y. Choi, K. H. Lee, B. T. Kim, Y. Byun, Y. S. Choe, *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10*, 1445–1451.
- [121] E. J. Keliher, J. A. Klubnick, T. Reiner, R. Mazitschek, R. Weissleder, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 1368–1373.
- [122] J. A. Hendricks, E. J. Keliher, D. Wan, S. A. Hilderbrand, R. Weissleder, R. Mazitschek, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2012**, *51*, 4603–4606.
- [123] B. Brizet, V. Goncalves, C. Bernhard, P. D. Harvey, F. Denat, C. Goze, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 12933–12944.
- [124] N. Kondo, T. Temma, J. Deguchi, K. Sano, M. Ono, H. Saji, *J. Control. Release* **2015**, *220*, 476–483.
- [125] C. P. Ortmeyer, G. Haufe, K. Schwegmann, S. Hermann, M. Schäfers, F. Börgel, B.

- 
- Wünsch, S. Wagner, V. Hugenberg, *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, *25*, 2167–2176.
- [126] A. Paulus, N. Drude, E. B. M. Nascimento, E. M. Buhl, J. F. P. Berbée, P. C. N. Rensen, W. D. Van Marken Lichtenbelt, F. M. Mottaghy, M. Bauwens, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1–9.
- [127] Y. Do Kwon, Y. Byun, H. K. Kim, *Nucl. Med. Biol.* **2021**, *93*, 22–36.
- [128] K. Yuan, G. Yousefalizadeh, F. Saraci, T. Peng, I. Kozin, K. G. Stamplecoskie, S. Wang, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 14698–14704.
- [129] Y. Ge, D. F. O’Shea, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 3846–3864.
- [130] IUPAC, *Eur. J. Biochem.* **1971**, *21*, 422–477.
- [131] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie, 1. Edition*, VCH, Weinheim, **1992**.
- [132] C. S. Hudson, *J. Chem. Educ.* **1941**, *18*, 353–357.
- [133] E. Fischer, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1894**, *27*, 2985–2993.
- [134] “Emil Fischer – Biographical. NobelPrize.org. Nobel Media AB. <<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1902/fischer/biographical/>> Zugriffsdatum: 15.04.,” **2020**.
- [135] J. A. Magner, *Endocrinologist* **2004**, *14*, 239–244.
- [136] F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chemie Int. Ed.* **1992**, *31*, 1541–1556.
- [137] E. Fischer, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1891**, *24*, 1836–1845.
- [138] E. Fischer, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1891**, *24*, 2683–2687.
- [139] H. Kunz, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41*, 4439–4451.
- [140] F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chemie Int. Ed.* **1995**, *33*, 2364–2374.
- [141] T. M. Lowry, *J. Chem. Soc. Trans.* **1899**, *75*, 211–244.
- [142] C. S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.* **1910**, *32*, 889–894.
- [143] R. Kuhn, L. Birkofer, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1938**, *71*, 1535–1541.
- [144] M. A. Kabayama, D. Patterson, *Can. J. Chem.* **1958**, *36*, 563–573.
- [145] J. H. Pazur, F. J. Miskiel, B. Liu, *J. Chromatogr.* **1987**, *396*, 139–141.
- [146] T. E. Acree, R. S. Shallenberger, C. Y. Lee, J. W. Einset, *Carbohydr. Res.* **1969**, *10*, 355–360.
- [147] C. S. Hudson, J. K. Dale, *J. Am. Chem. Soc.* **1917**, *39*, 320–328.
- [148] C. Liébecq, Ed. , *Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2. Edition*, Portland Press, Portland, **1992**.
- [149] S. J. Angyal, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1984**, *42*, 15–68.
- [150] S. J. Angyal, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1991**, *49*, 19–35.
- [151] R. E. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 1499–1506.
- [152] E. L. Eliel, C. A. Lukach, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 5986–5992.
- [153] D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, A. Bohn, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 3358–

---

3393.

- [154] P. Mergenthaler, U. Lindauer, G. A. Dienel, A. Meisel, *Trends Neurosci.* **2013**, *36*, 587–597.
- [155] A. Boles, R. Kandimalla, P. H. Reddy, *Biochim. Biophys. Acta* **2017**, *1863*, 1026–1036.
- [156] G. Fang, H. Wang, Z. Bian, J. Sun, A. Liu, H. Fang, B. Liu, Q. Yao, Z. Wu, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 29400–29427.
- [157] K. E. Pinnick, L. Hodson, *J. Physiol.* **2019**, *597*, 3527–3537.
- [158] P. B. Acosta, K. C. Gross, *Eur. J. Pediatr.* **1995**, *154*, 87–92.
- [159] A. I. Coelho, G. T. Berry, M. E. Rubio-Gozalbo, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2015**, *18*, 422–427.
- [160] N. Dey, S. Bhattacharya, *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23*, 16547–16554.
- [161] X. Hu, Y. Shi, P. Zhang, M. Miao, T. Zhang, B. Jiang, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2016**, *15*, 773–785.
- [162] C. H. Lin, P. C. Wei, C. M. Chen, Y. T. Huang, J. L. Lin, Y. S. Lo, J. L. Lin, C. Y. Lin, Y. R. Wu, K. H. Chang, G. J. Lee-Chen, *Front. Aging Neurosci.* **2020**, *12*, 1–11.
- [163] C. M. Chen, C. Lin, Y. Wu, C. Yen, Y. Huang, M. Su, K. Chang, *Cells* **2020**, *9*, 1–21.
- [164] L. Liang, Y. Shen, J. Zhang, S. Xu, W. Xu, C. Liang, B. Han, *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1033*, 148–155.
- [165] S. Ghosh, *Glycoconj. J.* **2015**, *32*, 79–85.
- [166] O. M. T. Pearce, H. Läubli, *Glycobiology* **2015**, *26*, 111–128.
- [167] C. Büll, M. A. Stoel, M. H. Den Brok, G. J. Adema, *Cancer Res.* **2014**, *74*, 3199–3204.
- [168] S. Geninatti Crich, D. Alberti, I. Szabo, S. Aime, K. Djanashvili, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2012**, *52*, 1161–1164.
- [169] J. A. Peters, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *268*, 1–22.
- [170] K. Djanashvili, L. Frullano, J. A. Peters, *Chem. - A Eur. J.* **2005**, *11*, 4010–4018.
- [171] E. C. Dierking, K. D. Bilyeu, *J. Plant Physiol.* **2009**, *166*, 1329–1335.
- [172] J. S. Teixeira, V. McNeill, M. G. Gänzle, *Food Microbiol.* **2012**, *31*, 278–284.
- [173] C. Arnosti, *J. Chromatogr. B* **2003**, *793*, 181–191.
- [174] B. Reider, M. Szigeti, A. Guttman, *Talanta* **2018**, *185*, 365–369.
- [175] K. Fukase, H. Nakayama, M. Kurosawa, T. Ikegaki, T. Kanoh, S. Hase, S. Kusumoto, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, *13*, 715–736.
- [176] B. Pappin, M. J. Kiefel, T. A. Houston, in *Carbohydrates - Compr. Stud. Glycobiol. Glycotechnol.* (Ed.: C.-F. Chang), IntechOpen, **2012**, pp. 37–50.
- [177] T. M. Lowry, *Chem. Ind.* **1935**, *54*, 477–483.
- [178] H. G. Kuivila, A. H. Keough, E. J. Soboczanski, *J. Org. Chem.* **1954**, *19*, 780–783.
- [179] J. P. Lorand, J. O. Edwards, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 769–774.

- 
- [180] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *Angew. Chemie Int. Ed.* **1996**, *35*, 1910–1922.
- [181] J. Böeseken, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1923**, *56*, 2409–2411.
- [182] J. Yoon, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5874–5875.
- [183] X. Zhang, G. Liu, Z. Ning, G. Xing, *Carbohydr. Res.* **2017**, *452*, 129–148.
- [184] J. S. Hansen, M. Ficker, J. F. Petersen, J. B. Christensen, T. Hoeg-Jensen, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1849–1852.
- [185] J. S. Hansen, J. B. Christensen, T. I. Solling, P. Jakobsen, T. Hoeg-Jensen, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 1334–1340.
- [186] D. G. Hall, *Boronic Acids: Preparation, Applications in Organic Synthesis and Medicine, 2. Edition*, John Wiley & Sons, Weinheim, **2006**.
- [187] R. A. Bowie, O. C. Musgrave, *J. Chem. Soc.* **1963**, 3945–3949.
- [188] C. D. Roy, H. C. Brown, *J. Organomet. Chem.* **2007**, *692*, 784–790.
- [189] M. Van Duin, J. A. Peters, A. P. G. Kieboom, H. Van Bekkum, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2901–2911.
- [190] S. J. Rettig, J. Trotter, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 3071–3075.
- [191] A. N. Cammidge, V. H. M. Goddard, H. Gopee, N. L. Harrison, D. L. Hughes, C. J. Schubert, B. M. Sutton, G. L. Watts, A. J. Whitehead, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4071–4074.
- [192] M. M. Reichvilser, C. Heinzl, P. Klüfers, *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 498–502.
- [193] M. A. Martínez-Aguirre, M. Flores-Alamo, F. Medrano, A. K. Yatsimirsky, *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 2716–2726.
- [194] M. A. Beckett, S. J. Coles, M. E. Light, L. Fischer, B. M. Stiefvater-Thomas, K. S. Varma, *Polyhedron* **2006**, *25*, 1011–1016.
- [195] A. Vega, M. Zarate, H. Tlahuext, H. Höpfl, *Zeitschrift für Krist. - New Cryst. Struct.* **2010**, *225*, 676–678.
- [196] B. A. Garcia-Grajeda, H. Höpfl, J. A. Guerrero-Alvarez, J. J. Campos-Gaxiola, A. Cruz-Enríquez, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2014**, *70*, 339–389.
- [197] R. Pizer, C. Tihal, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3243–3247.
- [198] K. Kur, M. Przybyt, E. Miller, *J. Lumin.* **2017**, *183*, 486–493.
- [199] H. Fang, G. Kaur, B. Wang, *J. Fluoresc.* **2004**, *14*, 481–489.
- [200] N. DiCesare, J. R. Lakowicz, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 6834–6840.
- [201] X. Wu, Z. Li, X. X. Chen, J. S. Fossey, T. D. James, Y. B. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 8032–8048.
- [202] W. L. A. Brooks, C. C. Deng, B. S. Sumerlin, *ACS Omega* **2018**, *3*, 17863–17870.
- [203] J. Yan, G. Springsteen, S. Deeter, B. Wang, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11205–11209.
- [204] G. Springsteen, B. Wang, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5291–5300.
- [205] R. Van Den Berg, J. A. Peters, H. Van Bekkum, *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 1–12.
-

- 
- [206] M. P. Nicholls, P. K. C. Paul, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1434–1441.
- [207] J. S. Hansen, J. F. Petersen, T. Hoeg-Jensen, J. B. Christensen, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 5852–5855.
- [208] M. Bielecki, H. Eggert, J. C. Norrild, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, *1999*, 449–455.
- [209] J. C. Norrild, H. Eggert, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1479–1484.
- [210] J. C. Norrild, H. Eggert, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1996**, *2*, 2583–2588.
- [211] J. D. Larkin, K. A. Frimat, T. M. Fyles, S. E. Flower, T. D. James, *New J. Chem.* **2010**, *34*, 2922–2931.
- [212] S. Arimori, M. L. Bell, C. S. Oh, K. A. Frimat, T. D. James, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **2002**, *6*, 803–808.
- [213] X. Wu, X. X. Chen, Y. B. Jiang, *Analyst* **2017**, *142*, 1403–1414.
- [214] Z. Bian, A. Liu, Y. Li, G. Fang, Q. Yao, G. Zhang, Z. Wu, *Analyst* **2020**, *145*, 719–744.
- [215] B. Liu, N. Novikova, M. C. Simpson, M. S. M. Timmer, B. L. Stocker, T. Söhnel, D. C. Ware, P. J. Brothers, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 5205–5209.
- [216] N. Ndebele, J. Mack, T. Nyokong, *Electroanalysis* **2019**, *31*, 137–145.
- [217] J. S. Hansen, T. Hoeg-Jensen, J. B. Christensen, *Tetrahedron* **2017**, *73*, 3010–3013.
- [218] J. Zhai, T. Pan, J. Zhu, Y. Xu, J. Chen, Y. Xie, Y. Qin, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 10214–10220.
- [219] N. DiCesare, J. R. Lakowicz, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 9105–9108.
- [220] P. Ashokkumar, J. Bell, M. Burrman, K. Rurack, *Sensors Actuators B Chem.* **2018**, *256*, 609–615.
- [221] N. M. Cheruthu, T. Komatsu, T. Ueno, K. Hanaoka, Y. Urano, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 126684–126689.
- [222] “<https://www.dictionary.com/browse/immobilization>, Zugriffsdatum: 22.08.,” **2021**.
- [223] “<https://dictionary.cambridge.org/de/worterbuch/englisch/immobilization>, Zugriffsdatum: 22.08.,” **2021**.
- [224] J. A. Menges, A. Grandjean, A. Clasen, G. Jung, *ChemCatChem* **2020**, *12*, 2630–2637.
- [225] M. Guo, P. Chandris, J. P. Giannini, A. J. Trexler, R. Fischer, J. Chen, H. D. Vishwasrao, I. Rey-Suarez, Y. Wu, X. Wu, C. M. Waterman, G. H. Patterson, A. Upadhyaya, J. W. Taraska, H. Shroff, *Nat. Methods* **2018**, *15*, 425–428.
- [226] F. Ströhl, H. H. W. Wong, C. E. Holt, C. F. Kaminski, *Methods Appl. Fluoresc.* **2018**, *6*, 1–9.
- [227] D. He, H. Wang, S. L. Ho, H. N. Chan, L. Hai, X. He, K. Wang, H. W. Li, *Theranostics* **2019**, *9*, 4494–4507.
- [228] E. Górecka, M. Jastrzebska, *Biotechnol. Food Sci.* **2011**, *75*, 27–34.
- [229] N. R. Mohamad, N. H. C. Marzuki, N. A. Buang, F. Huyop, R. A. Wahab, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2015**, *29*, 205–220.
-

- 
- [230] B. Brena, P. González-Pombo, F. Batista-Viera, in *Methods Mol. Biol.* (Ed.: J.M. Guisan), Springer Science + Business Media, New York, **2013**, pp. 15–31.
- [231] G. Annadurai, R. S. Juang, D. J. Lee, *J. Hazard. Mater.* **2002**, *92*, 263–274.
- [232] M. J. Iqbal, M. N. Ashiq, *J. Hazard. Mater.* **2007**, *139*, 57–66.
- [233] M. F. R. Pereira, S. F. Soares, J. J. M. Órfão, J. L. Figueiredo, *Carbon N. Y.* **2003**, *41*, 811–821.
- [234] M. Lundqvist, I. Sethson, B. H. Jonsson, *Langmuir* **2004**, *20*, 10639–10647.
- [235] K. Wang, C. Zhou, Y. Hong, X. Zhang, *Interface Focus* **2012**, *2*, 259–277.
- [236] T. Shimosaka, T. Sugii, T. Hobo, J. B. A. Ross, K. Uchiyama, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3532–3538.
- [237] H. Schönherr, J. M. Johnson, P. Lenz, C. W. Frank, S. G. Boxer, *Langmuir* **2004**, *20*, 11600–11606.
- [238] J. Song, W. He, H. Shen, Z. Zhou, M. Li, P. Su, Y. Yang, *Chem. Eng. J.* **2019**, *363*, 174–182.
- [239] E. Gkaniatsou, C. Sicard, R. Ricoux, L. Benahmed, F. Bourdreux, Q. Zhang, C. Serre, J. Mahy, N. Steunou, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2018**, *57*, 16141–16146.
- [240] Y. Wang, F. Caruso, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 953–961.
- [241] D. Koszelewski, N. Müller, J. H. Schrittwieser, K. Faber, W. Kroutil, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2010**, *63*, 39–44.
- [242] C. H. Lee, T. S. Lin, C. Y. Mou, *Nano Today* **2009**, *4*, 165–179.
- [243] M. B. Majewski, A. J. Howarth, P. Li, M. R. Wasielewski, J. T. Hupp, O. K. Farha, *CrystEngComm* **2017**, *19*, 4082–4091.
- [244] L. Betancor, H. R. Luckarift, *Trends Biotechnol.* **2008**, *26*, 566–572.
- [245] J. Hong, D. Xu, P. Gong, J. Yu, H. Ma, S. Yao, *Microporous Mesoporous Mater.* **2008**, *109*, 470–477.
- [246] J. C. Y. Wu, C. H. Hutchings, M. J. Lindsay, C. J. Werner, B. C. Bundy, *J. Biotechnol.* **2015**, *193*, 83–90.
- [247] M. Qin, S. Hou, L. K. Wang, X. Z. Feng, R. Wang, Y. L. Yang, C. Wang, L. Yu, B. Shao, M. Q. Qiao, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2007**, *60*, 243–249.
- [248] J. A. Menges, A. Clasen, M. Jourdain, J. Beckmann, C. Hoffmann, J. König, G. Jung, *Langmuir* **2019**, *35*, 2506–2516.
- [249] M. V. Kahraman, G. Bayramoğlu, N. Kayaman-Apohan, A. Güngör, *Food Chem.* **2007**, *104*, 1385–1392.
- [250] M. R. Lee, I. Shin, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4269–4272.
- [251] L. R. Hilliard, X. Zhao, W. Tan, *Anal. Chim. Acta* **2002**, *470*, 51–56.
- [252] B. A. Cavic, M. E. McGovern, R. Nisman, M. Thompson, *Analyst* **2001**, *126*, 485–490.
- [253] J. F. Kennedy, J. M. S. Cabral, *Artif. Cells, Blood Substitutes, Biotechnol.* **1995**, *23*, 231–252.
-

- 
- [254] R. C. F. Cheung, J. H. Wong, T. B. Ng, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *96*, 1411–1420.
- [255] T. Kamra, S. Chaudhary, C. Xu, N. Johansson, L. Montelius, J. Schnadt, L. Ye, *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *445*, 277–284.
- [256] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3. Edition, Springer Science + Business Media, New York, **2006**.
- [257] M. A. Lieb, J. M. Zavislan, L. Novotny, *J. Opt. Soc. Am. B* **2004**, *21*, 1210–1215.
- [258] R. J. Pfab, J. Zimmermann, C. Hettich, I. Gerhardt, A. Renn, V. Sandoghdar, *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *387*, 490–495.
- [259] H. R. Mulla, N. J. Agard, A. Basu, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 25–27.
- [260] R. Badugu, J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, *Talanta* **2005**, *65*, 762–768.
- [261] Y. Zhang, X. Gao, K. Hardcastle, B. Wang, *Chem. - A Eur. J.* **2006**, *12*, 1377–1384.
- [262] G. Kaur, H. Fang, X. Gao, H. Li, B. Wang, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2583–2589.
- [263] D. Maus, A. Grandjean, G. Jung, *J. Phys. Chem. A* **2018**, *122*, 9025–9030.
- [264] C. R. Cooper, T. D. James, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, *1*, 963–969.
- [265] S. Gamsey, N. A. Baxter, Z. Sharrett, D. B. Cordes, M. M. Olmstead, R. A. Wessling, B. Singaram, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6321–6331.
- [266] N. Geffen, R. Semiat, M. S. Eisen, Y. Balazs, I. Katz, C. G. Dosoretz, *J. Memb. Sci.* **2006**, *286*, 45–51.
- [267] S. L. Wiskur, J. J. Lavigne, H. Ait-Haddou, V. Lynch, Y. H. Chiu, J. W. Canary, E. V. Anslyn, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1311–1314.
- [268] S. Takahashi, J. I. Anzai, *Langmuir* **2005**, *21*, 5102–5107.
- [269] A. Grandjean, J. P. Luis, S. Muth, D. Maus, G. Jung, *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, *12*, 1683–1689.
- [270] L. J. C. Love, L. A. Shaver, *Anal. Chem.* **1976**, *48*, 364–371.
- [271] K. Suhling, J. Siegel, D. Phillips, P. M. W. French, S. Lévêque-Fort, S. E. D. Webb, D. M. Davis, *Biophys. J.* **2002**, *83*, 3589–3595.
- [272] A. T. R. Williams, S. A. Winfield, J. N. Miller, *Analyst* **1983**, *108*, 1067–1071.
- [273] D. V. O'Connor, D. Phillips, *Time-Correlated Single Photon Counting*, 1. Edition, Academic Press Inc. Ltd., London, **1984**.
- [274] D. J. S. Birch, R. E. Imhof, *Anal. Instrum.* **1985**, *14*, 293–329.
- [275] W. Qin, T. Rohand, M. Baruah, A. Stefan, M. Van Der Auweraer, W. Dehaen, N. Boens, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *420*, 562–568.
- [276] W. Becker, *J. Microsc.* **2012**, *247*, 119–136.
- [277] E. B. Van Munster, T. W. J. Gadella, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **2005**, *95*, 143–175.
- [278] J. Willem Borst, A. J. W. G. Visser, *Meas. Sci. Technol.* **2010**, *21*, 102002–102023.

- 
- [279] U. Alexiev, P. Volz, A. Boreham, R. BrodWolf, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *116*, 111–124.
- [280] F. V. Bright, C. A. Munson, *Anal. Chim. Acta* **2003**, *500*, 71–104.
- [281] C. Vinegoni, P. F. Feruglio, I. Gryczynski, R. Mazitschek, R. Weissleder, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2019**, *151–152*, 262–288.
- [282] A. Boes, S. Olatunji, T. Mohammadi, E. Breukink, M. Terrak, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 6280–6287.
- [283] S. J. Zhen, X. Xiao, C. H. Li, C. Z. Huang, *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 8766–8771.
- [284] Q. Zhao, J. Tao, J. S. Uppal, H. Peng, H. Wang, X. C. Le, *Trends Anal. Chem.* **2019**, *110*, 401–409.
- [285] L. Grätz, T. Laasfeld, A. Allikalt, C. G. Gruber, A. Pegoli, M.-J. Tahk, M.-L. Tsernant, M. Keller, A. Rincken, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2021**, *1868*, 118930–118938.
- [286] C. C. Gradinaru, D. O. Marushchak, M. Samim, U. J. Krull, *Analyst* **2010**, *135*, 452–459.
- [287] C. M. Yengo, C. L. Berger, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2010**, *10*, 731–737.
- [288] C. M. Ingersoll, C. M. Stollo, *J. Chem. Educ.* **2007**, *84*, 1313–1315.
- [289] L. Töntson, A. Babina, T. Vösumaa, S. Kopanchuk, A. Rincken, *Arch. Biochem. Biophys.* **2012**, *524*, 93–98.
- [290] L. Töntson, S. Kopanchuk, A. Rincken, *Neurochem. Int.* **2014**, *67*, 32–38.
- [291] M. Ameloot, M. Van de Ven, A. U. Acuña, B. Valeur, *Pure Appl. Chem.* **2013**, *85*, 589–608.
- [292] P. Kapusta, R. Erdmann, U. Ortmann, M. Wahl, *J. Fluoresc.* **2003**, *13*, 179–183.
- [293] M. Kasha, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14–19.
- [294] E. K. L. Yeow, K. P. Ghiggino, J. N. H. Reek, M. J. Crossley, A. W. Bosman, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 2596–2606.
- [295] G. R. Fleming, J. M. Morris, G. W. Robinson, *Chem. Phys.* **1976**, *17*, 91–100.
- [296] A. Darwish, A. Lang, T. Kim, J. M. Chong, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 861–864.
- [297] J. W. Labadie, D. Tueting, J. K. Stille, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4634–4642.
- [298] R. A. Davis, A. R. Carroll, R. J. Quinn, P. C. Healy, A. R. White, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2007**, *63*, o4076–o4076.
- [299] S. M. Crawford, A. Thompson, *Org. Lett.* **2010**, *7*, 1424–1427.
- [300] A. de J. Gómez-Infante, J. Bañuelos, I. Valois-Escamilla, D. Cruz-Cruz, R. Prieto-Montero, I. López-Arbeloa, T. Arbeloa, E. Peña-Cabrera, *European J. Org. Chem.* **2016**, *2016*, 5009–5023.
- [301] Y. Hayashi, S. Yamaguchi, W. Y. Cha, D. Kim, H. Shinokubo, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2992–2995.
- [302] H. Nöth, B. Wrackmeyer, *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Boron Compounds. NMR Basic Principles and Progress / NMR Grundlagen Und Fortschritte*,
-

---

14. Edition, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **1978**.

- [303] S. Jin, H. T. Dang, G. C. Haug, R. He, V. D. Nguyen, V. T. Nguyen, H. D. Arman, K. S. Schanze, O. V. Larionov, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 1603–1613.
- [304] A. Cannillo, S. Norsikian, P. Retailleau, M. E. T. H. Dau, B. I. Iorga, J. M. Beau, *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 9127–9131.
- [305] J. J. Molloy, T. A. Clohessy, C. Irving, N. A. Anderson, G. C. Lloyd-Jones, A. J. B. Watson, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1551–1559.
- [306] L. E. Kelderhouse, V. Chelvam, C. Wayua, S. Mahalingam, S. Poh, S. A. Kularatne, P. S. Low, *Bioconjug. Chem.* **2013**, *24*, 1075–1080.
- [307] J. Zhao, K. Xu, W. Yang, Z. Wang, F. Zhong, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 8904–8939.
- [308] L. Cunha Dias De Rezende, M. Menezes Vaidergorn, J. C. Biazotto Moraes, F. Da Silva Emery, *J. Fluoresc.* **2014**, *24*, 257–266.
- [309] D. R. Lide, Ed. , *CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version*, CRC Press, Boca Raton, FL, **2005**.
- [310] M. Van Duin, J. A. Peters, A. P. G. Kieboom, H. Van Bekkum, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3411–3421.
- [311] M. Yamamoto, M. Takeuchi, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3125–3140.
- [312] A. Soleilhac, F. Bertorelle, R. Antoine, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, *193*, 283–288.
- [313] S. Zorrilla, G. Rivas, A. U. Acuña, M. P. Lillo, *Protein Sci.* **2008**, *13*, 2960–2969.
- [314] M. L. Ferrer, R. Duchowicz, B. Carrasco, J. G. De La Torre, A. U. Acuña, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 2422–2430.
- [315] L. M. Hirvonen, G. O. Fruhwirth, N. Srikantha, M. J. Barber, J. E. Neffendorf, K. Suhling, T. L. Jackson, *Pharm. Res.* **2016**, *33*, 2025–2032.
- [316] H. Schumann, B. Pachaly, *J. Organomet. Chem.* **1982**, *233*, 281–289.
- [317] S. Kobayashi, H. Kuroda, Y. Ohtsuka, T. Kashihara, A. Masuyama, K. Watanabe, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2251–2259.
- [318] S. Pereira, M. Srebnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 909–910.
- [319] A. Bismuto, M. J. Cowley, S. P. Thomas, *ACS Catal.* **2018**, *8*, 2001–2005.
- [320] S. Kisan, V. Krishnakumar, C. Gunanathan, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 5950–5954.
- [321] L. J. Weselinski, V. Begoyan, A. Ferrier, M. Tanasova, *ACS Omega* **2017**, *2*, 7002–7015.
- [322] S. D. Topel, G. Turgut Cin, E. U. Akkaya, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 8896–8899.
- [323] S. H. Lim, C. Thivierge, P. Nowak-Sliwinska, J. Han, H. Van Den Bergh, G. Wagnières, K. Burgess, H. B. Lee, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2865–2874.
- [324] S. Kolemen, Y. Cakmak, Z. Kostereli, E. U. Akkaya, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 660–663.
- [325] E. Palao-Utiel, L. Montalvillo-Jiménez, I. Esnal, R. Prieto-Montero, A. R. Agarrabeitia, I. García-Moreno, J. Bañuelos, I. López-Arbeloa, S. de la Moya, M. J. Ortiz, *Dye. Pigment.* **2017**, *141*, 286–298.

- 
- [326] E. Bodio, C. Goze, *Dye. Pigment.* **2019**, *160*, 700–710.
- [327] A. S. Manoso, P. DeShong, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7449–7455.
- [328] J. Ahrens, B. Haberlag, A. Scheja, M. Tamm, M. Bröring, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 2901–2912.
- [329] Z. Pan, M. Liu, C. Zheng, D. Gao, W. Huang, *Chinese J. Chem.* **2017**, *35*, 1227–1230.
- [330] E. Rampazzo, E. Brasola, S. Marcuz, F. Mancin, P. Tecilla, U. Tonellato, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 2687–2696.
- [331] X. Wang, B. Lv, Y. Li, N. Hu, X. Ren, P. I. Trefonas, Y. Rao, *Light Emitting Nanoparticles and Process of Making the Same*, **2017**, WO2017079911.
- [332] T. N. M. Bernards, M. J. Van Bommel, A. H. Boonstra, *J. Non. Cryst. Solids* **1991**, *134*, 1–13.
- [333] S. Altmann, J. Pfeiffer, *Monatshefte für Chemie* **2003**, *134*, 1081–1092.
- [334] A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch Der Anorganischen Chemie*, 102. Edition, De Gruyter, Berlin - New York, **2007**.
- [335] A. L. Allred, E. G. Rochow, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1958**, *5*, 264–268.
- [336] T. Ohmura, I. Sasaki, T. Torigoe, M. Suginome, *Organometallics* **2016**, *35*, 1601–1603.
- [337] R. S. Israeli, C. T. Powell, J. G. Corr, W. R. Fair, W. D. W. Heston, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 1807–1811.
- [338] D. A. Silver, I. Pellicer, W. R. Fair, W. D. W. Heston, C. Cordon-Cardo, *Clin. Cancer Res.* **1997**, *3*, 81–85.
- [339] M. I. Davis, M. J. Bennett, L. M. Thomas, P. J. Bjorkman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 5981–5986.
- [340] C. Barinka, C. Rojas, B. Slusher, M. Pomper, *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 856–870.
- [341] S.-H. Son, H. Kwon, H.-H. Ahn, H. Nam, K. Kim, S. Nam, D. Choi, H. Ha, I. Minn, Y. Byun, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 126894–126902.
- [342] S. Liu, T. P. Lin, D. Li, L. Leamer, H. Shan, Z. Li, F. P. Gabbaï, P. S. Conti, *Theranostics* **2013**, *3*, 181–189.
- [343] A. Paulus, M. Maenen, N. Drude, E. B. M. Nascimento, W. D. Van Marken Lichtenbelt, F. M. Mottaghy, M. Bauwens, *PLoS One* **2017**, *12*, 1–13.
- [344] Y. L. Hsu, M. Nandakumar, H. Y. Lai, T. C. Chou, C. Y. Chu, C. H. Lin, L. C. Lo, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8458–8463.
- [345] G. Durán-Sampedro, A. R. Agarrabeitia, L. Cerdán, M. E. Pérez-Ojeda, A. Costela, I. García-Moreno, I. Esnal, J. Bañuelos, I. L. Arbeloa, M. J. Ortiz, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 4195–4205.
- [346] E. V. Rumyantsev, S. N. Alyoshin, Y. S. Marfin, *Inorganica Chim. Acta* **2013**, *408*, 181–185.
- [347] E. V. Rumyantsev, S. N. Aleshin, A. Desoki, Y. S. Marfin, E. V. Antina, *Russ. J. Inorg. Chem.* **2013**, *58*, 596–601.
-

- 
- [348] D. B. G. Williams, M. Lawton, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8351–8354.
- [349] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515.
- [350] A. Grüter, M. Hoffmann, R. Müller, T. Wohland, G. Jung, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 3229–3240.
- [351] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, *A71*, 3–8.
- [352] G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, *C71*, 3–8.
- [353] C. B. Hübschle, G. M. Sheldrick, B. Dittrich, *J. Appl. Crystallogr.* **2011**, *44*, 1281–1284.

---

## 7. Wissenschaftliche Beiträge

### 7.1. Zeitschriften

- a)  **$\beta$ -boronic acid substituted Bodipy dyes for fluorescence anisotropy analysis of carbohydrate binding** – C. Hoffmann, M. Jourdain, A. Grandjean, A. Titz, G. Jung, *Anal. Chem.* **2021**, *submitted*.
- b) **A Structure-Activity Relationship Study of Bimodal BODIPY-labeled PSMA-targeting Bioconjugates** – C. Hoffmann\*, T. Stemler\*, I. M. Hierlmeier, S. Maus, E. Krause, S. Ezziddin, G. Jung, M. D. Bartholomä, *ChemMedChem* **2021**, *16*, 2535-2545.
- c) **Exploring Differences in Excited-State Properties of Styryl-BODIPY Chromophores upon Change from  $\alpha$ - to  $\beta$ -Substitution** – M. Scholz, C. Hoffmann, J. R. Klein, M. Wirtz, G. Jung, K. Oum, *Z. Phys. Chem.* **2020**, *234*, 1735-1758.
- d) **Surface Preparation for Single-Molecule Chemistry** – J. A. Menges, A. Clasen, M. Jourdain, J. Beckmann, C. Hoffmann, G. Jung, *Langmuir* **2019**, *35*, 2506-2516.
- e) **Small BODIPY Probes for Combined Dual  $^{19}\text{F}$  MRI and Fluorescence Imaging** – A. M. Huynh, A. Müller, S. M. Kessler, S. Henrikus, C. Hoffmann, A. K. Kiemer, A. Bucker, G. Jung, *ChemMedChem* **2016**, *11*, 1568-1575.

### 7.2. Konferenzen

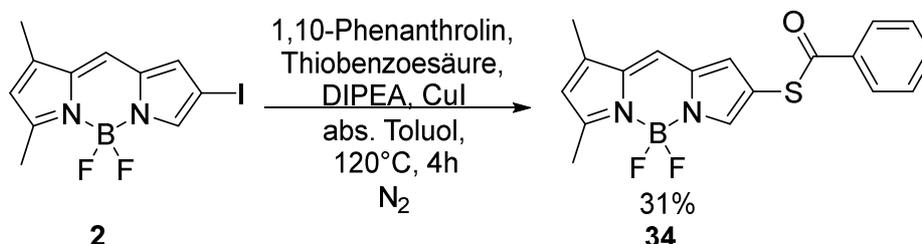
- a) **Poster: Trifunctional Bodipys for Reaction Monitoring** – C. Hoffmann, M. Jourdain, G. Jung, *Probing Chemical Reactions by Single-Molecule Spectroscopy – International Bunsen Discussion Meeting*, **2019**, Höchst (Odenwald), Deutschland.
- b) **Poster: Trifunctional Bodipys for Reaction Monitoring** – C. Hoffmann, G. Jung, *Tag der Chemie – Universität des Saarlandes*, **2018**, Saarbrücken, Deutschland.
- c) **Poster: Bimodal Contrast Agents for Medical Applications** – C. Hoffmann, J. Rauh, G. Jung, *15<sup>th</sup> Methods and Applications in Fluorescence – MAF*, **2017**, Brügge, Belgien.

- 
- d) **Poster: Single-Molecule Analysis of Fluorescent Catalysts** – C. Hoffmann, M. Jourdain, G. Jung, *116<sup>th</sup> General Assembly of the German Bunsen Society for Physical Chemistry - Bunsentagung, 2017*, Kaiserslautern, Deutschland.
- e) **Poster: Small BODIPY Probes for Combined Dual <sup>19</sup>F MRI and Fluorescence Imaging** – C. Hoffmann, G. Jung, *12<sup>th</sup> European Molecular Imaging Meeting – EMIM, 2017*, Köln, Deutschland.

## A. Anhang

### A.1. Synthese weiterer Bodipy-Farbstoffe

Synthese von 2-Benzothioat-5,7-dimethyl-4,4'-difluoro-bora-3a,4a-diaza-(s)-indacen **34**



Schema 61: Darstellung von  $\beta$ -Benzothioat-Bodipy **34**.

**2**<sup>[17]</sup> (100.6 mg, 0.29 mmol) wurde zusammen mit 1,10-Phenanthrolin (13.1 mg, 0.07 mmol), Diisopropylethylamin (100  $\mu$ L, 0.57 mmol) und Thiobenzoessäure (50  $\mu$ L, 0.43 mmol) in 6 mL abs. Toluol gelöst. Nach 5-minütiger N<sub>2</sub>-Entgasung erfolgte die Zugabe von Kupferiodid (7.9 mg, 0.04 mmol) und die Erwärmung zum Rückfluss. Nach 4 h wurde die Reaktion auf RT gebracht und anschließend über Celite in einer Glasfritte abgesaugt. Der nach Verdampfen des Lösemittels erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, Eluent: PE/DCM 1:1). **34** konnte als roter Feststoff (32.9 mg, 0.09 mmol, 31%) isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 8.03 (m, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.62 (tt, <sup>4</sup>J (H,H) = 1.26 Hz, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 1H), 7.49 (t, <sup>3</sup>J (H,H) = 7.28 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.31 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = 190.0, 165.8, 147.3, 141.6, 136.5, 133.7, 132.6, 130.0, 128.8, 127.5, 124.4, 122.4, 112.2, 15.4, 11.5.

**<sup>19</sup>F-NMR** (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C):  $\delta$  (ppm) = -145.90 (q, J = 29.98 Hz, 2F, BF<sub>2</sub>).

MS (ESI) für C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>OS<sup>-</sup> [M-H]:  $m/z_{\text{berechnet}} = 355.08935$  und  $m/z_{\text{gemessen}} = 355.08810$ .

Die Charakterisierung erfolgte über NMR-Spektroskopie (Abbildung 153-Abbildung 155) und MS-Spektrometrie (Abbildung 168). Die in Dichlormethan gemessenen UV-Vis und Fluoreszenzspektren können Abbildung 172a entnommen werden. Die ebenfalls in Dichlormethan gemessene Fluoreszenzlebenszeit  $\tau_{\text{Fl}}$  (Abbildung 172b) und die Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{\text{Fl}}$  liegen bei  $\tau_{\text{Fl}} = 5.3 \pm 0.1$  ns und  $\Phi_{\text{Fl}} = 68 \pm 5\%$ .



## A.2. NMR-Spektren

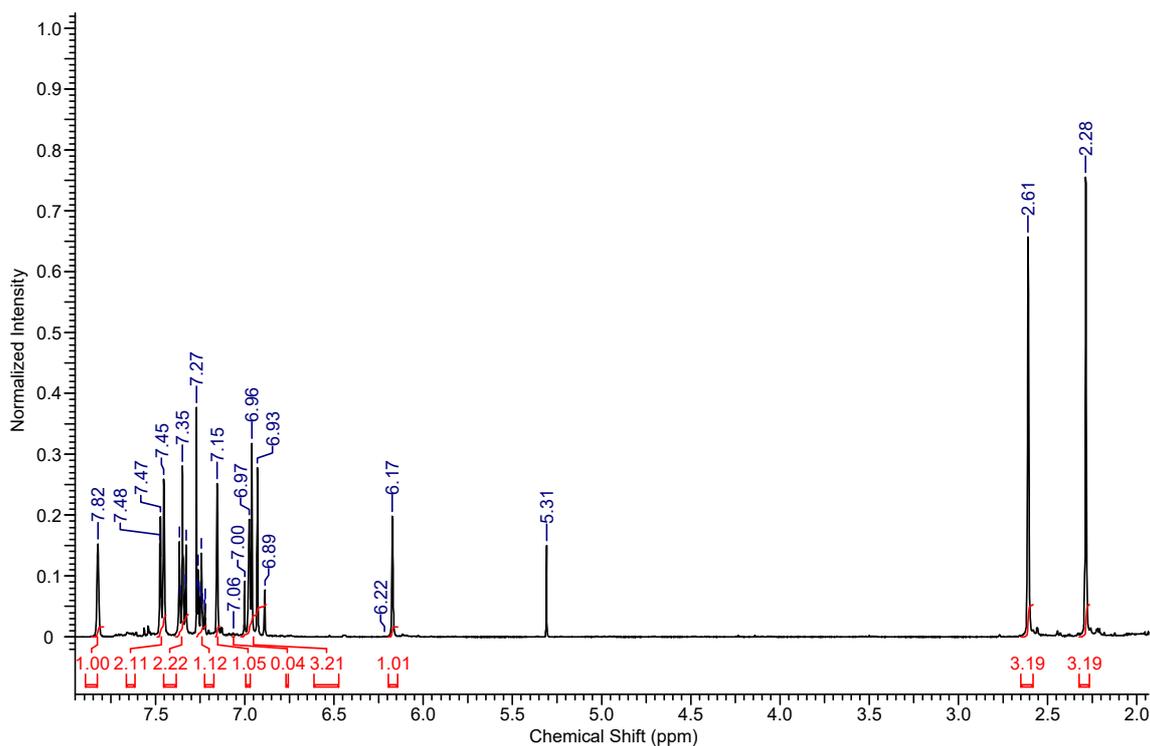


Abbildung 105:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **3** in  $\text{CDCl}_3$ .

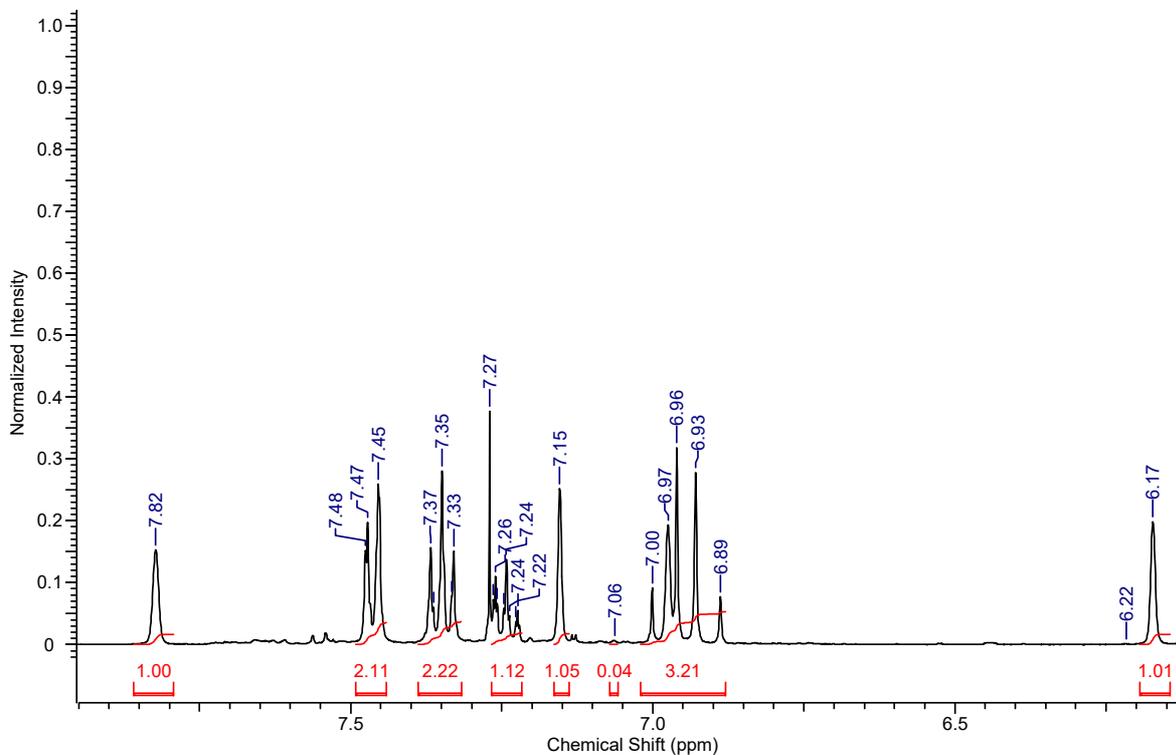


Abbildung 106:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (gezoomter Aromatenbereich) von Verbindung **3** in  $\text{CDCl}_3$ .

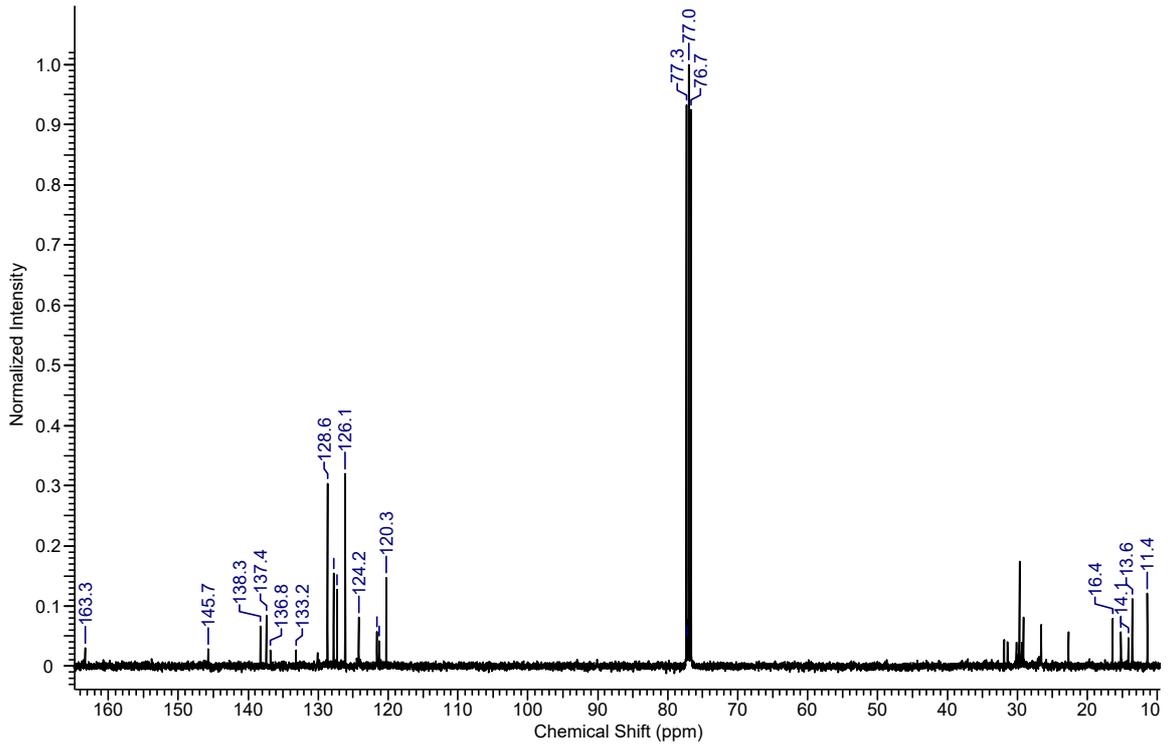


Abbildung 107:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 3 in  $\text{CDCl}_3$ .

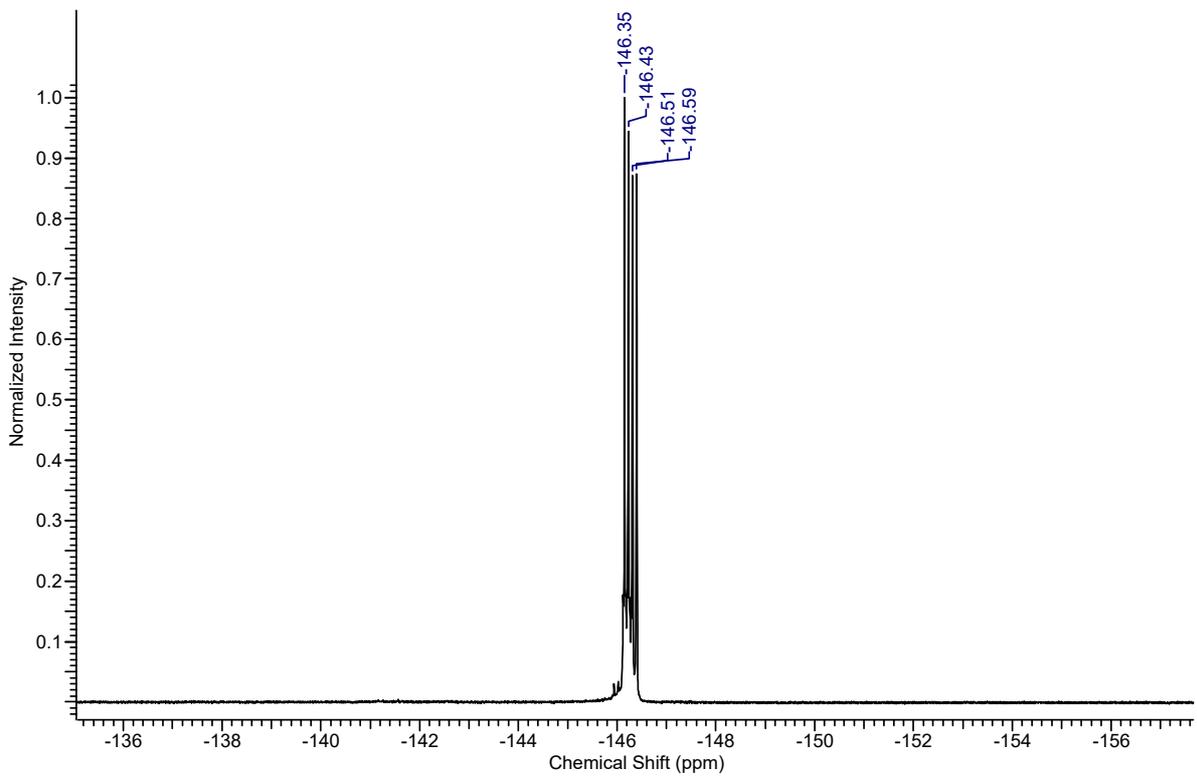


Abbildung 108:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 3 in  $\text{CDCl}_3$ .

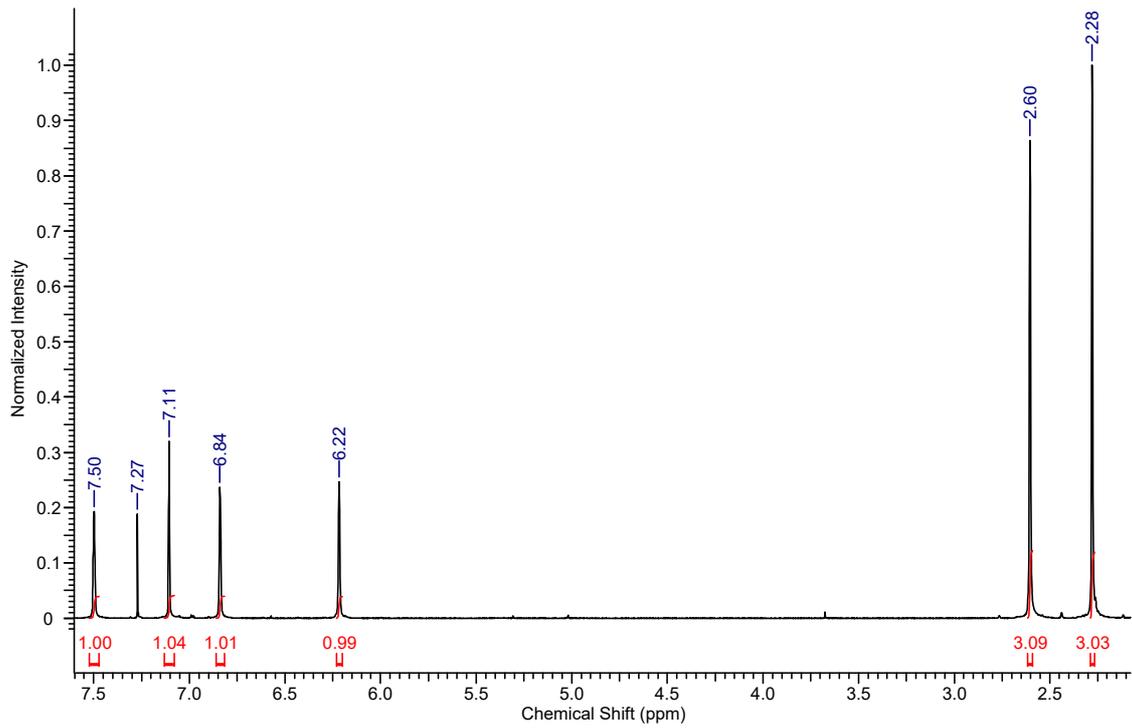


Abbildung 109:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **6** in  $\text{CDCl}_3$ .

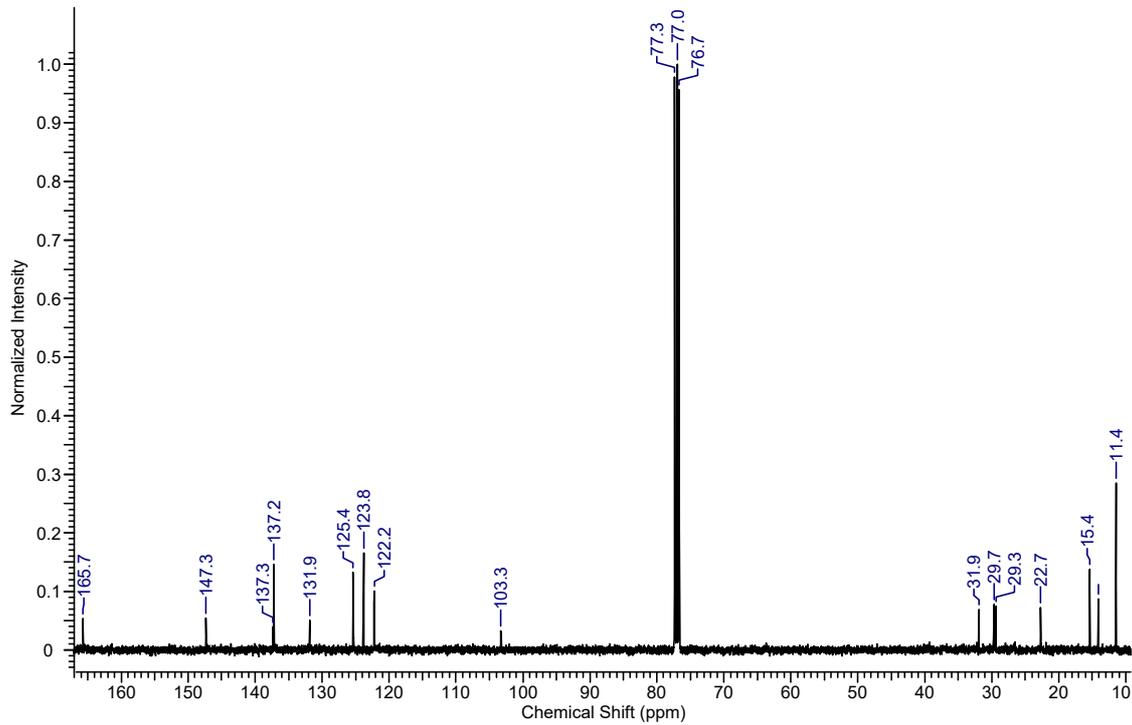


Abbildung 110:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **6** in  $\text{CDCl}_3$ .

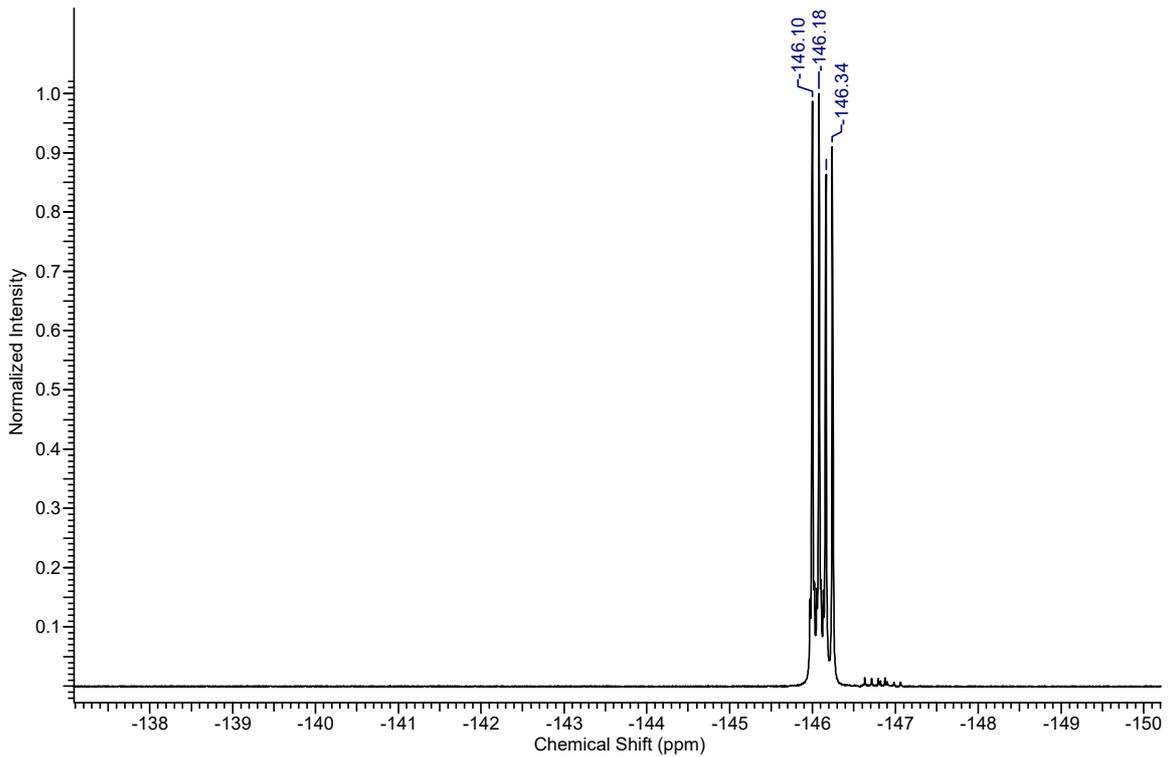


Abbildung 111:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **6** in  $\text{CDCl}_3$ .

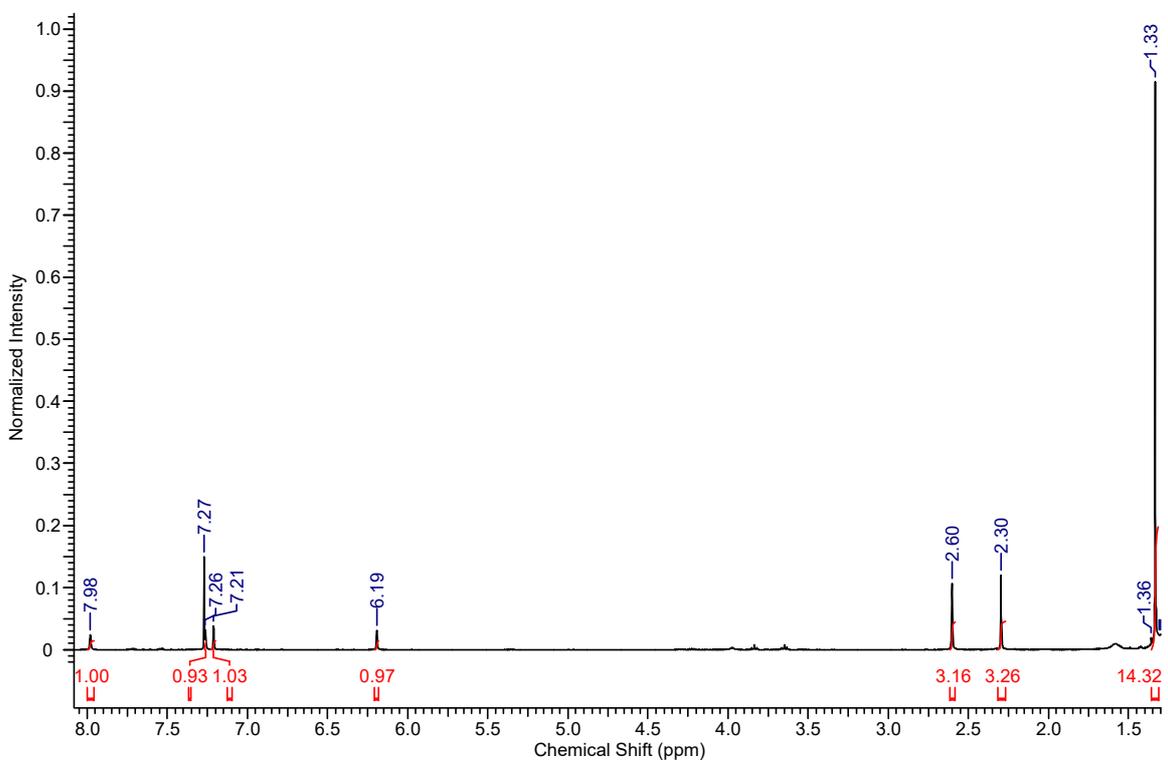


Abbildung 112:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **7** in  $\text{CDCl}_3$ .

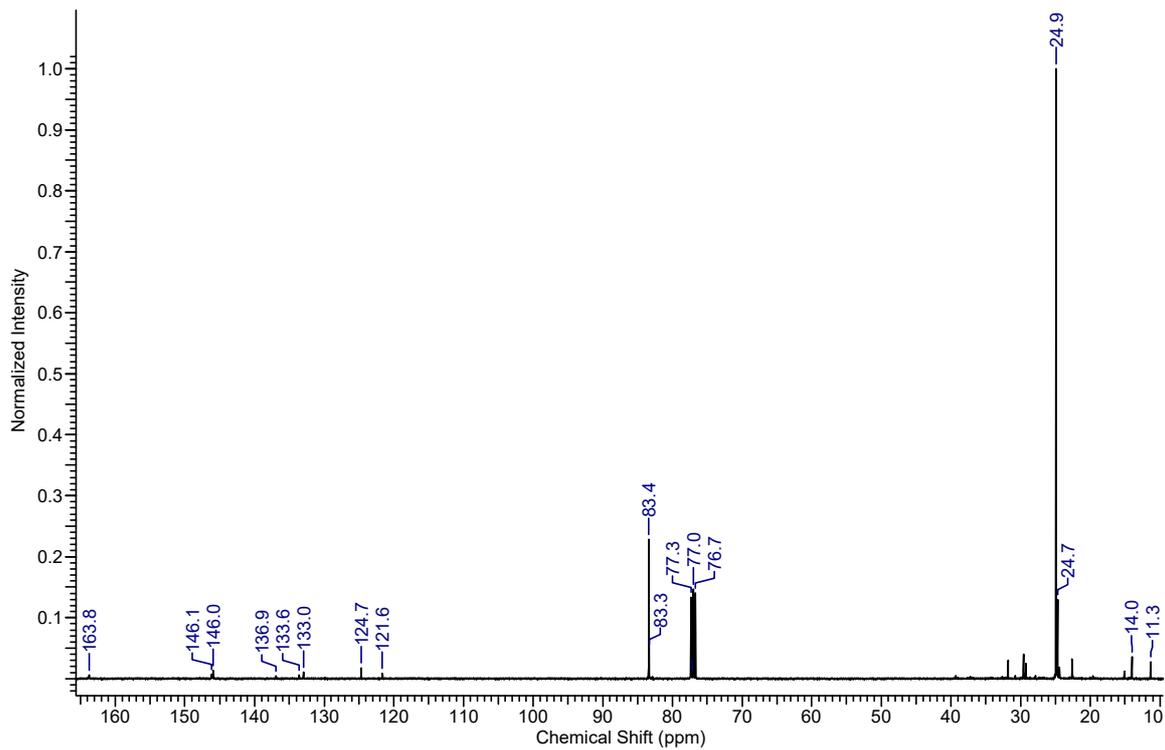


Abbildung 113:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 7 in  $\text{CDCl}_3$ .

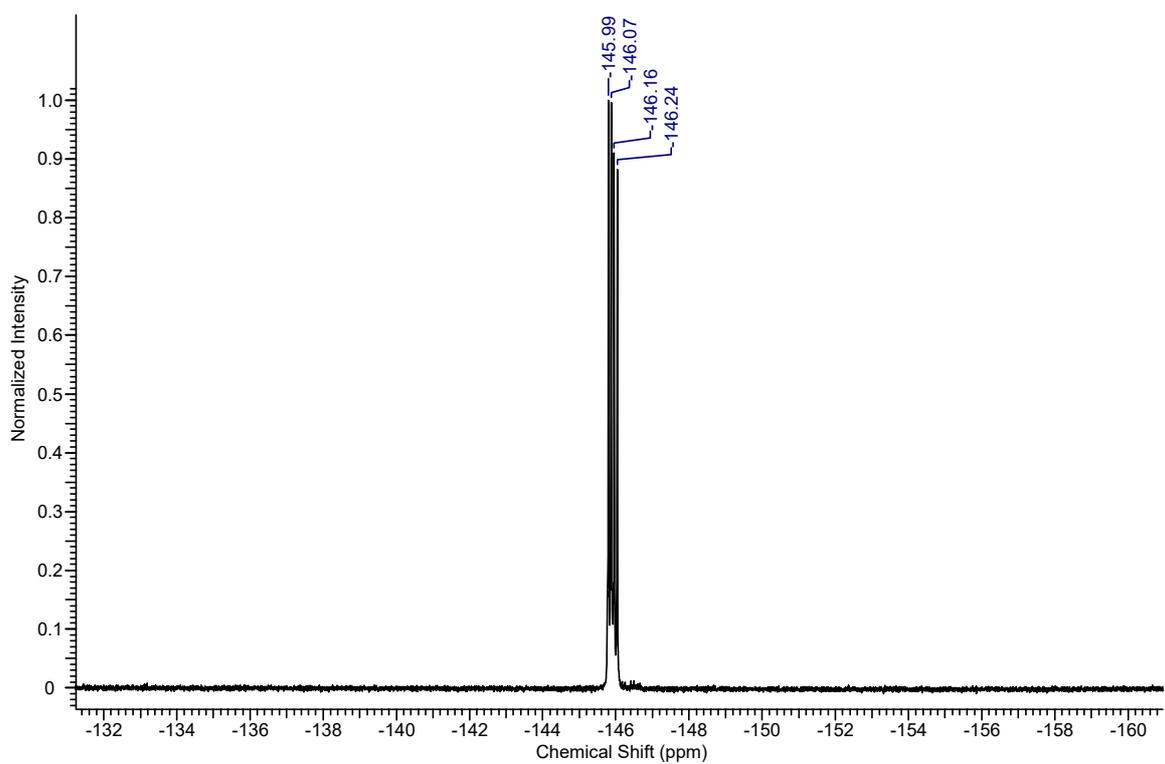


Abbildung 114:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 7 in  $\text{CDCl}_3$ .

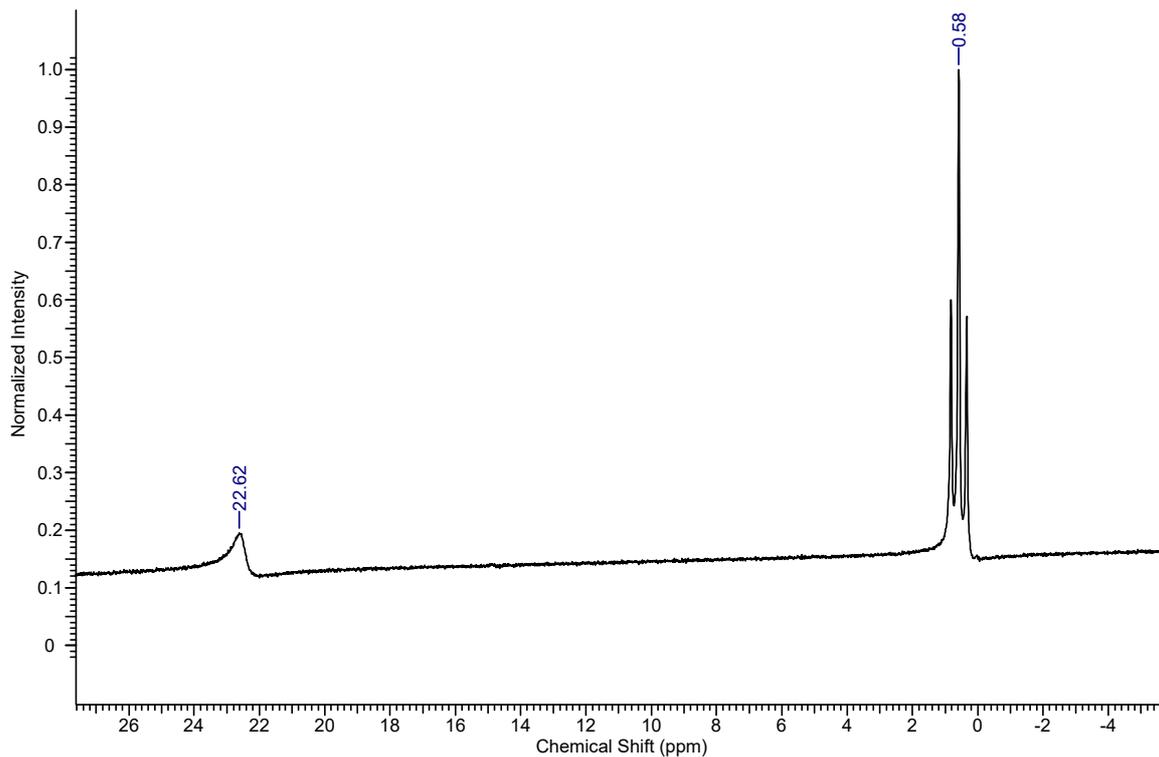


Abbildung 115:  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 7 in  $\text{CDCl}_3$ .

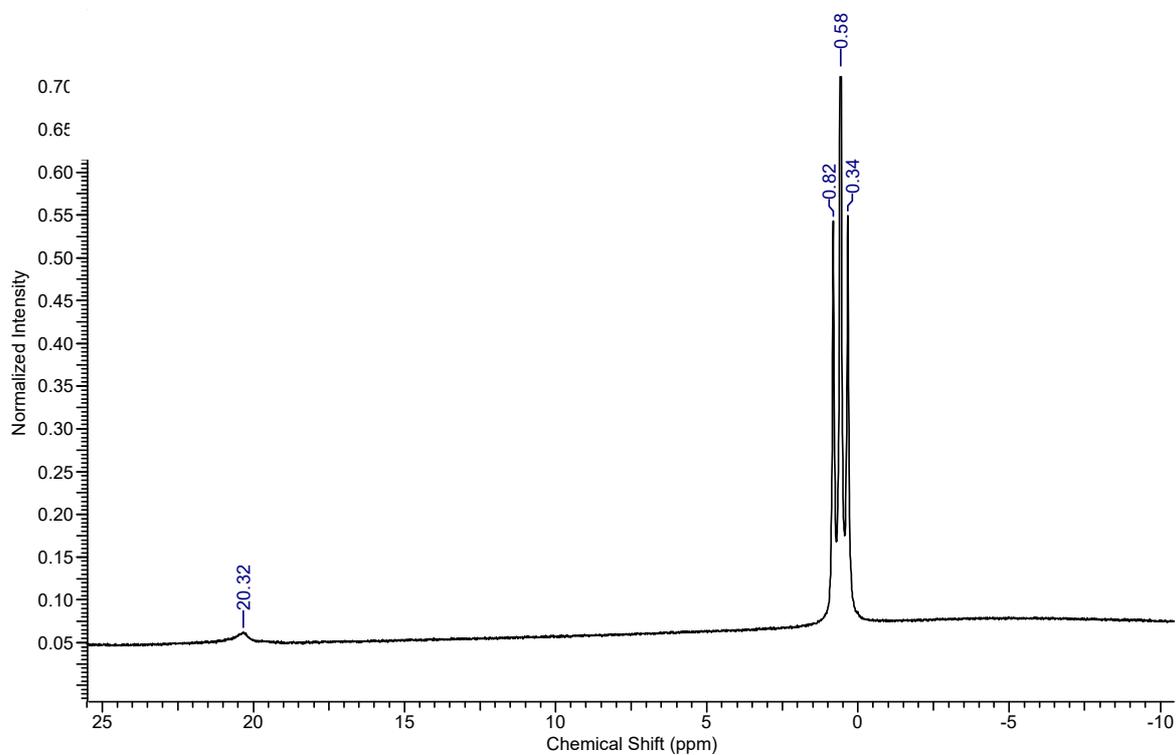


Abbildung 116:  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 8 in  $\text{Aceton-d}_6$ .

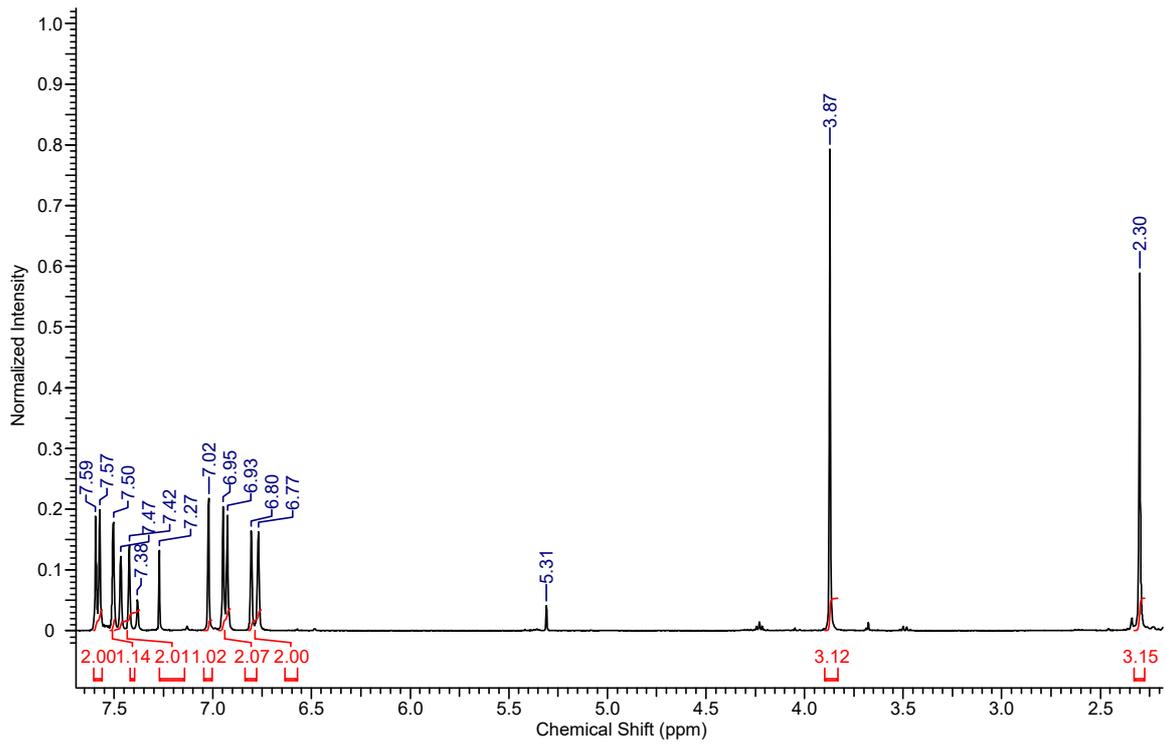


Abbildung 117: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 10 in CDCl<sub>3</sub>.

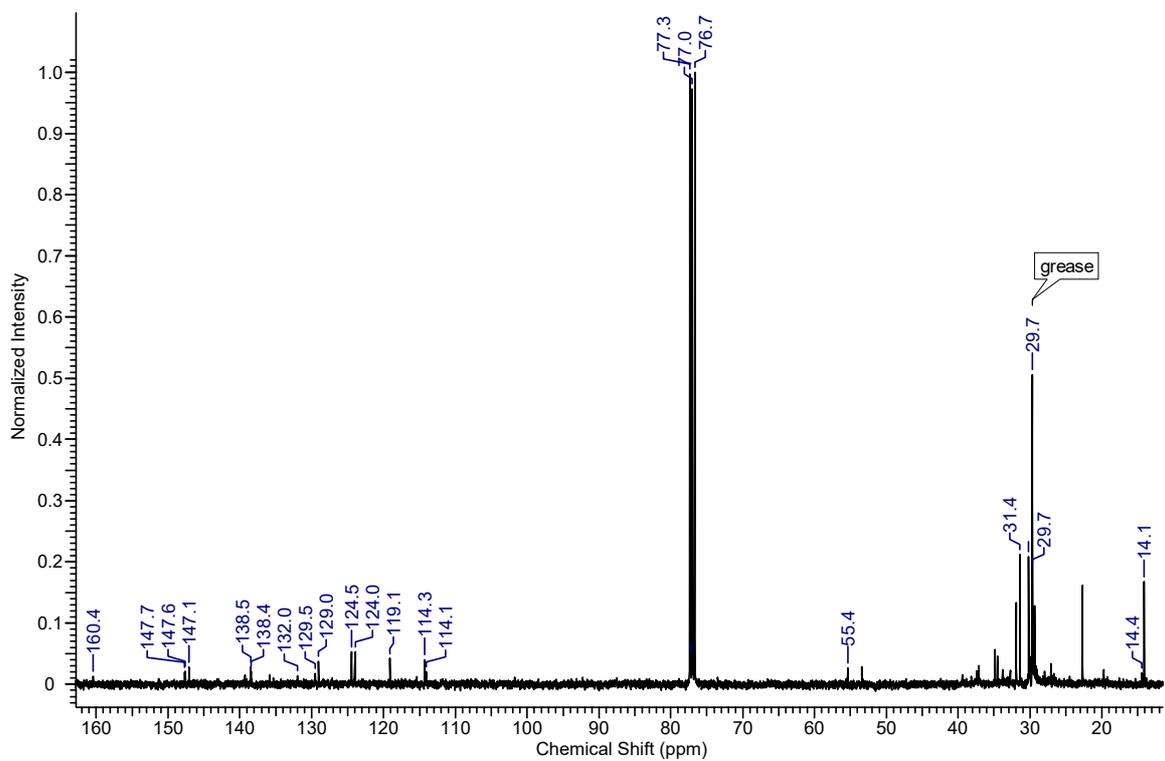


Abbildung 118: <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Verbindung 10 in CDCl<sub>3</sub>.

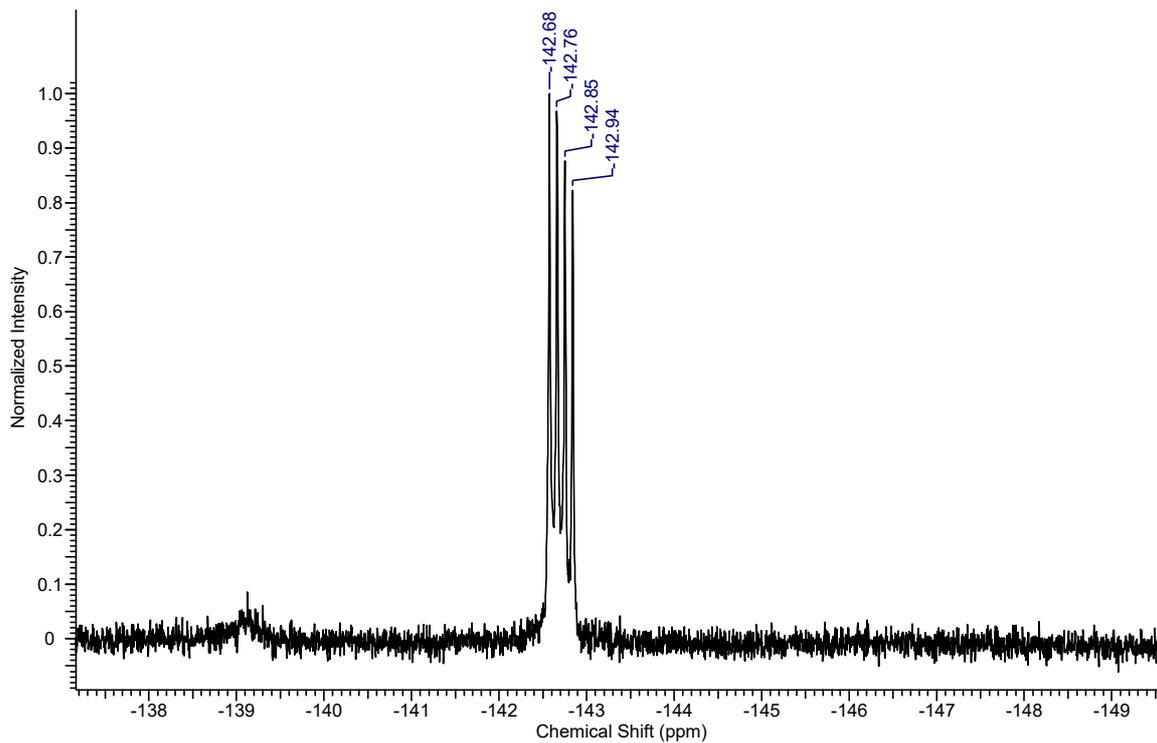


Abbildung 119:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **10** in  $\text{CDCl}_3$ .

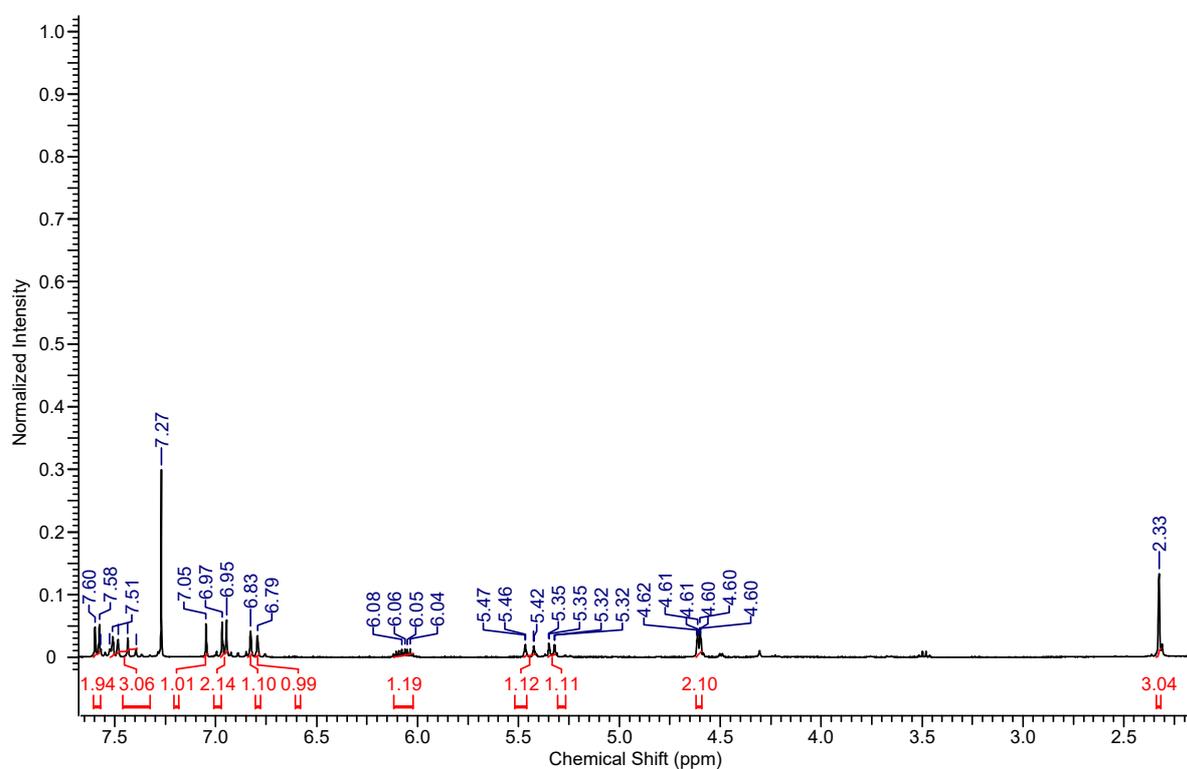


Abbildung 120:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **11** in  $\text{CDCl}_3$ .

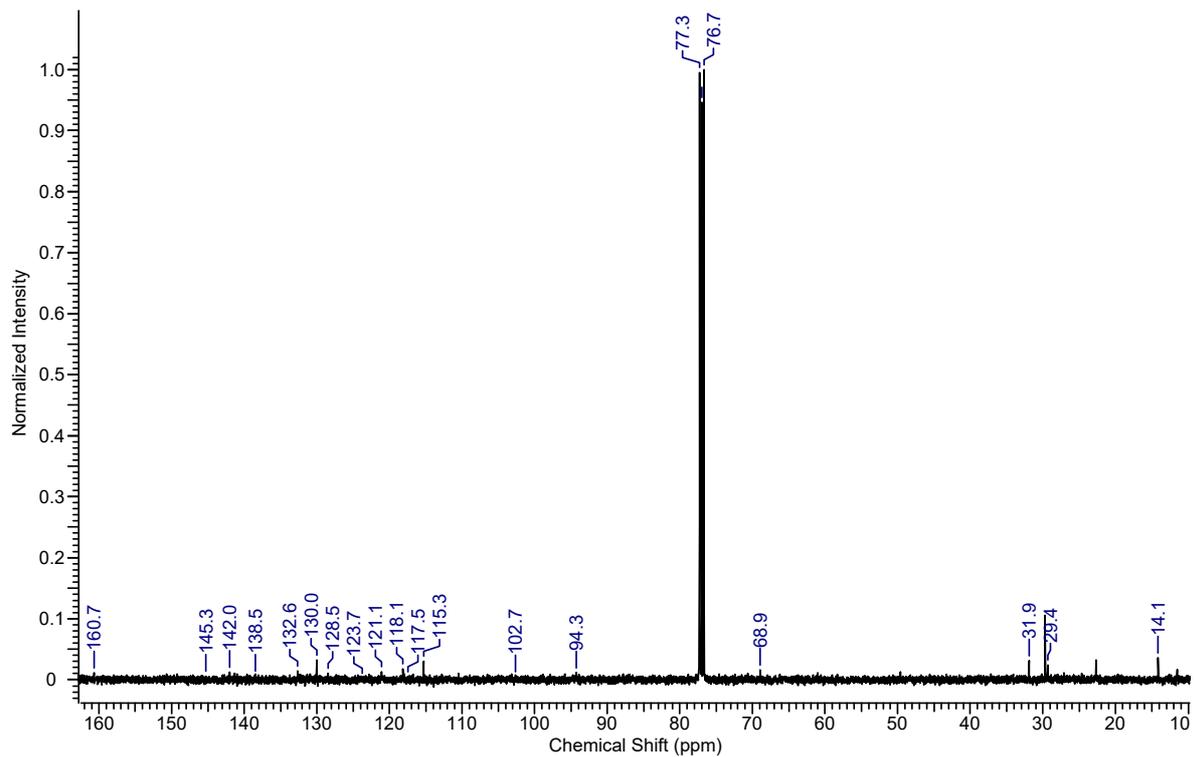


Abbildung 121:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 11 in  $\text{CDCl}_3$ .

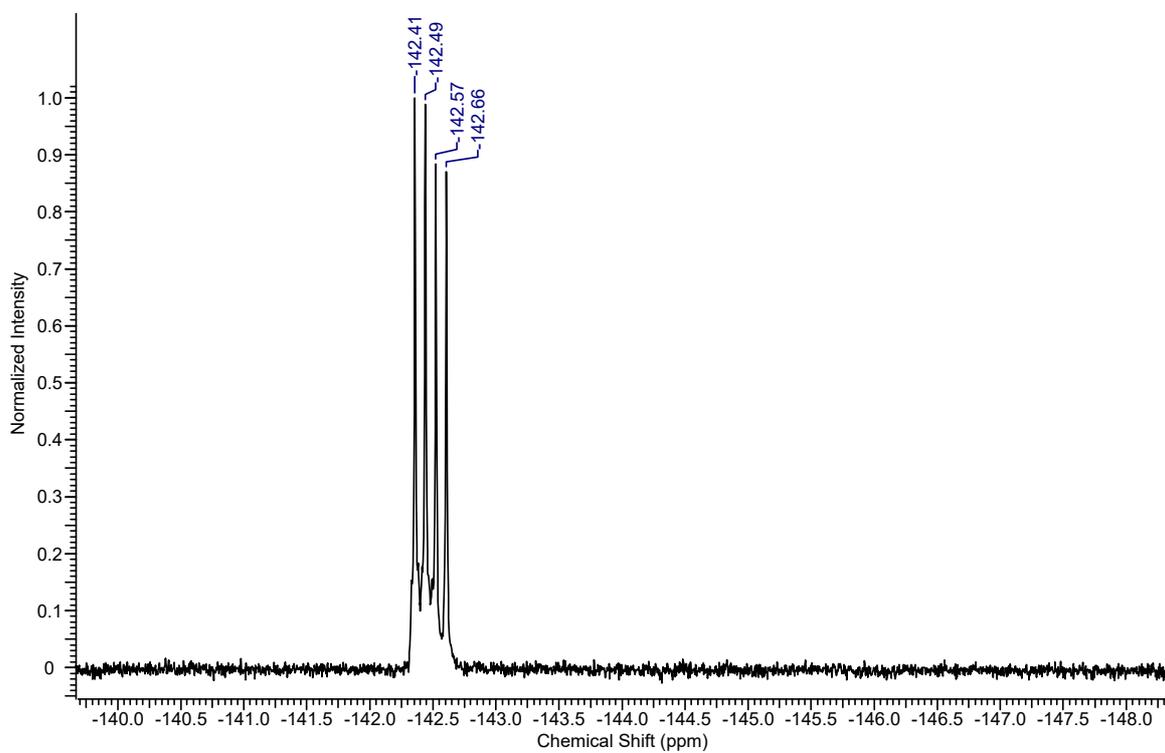


Abbildung 122:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 11 in  $\text{CDCl}_3$ .

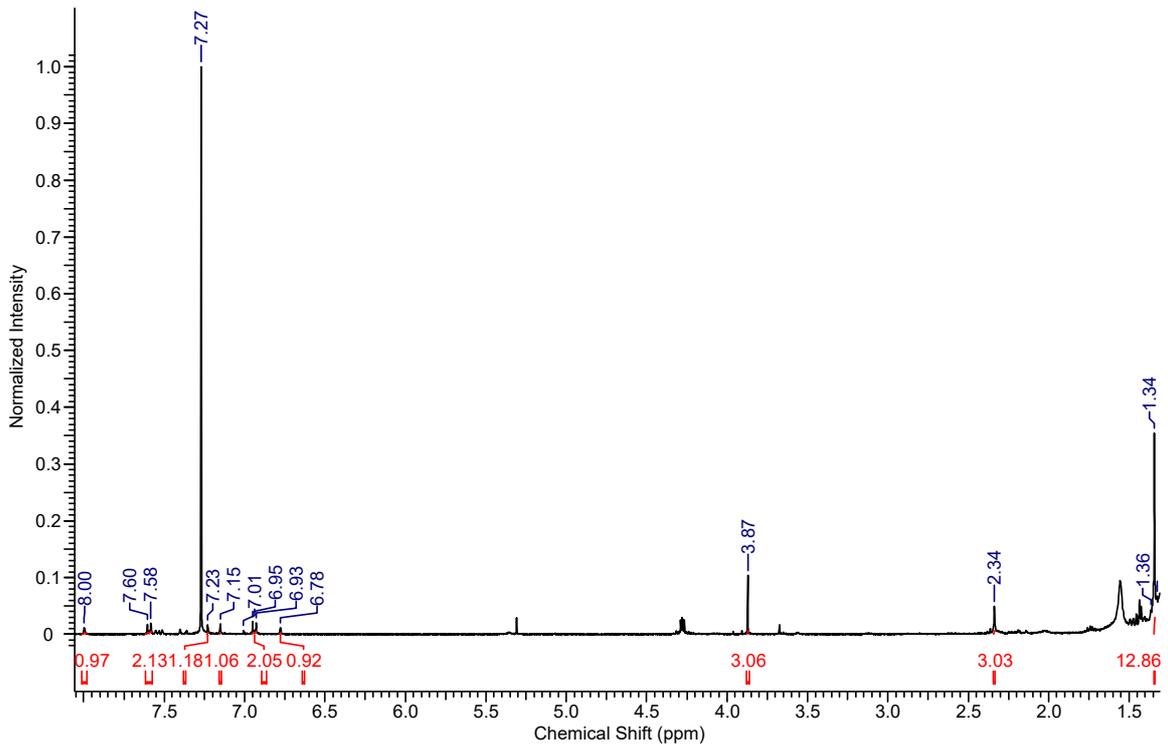


Abbildung 123: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 12 in CDCl<sub>3</sub>.

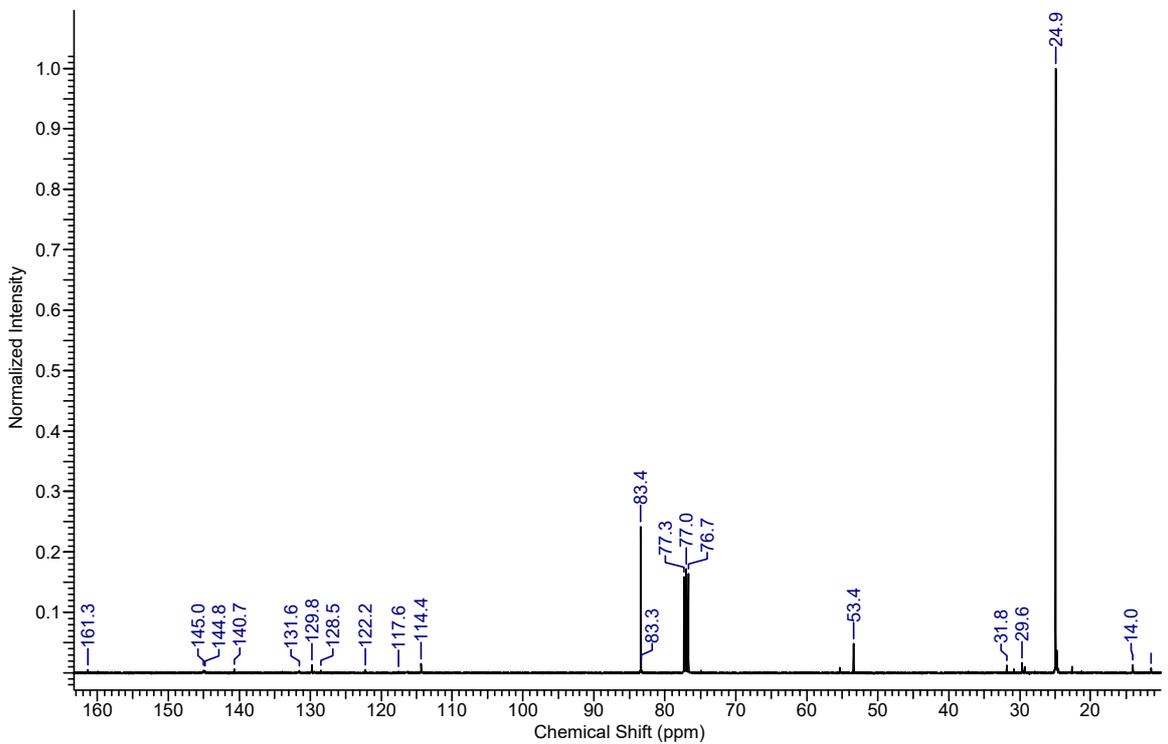


Abbildung 124: <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Verbindung 12 in CDCl<sub>3</sub>.

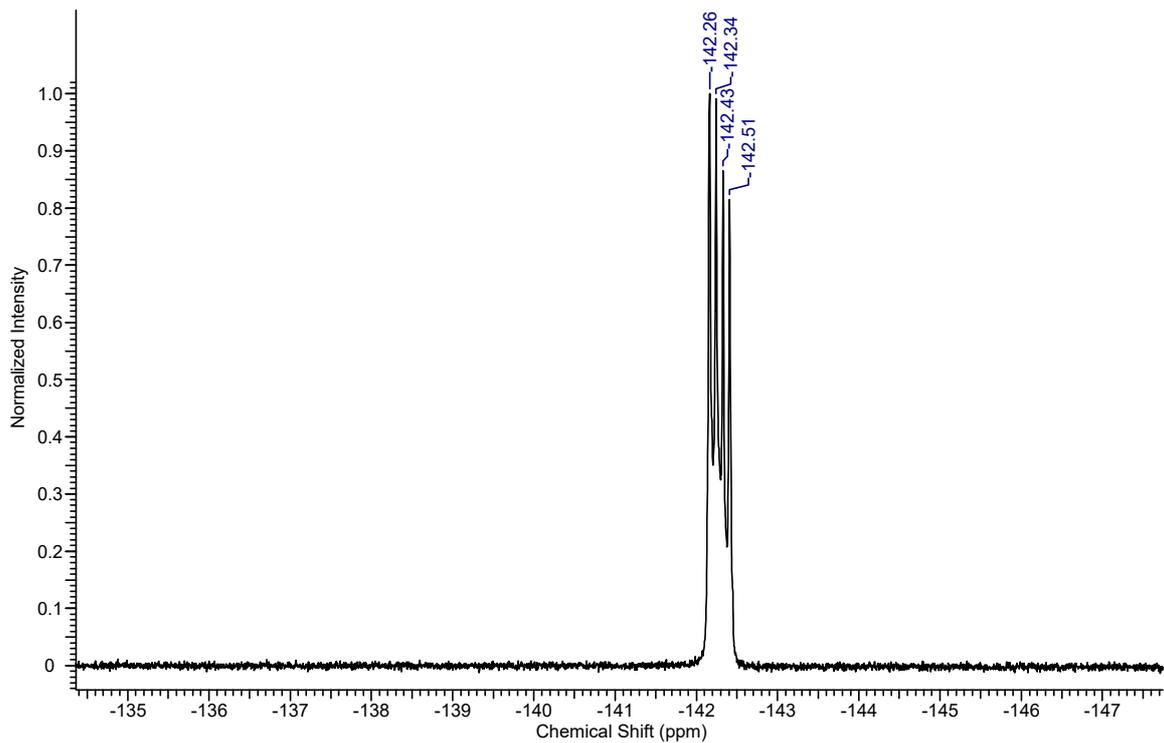


Abbildung 125:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 12 in  $\text{CDCl}_3$ .

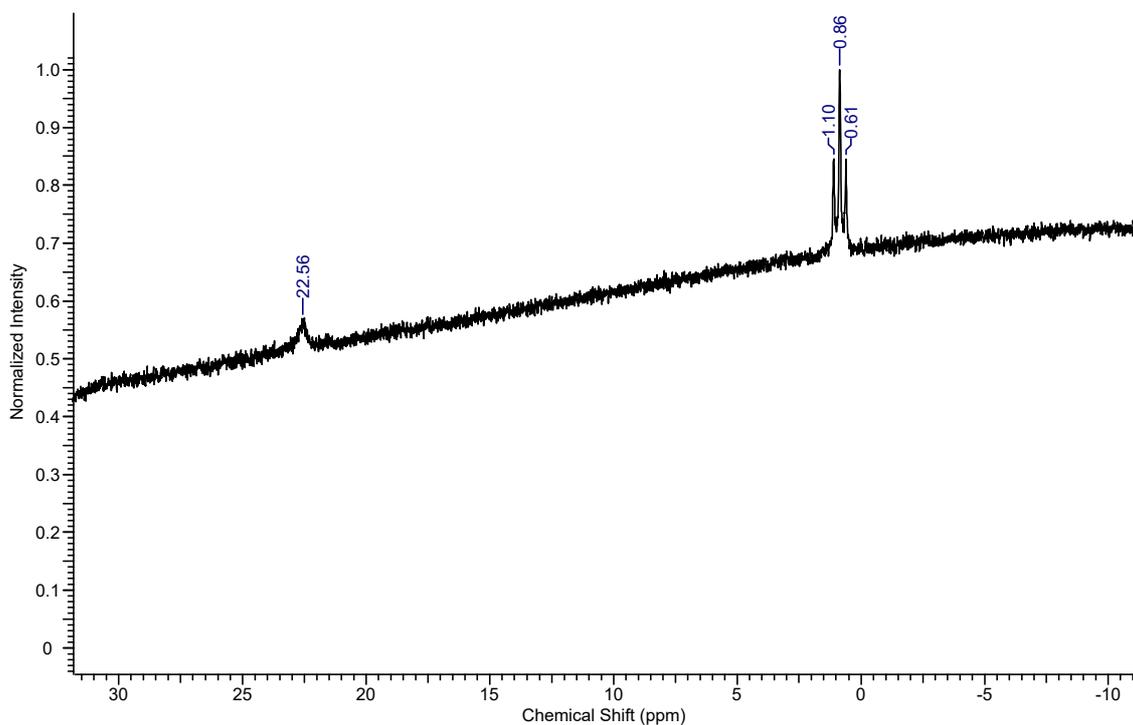


Abbildung 126:  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 12 in  $\text{CDCl}_3$ .

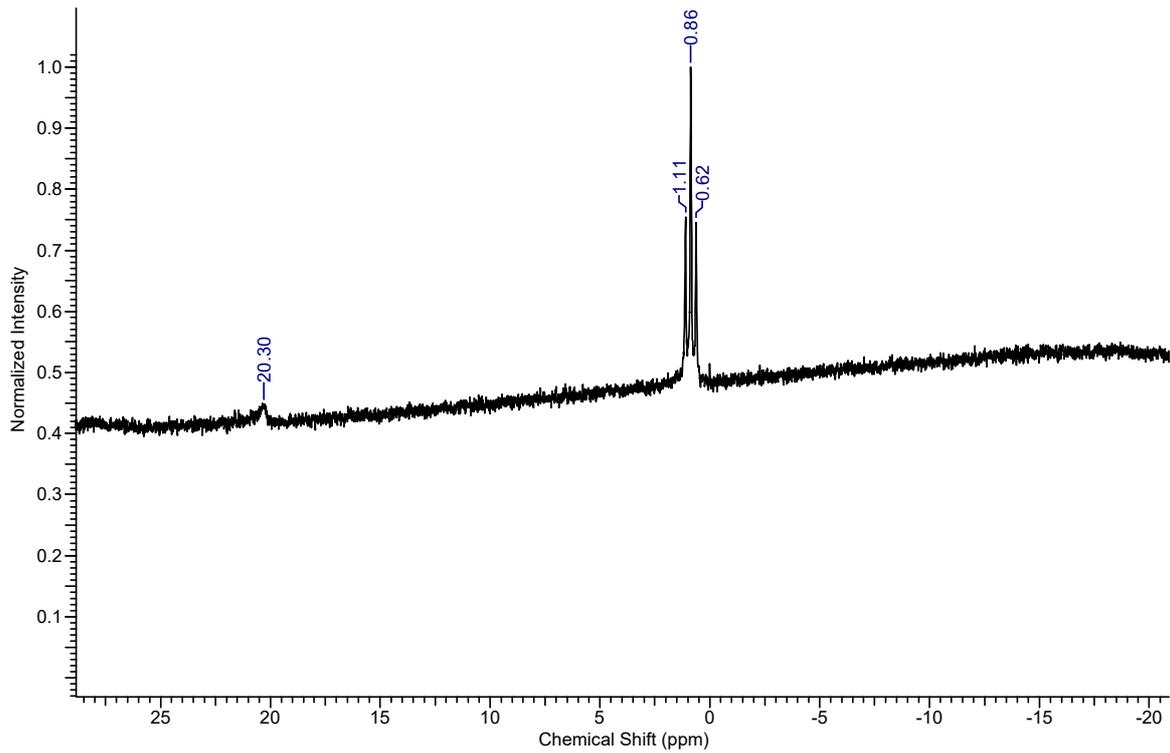


Abbildung 127:  $^{11}\text{B}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **13** in Aceton- $d_6$ .

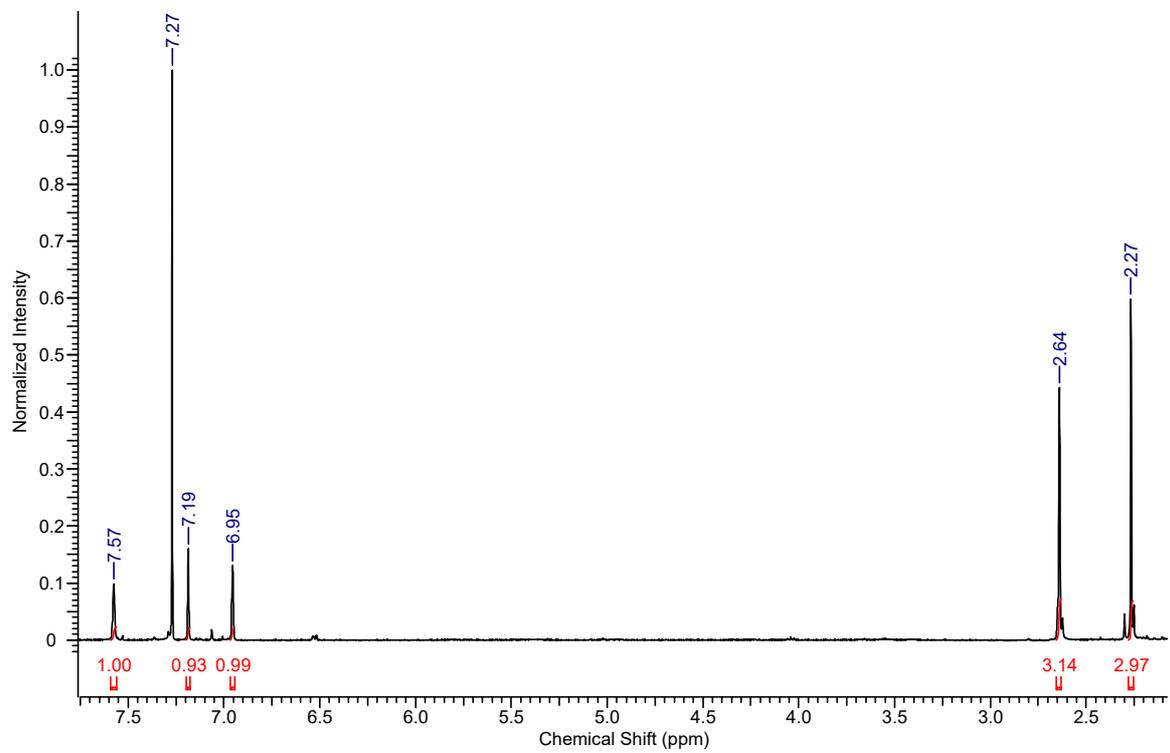


Abbildung 128:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **15a** in  $\text{CDCl}_3$ .

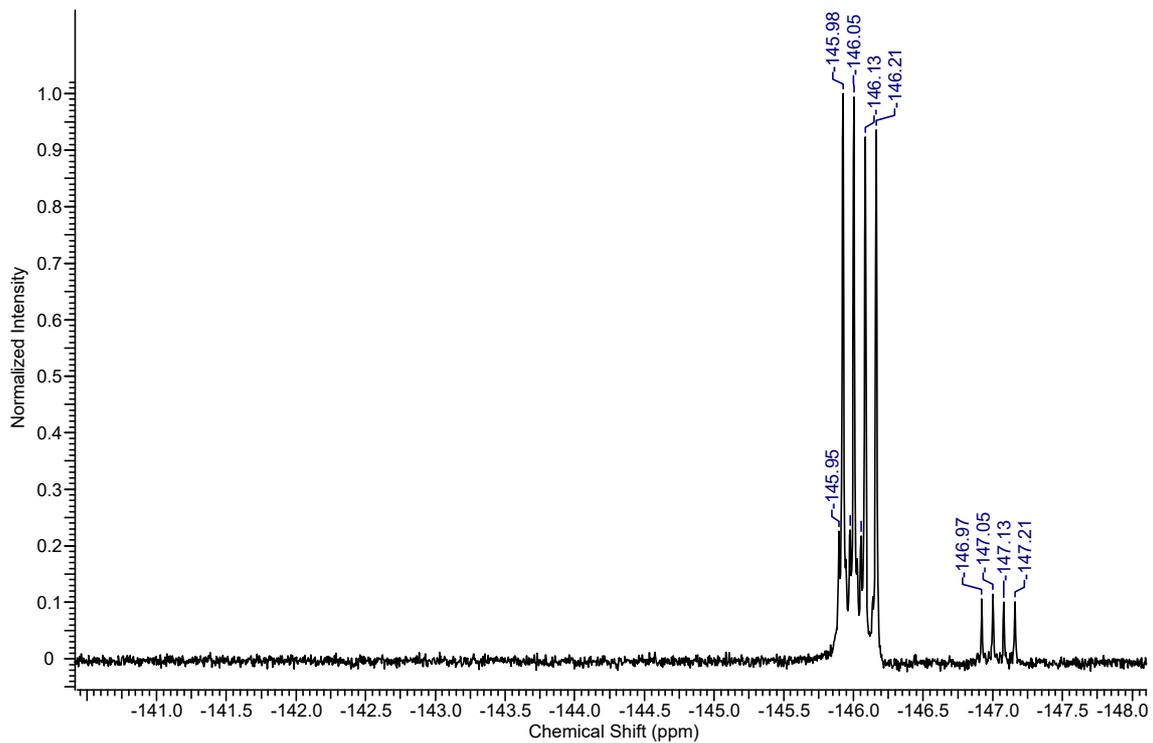


Abbildung 129:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **15a** in  $\text{CDCl}_3$ .

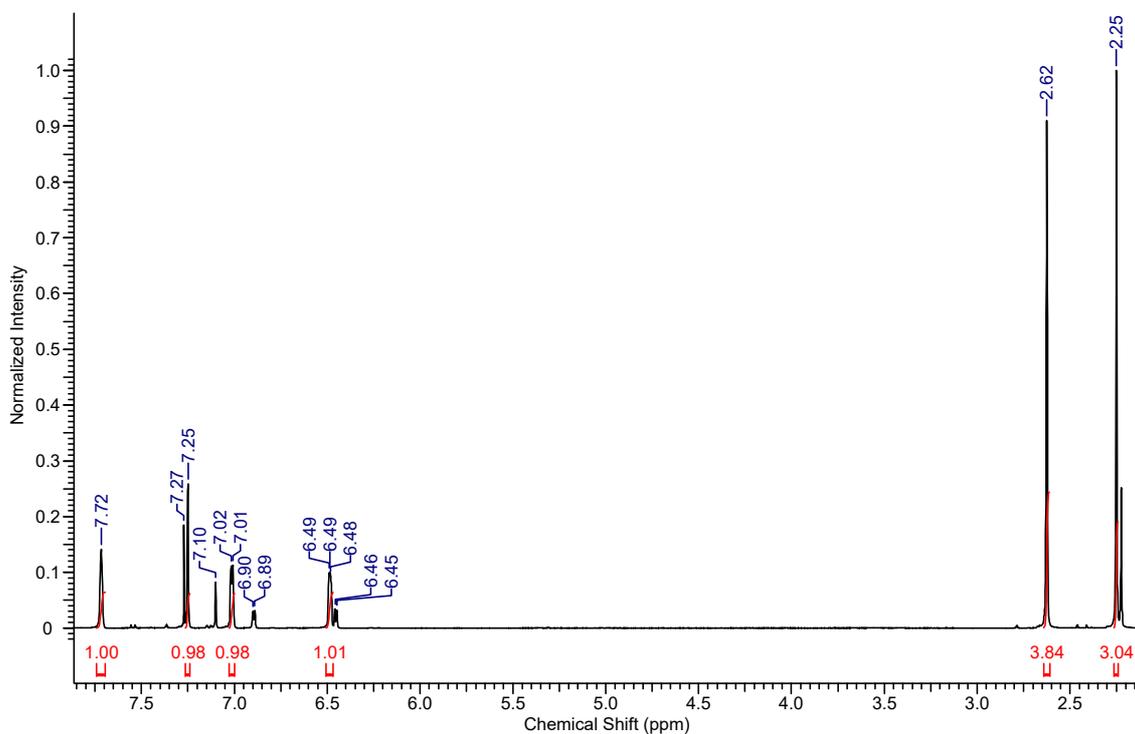


Abbildung 130:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **15b** in  $\text{CDCl}_3$ .

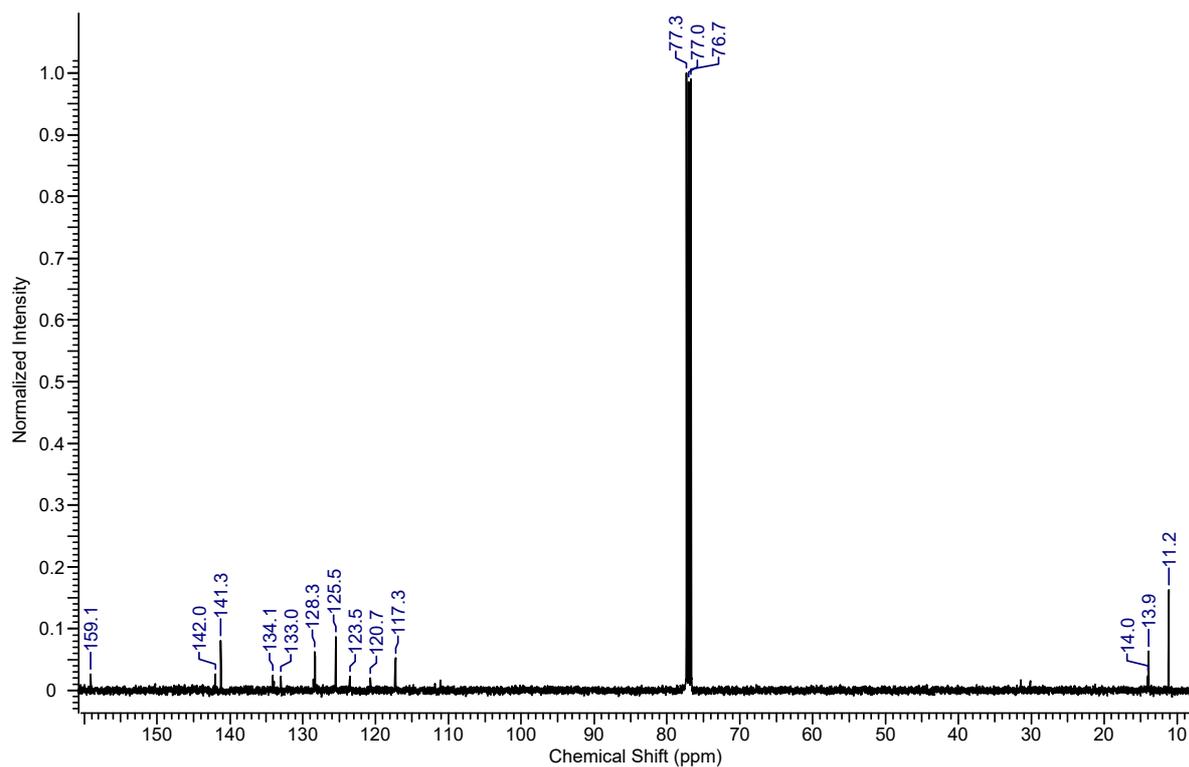


Abbildung 131:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **15b** in  $\text{CDCl}_3$ .

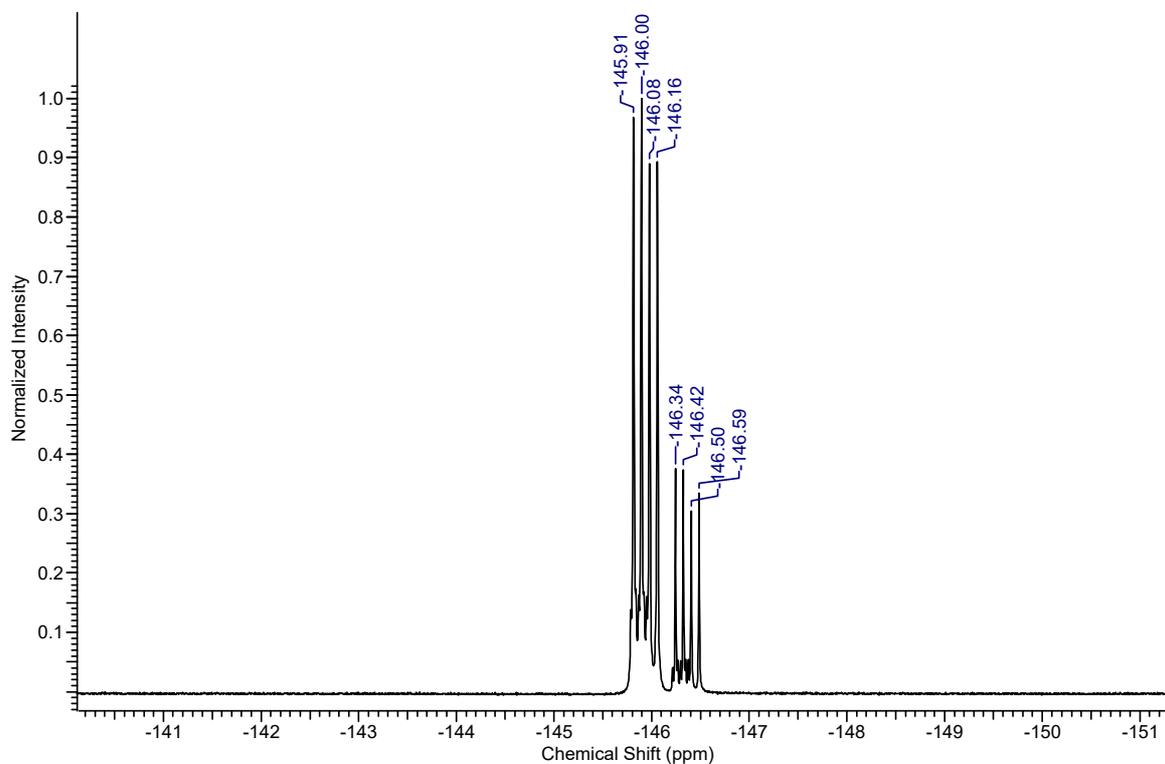


Abbildung 132:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **15b** in  $\text{CDCl}_3$ .

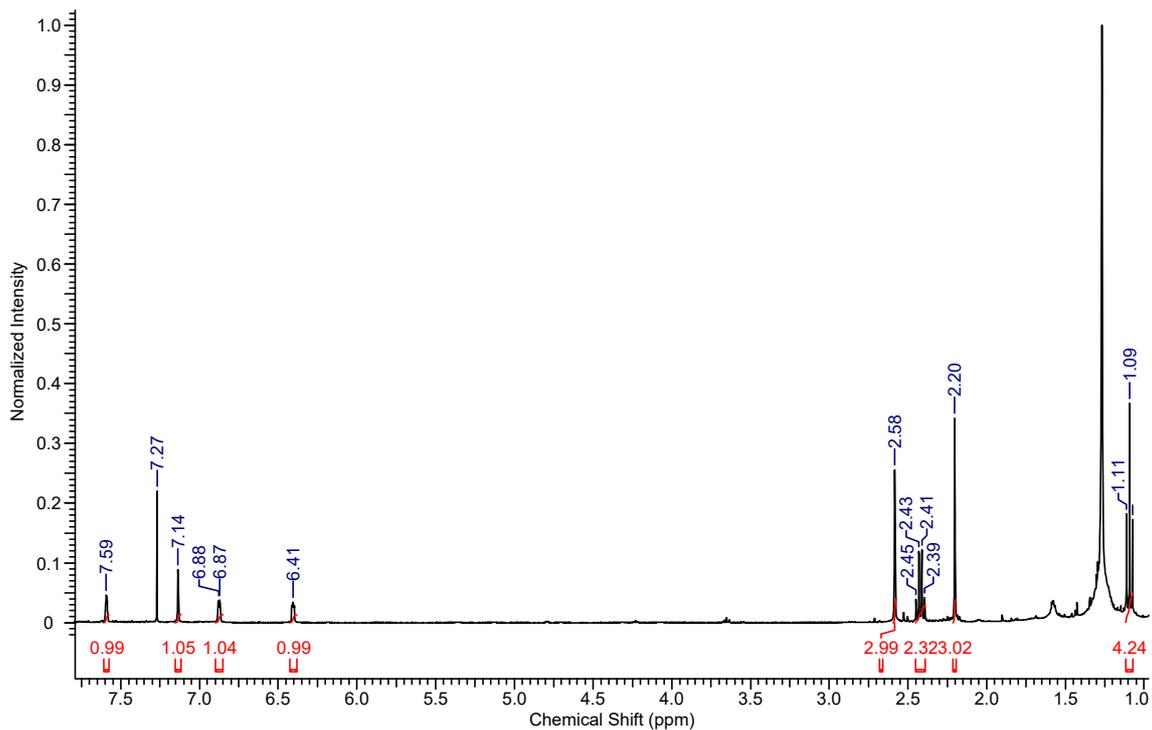


Abbildung 133:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **16** in  $\text{CDCl}_3$ .

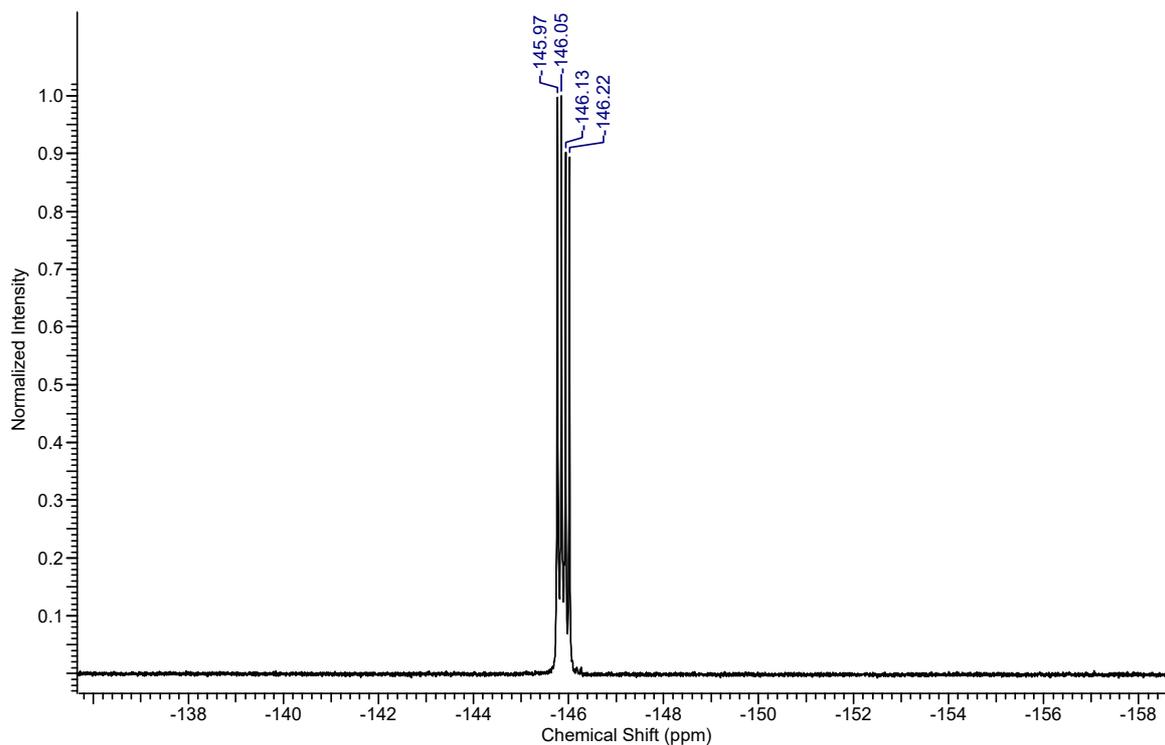


Abbildung 134:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **16** in  $\text{CDCl}_3$ .

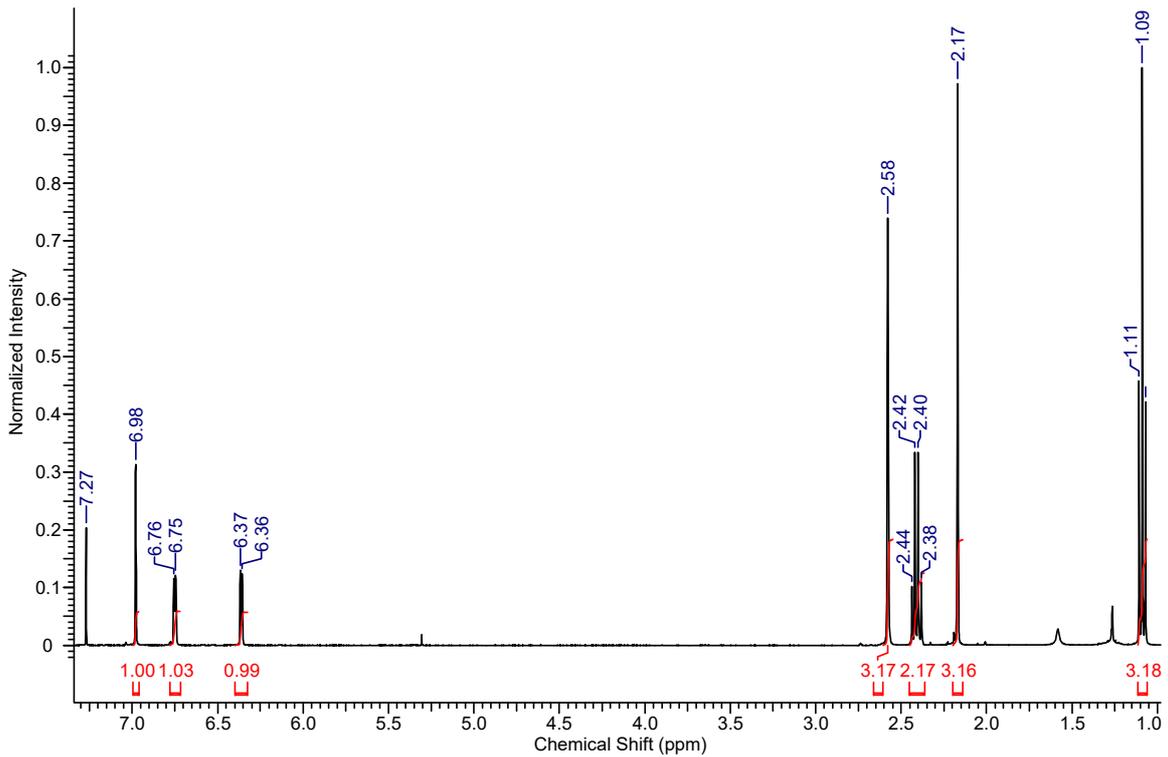


Abbildung 135: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 17 in CDCl<sub>3</sub>.

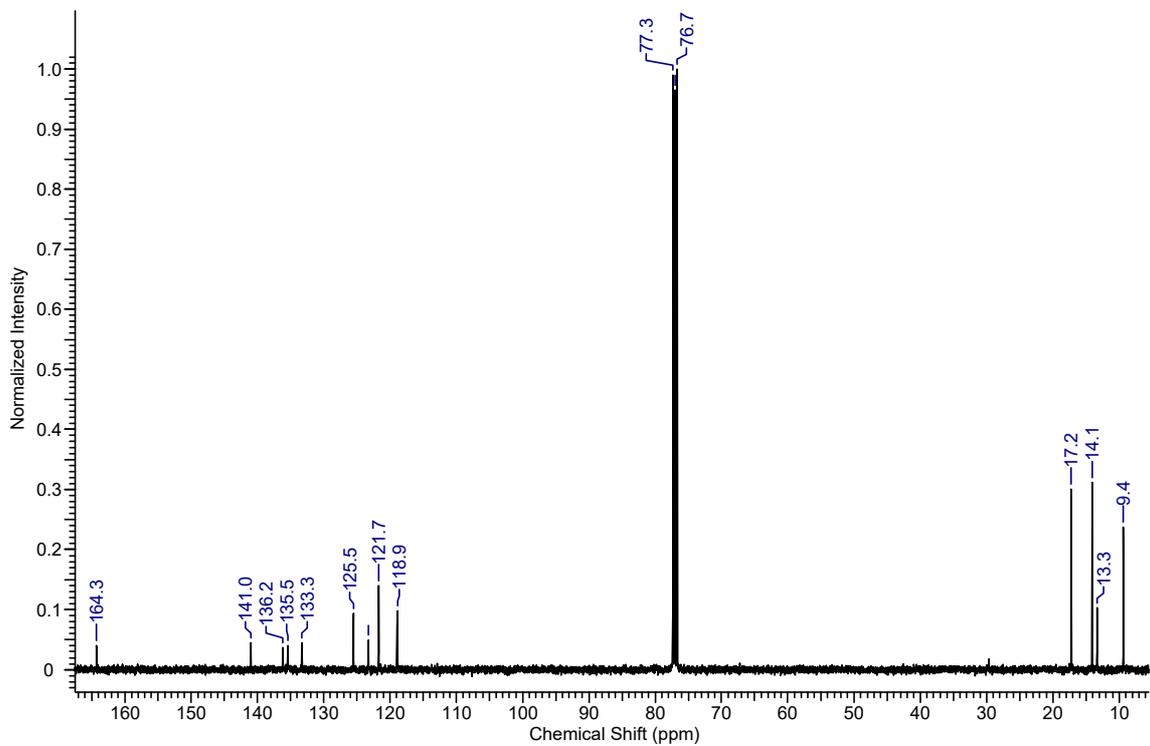


Abbildung 136: <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Verbindung 17 in CDCl<sub>3</sub>.

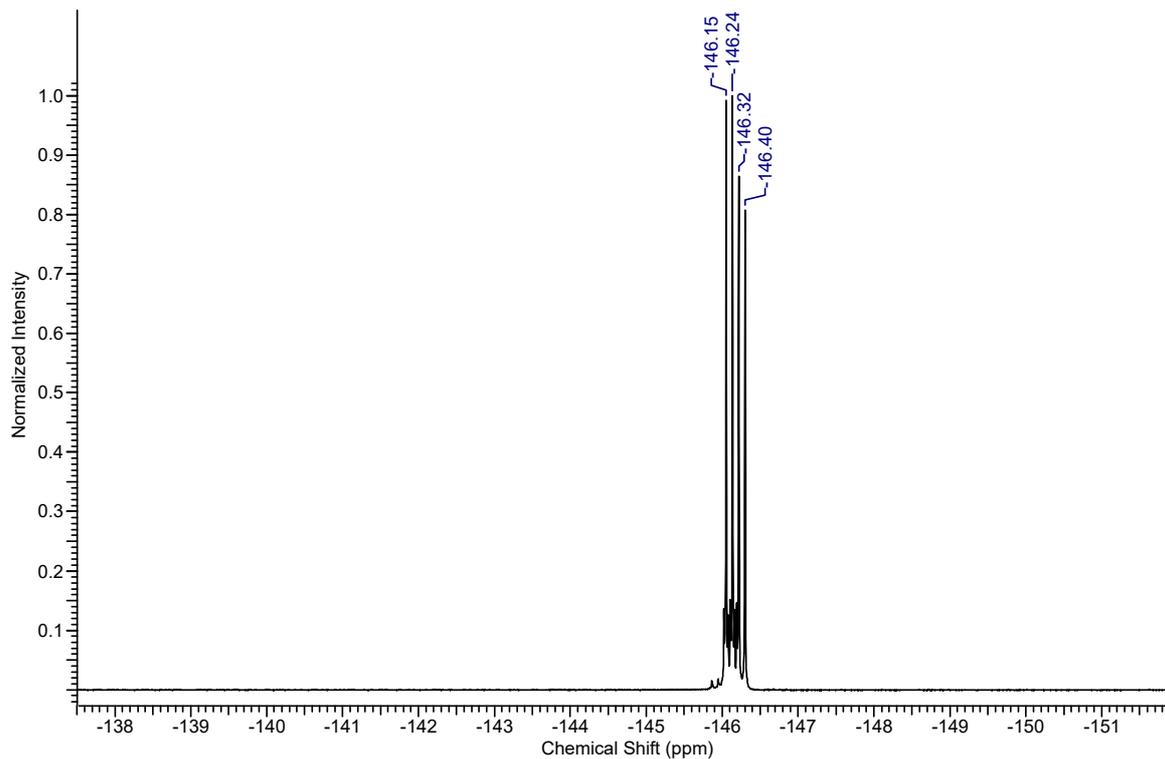


Abbildung 137:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **17** in  $\text{CDCl}_3$ .

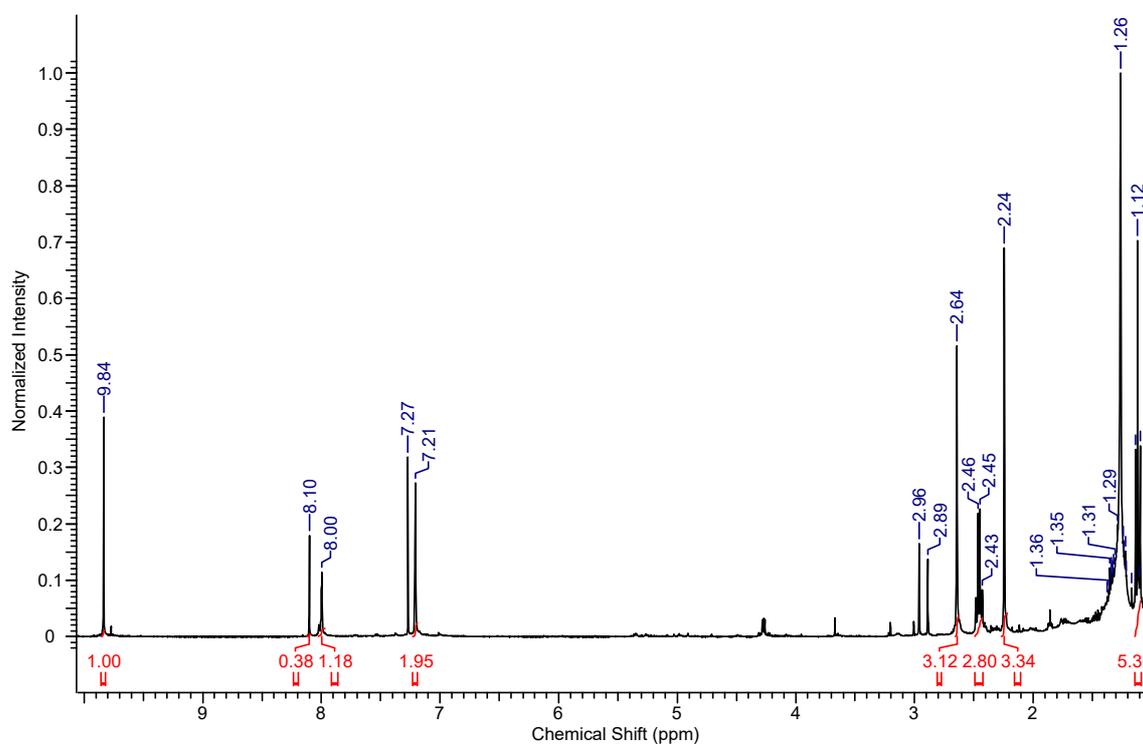


Abbildung 138:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **21** in  $\text{CDCl}_3$ .

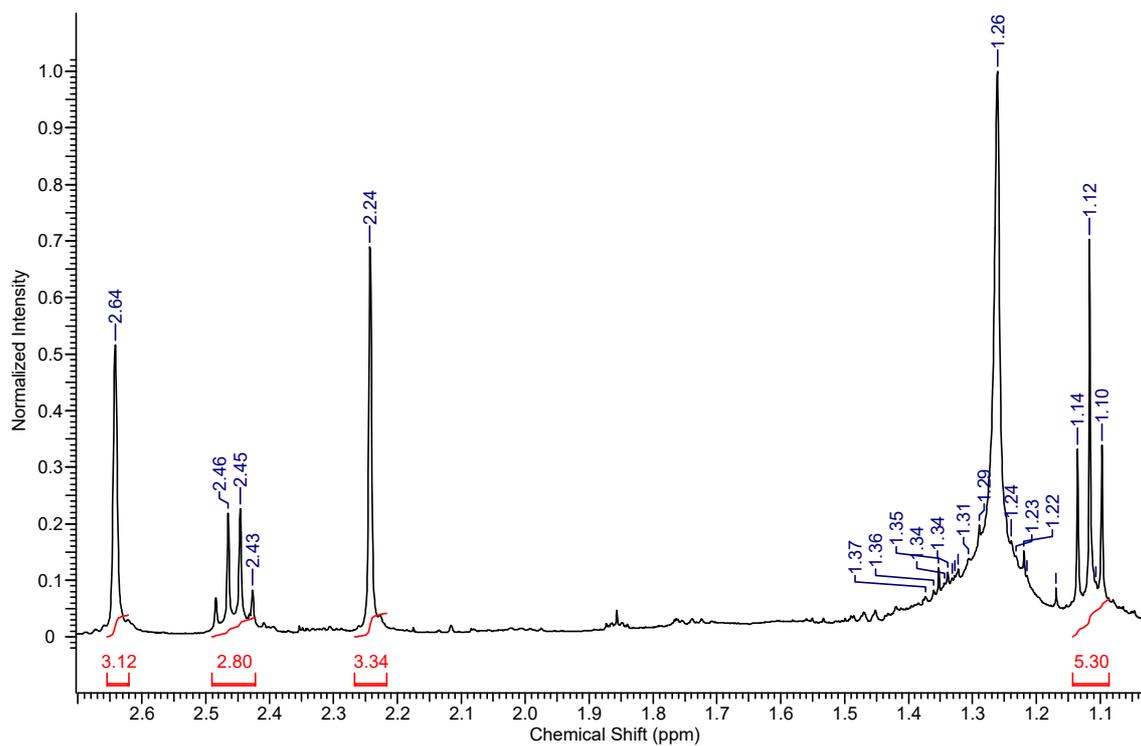


Abbildung 139: Reingezoomter Methylbereich vom  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **21** in  $\text{CDCl}_3$ .

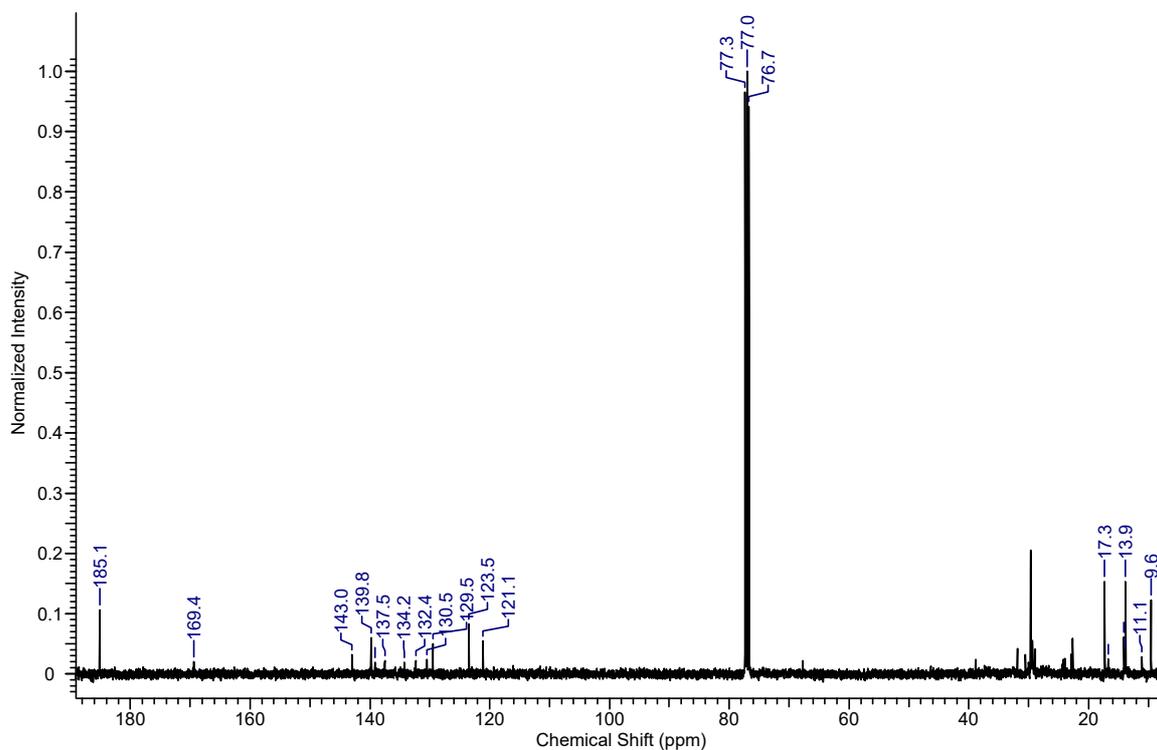


Abbildung 140:  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **21** in  $\text{CDCl}_3$ .

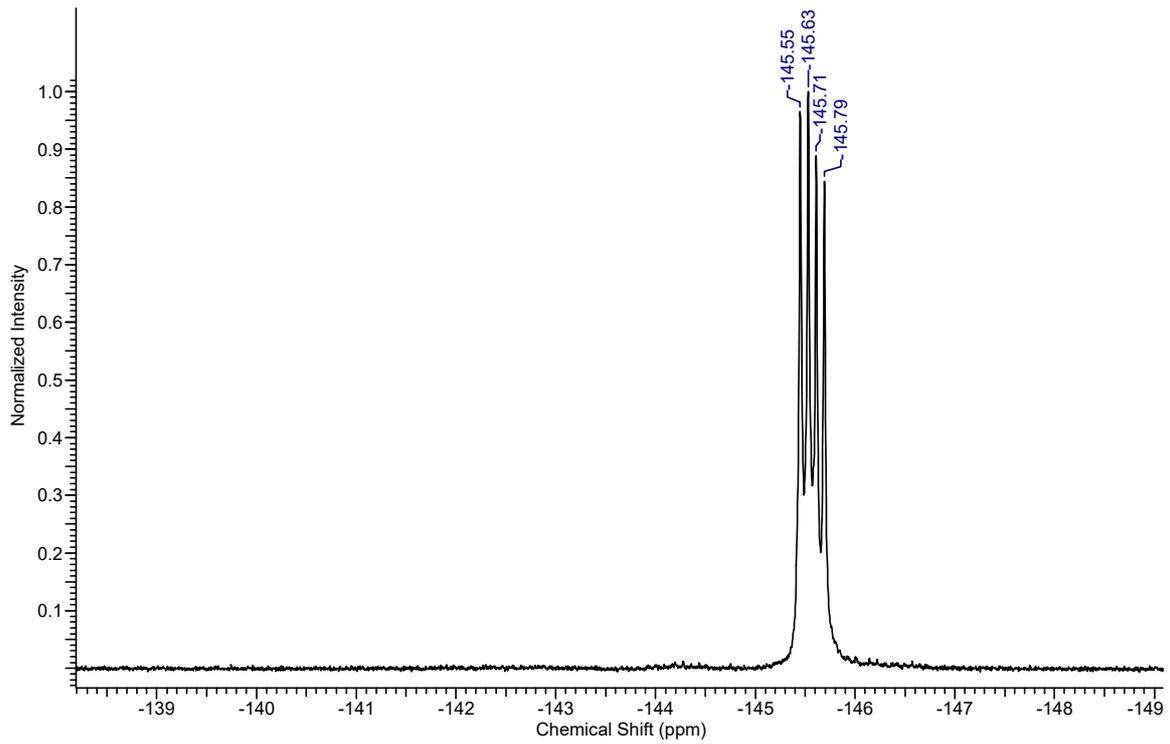


Abbildung 141:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **21** in  $\text{CDCl}_3$ .

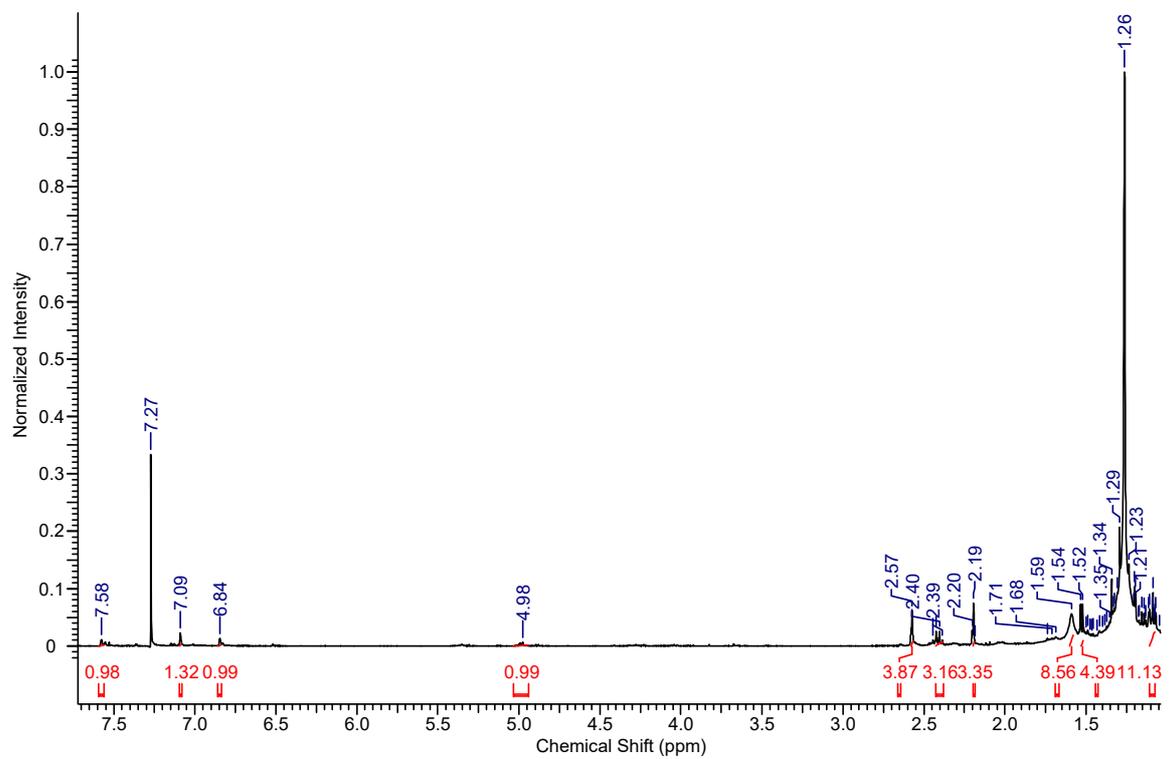


Abbildung 142:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **22** in  $\text{CDCl}_3$ .

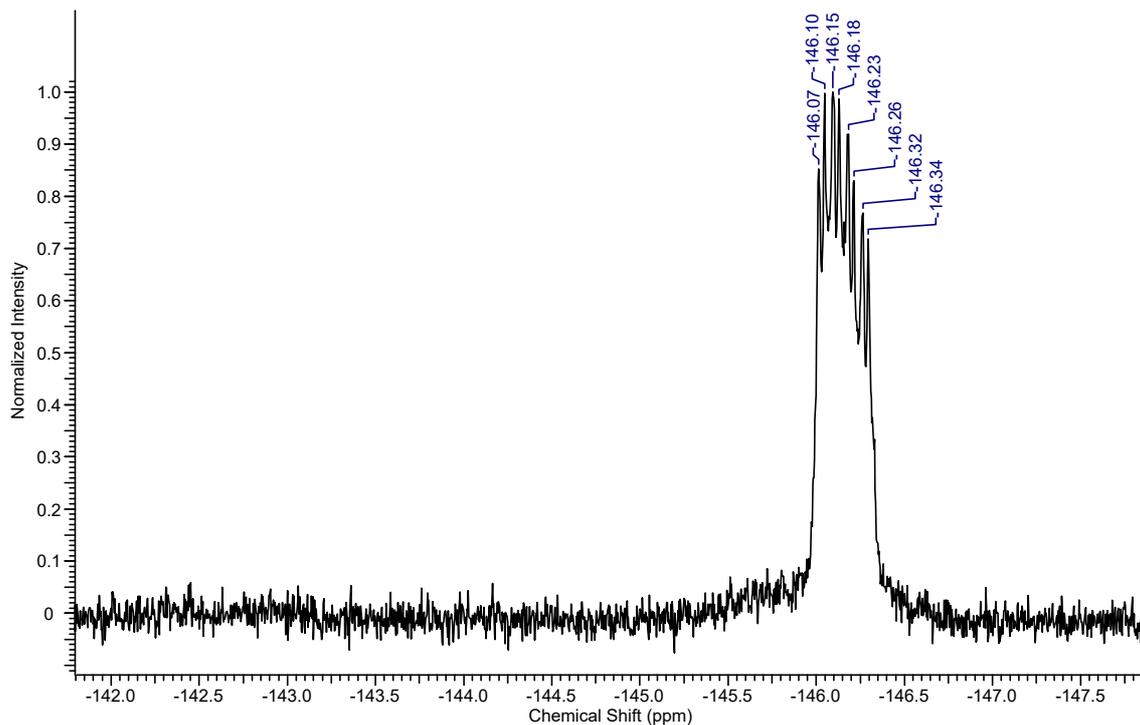


Abbildung 143:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **22** in  $\text{CDCl}_3$ .

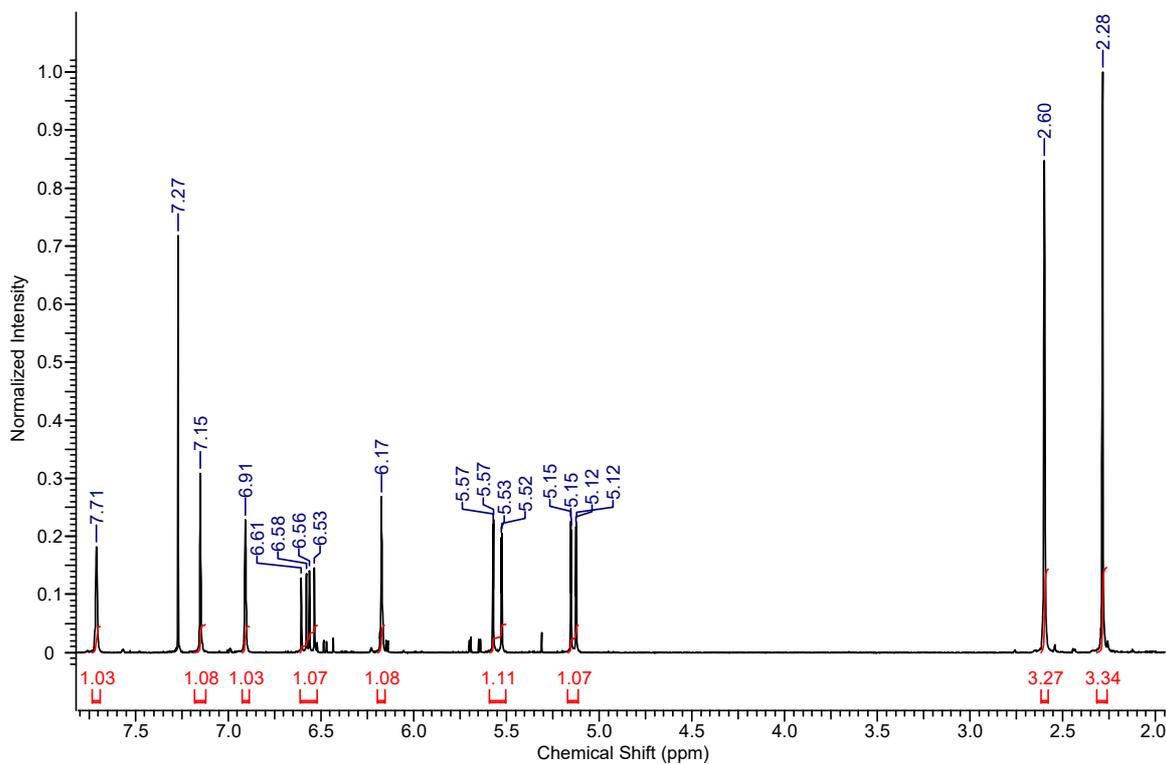


Abbildung 144:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **25** in  $\text{CDCl}_3$ .

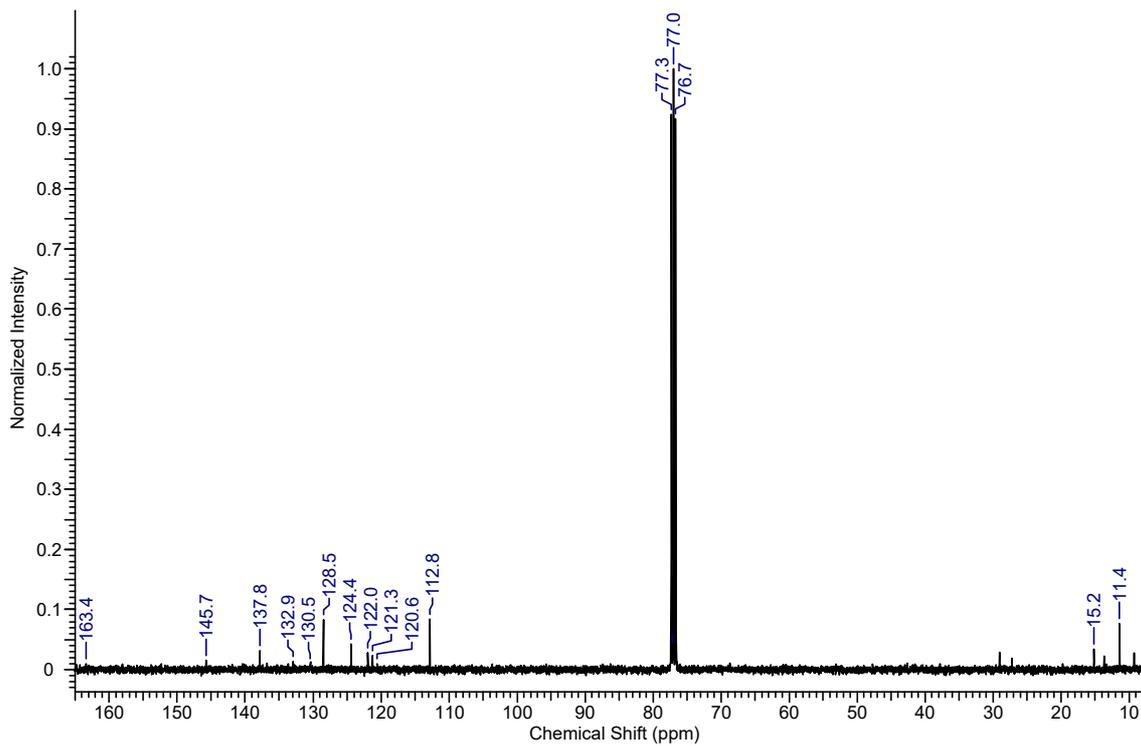


Abbildung 145:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **25** in  $\text{CDCl}_3$ .

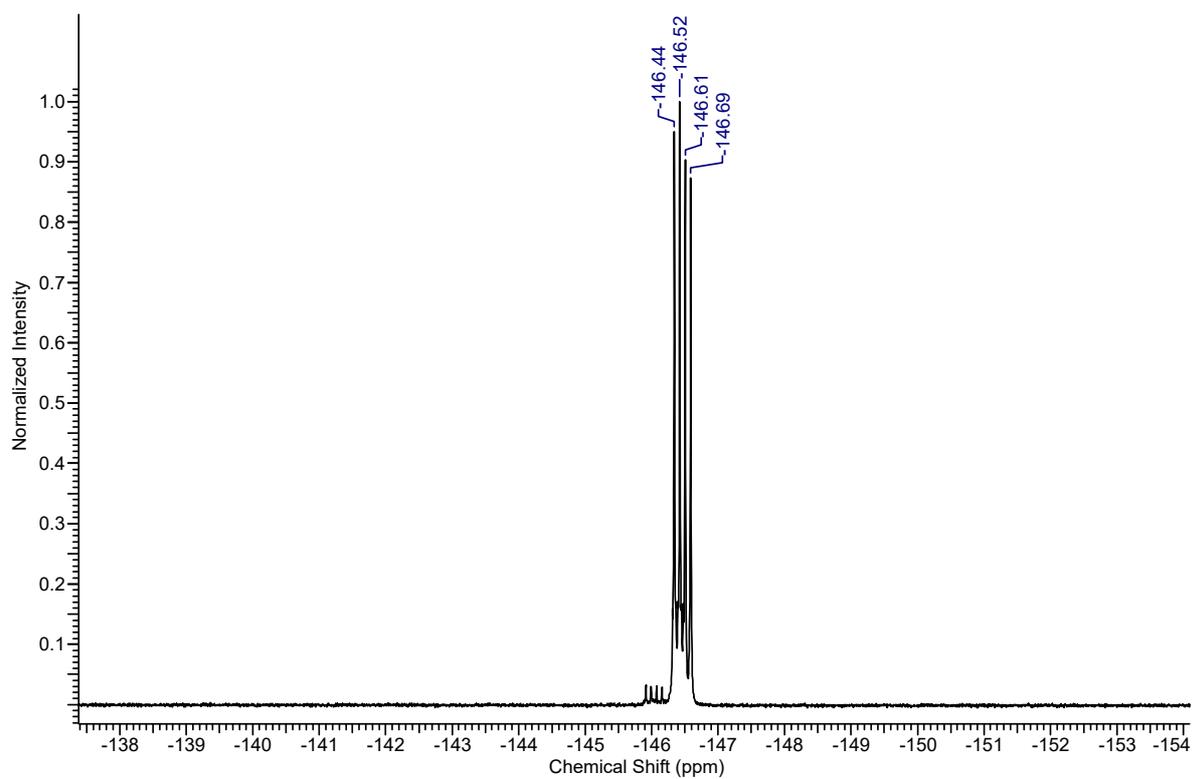


Abbildung 146:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **25** in  $\text{CDCl}_3$ .

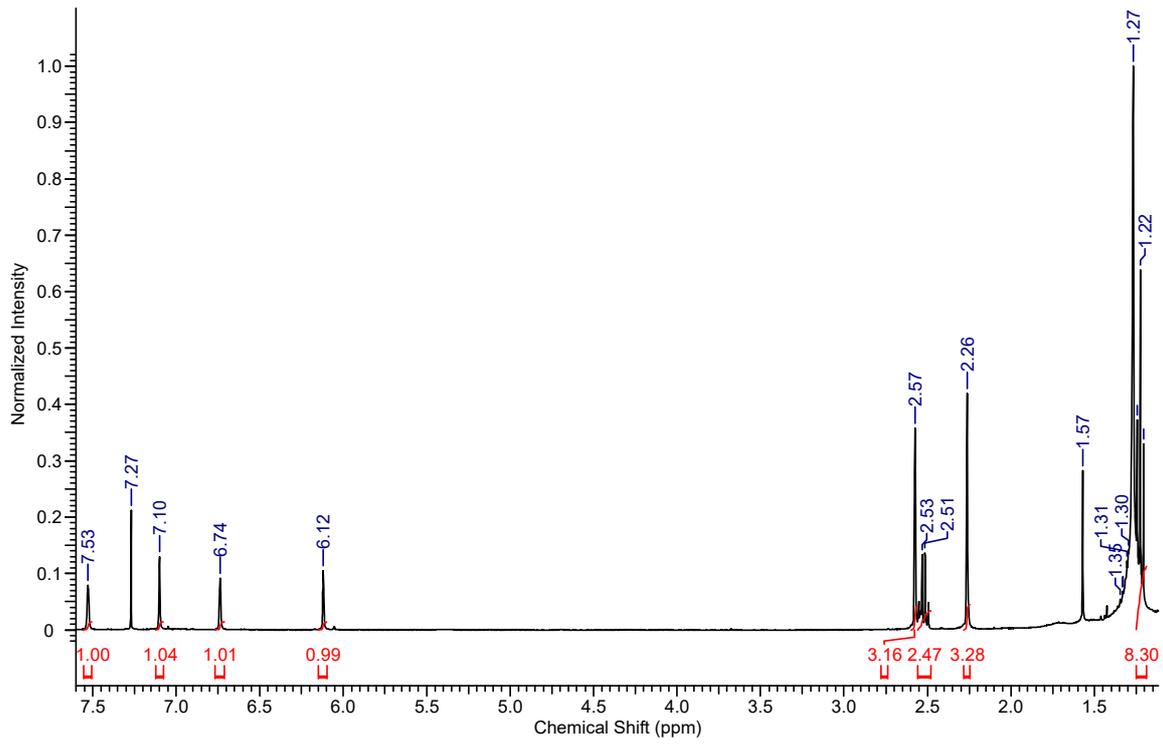


Abbildung 147: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 26 in CDCl<sub>3</sub>.

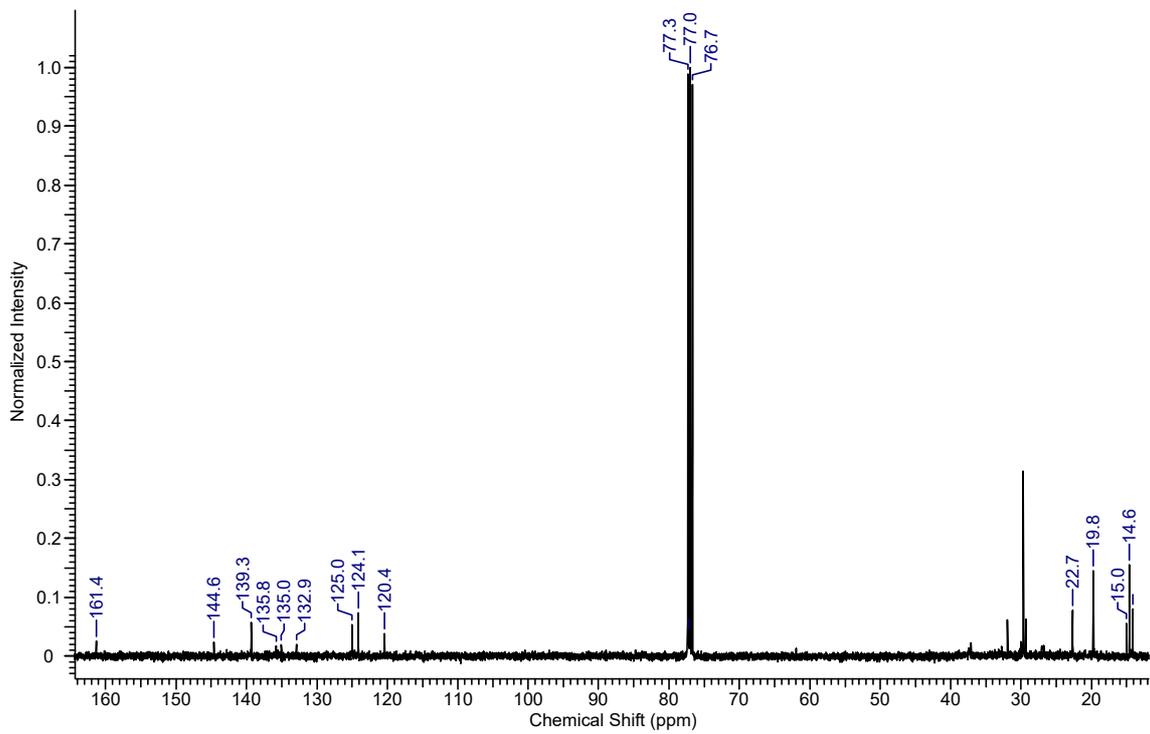


Abbildung 148: <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Verbindung 26 in CDCl<sub>3</sub>.

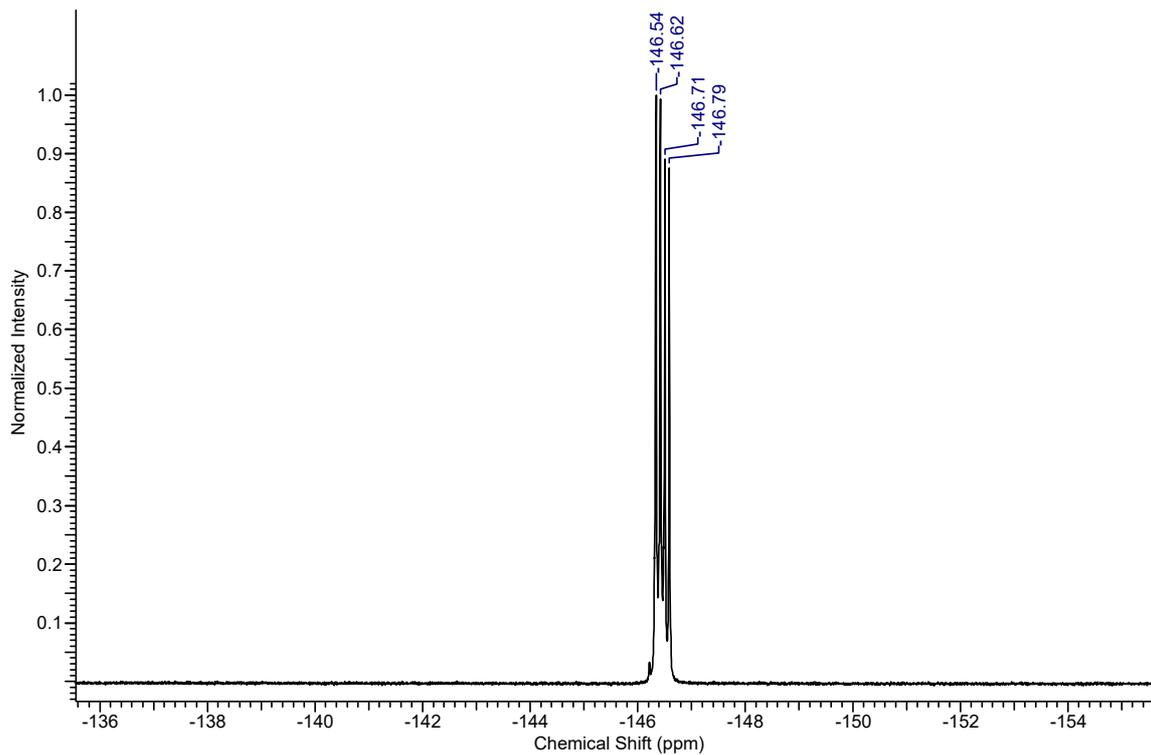


Abbildung 149:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **26** in  $\text{CDCl}_3$ .

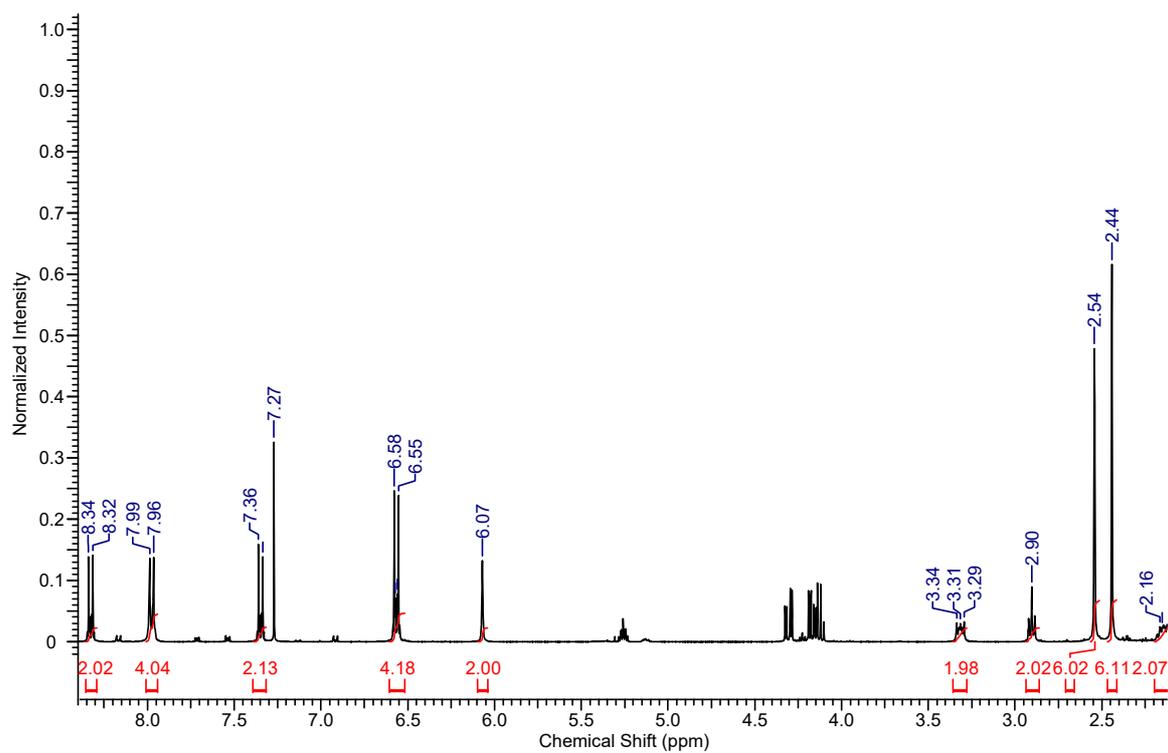


Abbildung 150:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **29** in  $\text{CDCl}_3$ .

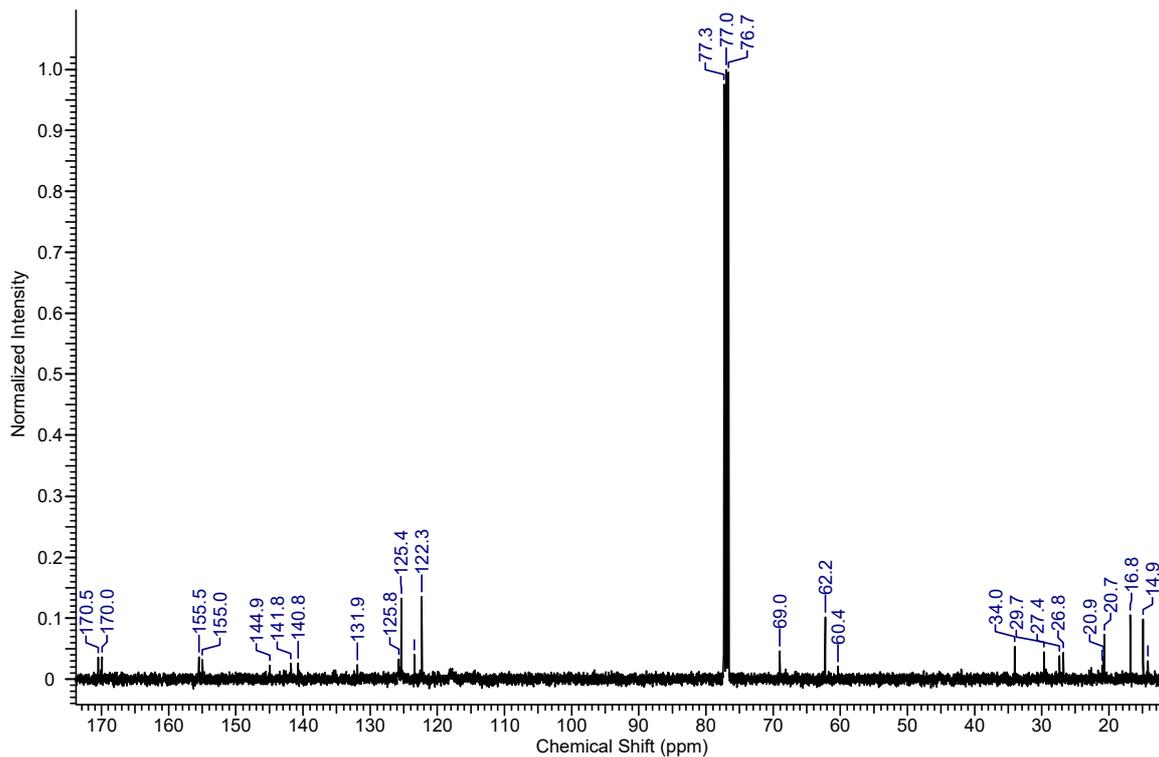


Abbildung 151:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **29** in  $\text{CDCl}_3$ .

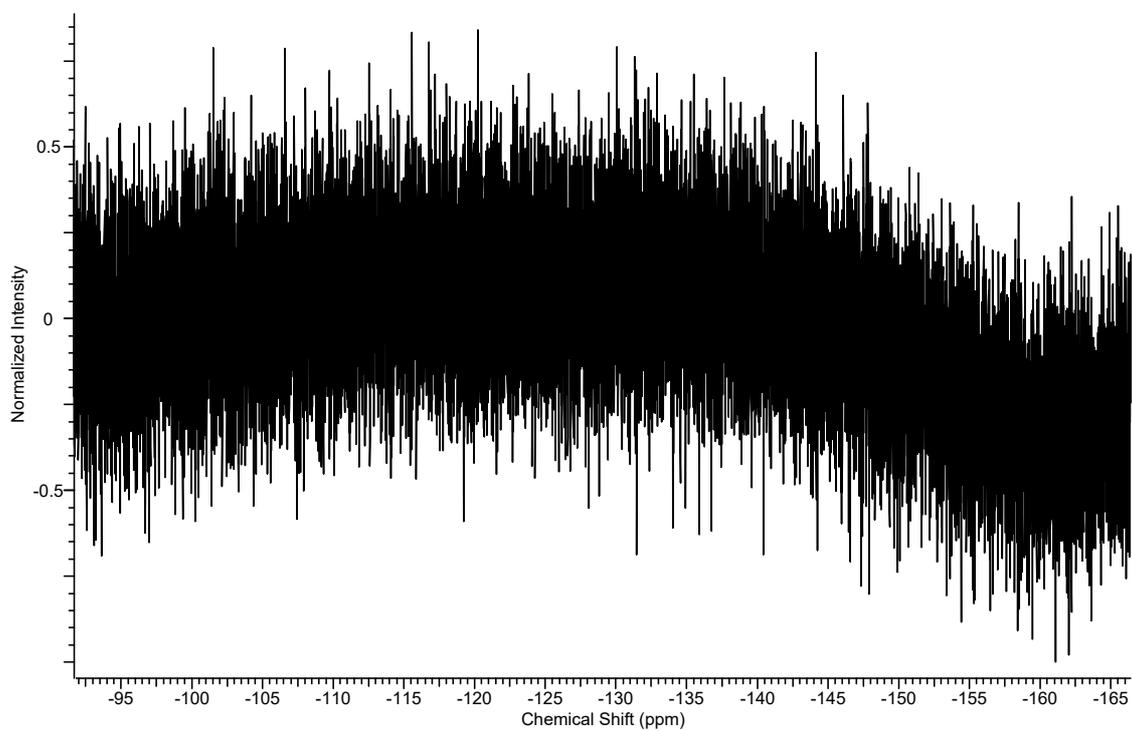


Abbildung 152:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **29** in  $\text{CDCl}_3$  (als Negativbeweis).

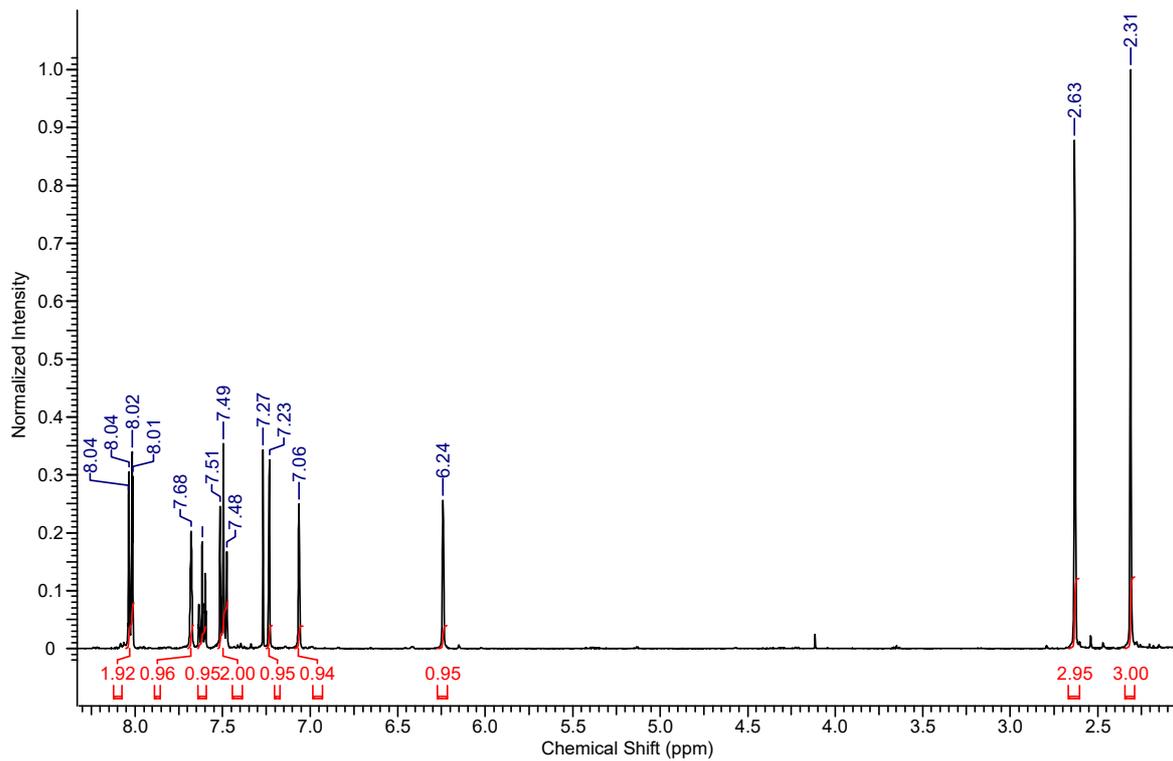


Abbildung 153: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Verbindung 34 in CDCl<sub>3</sub>.

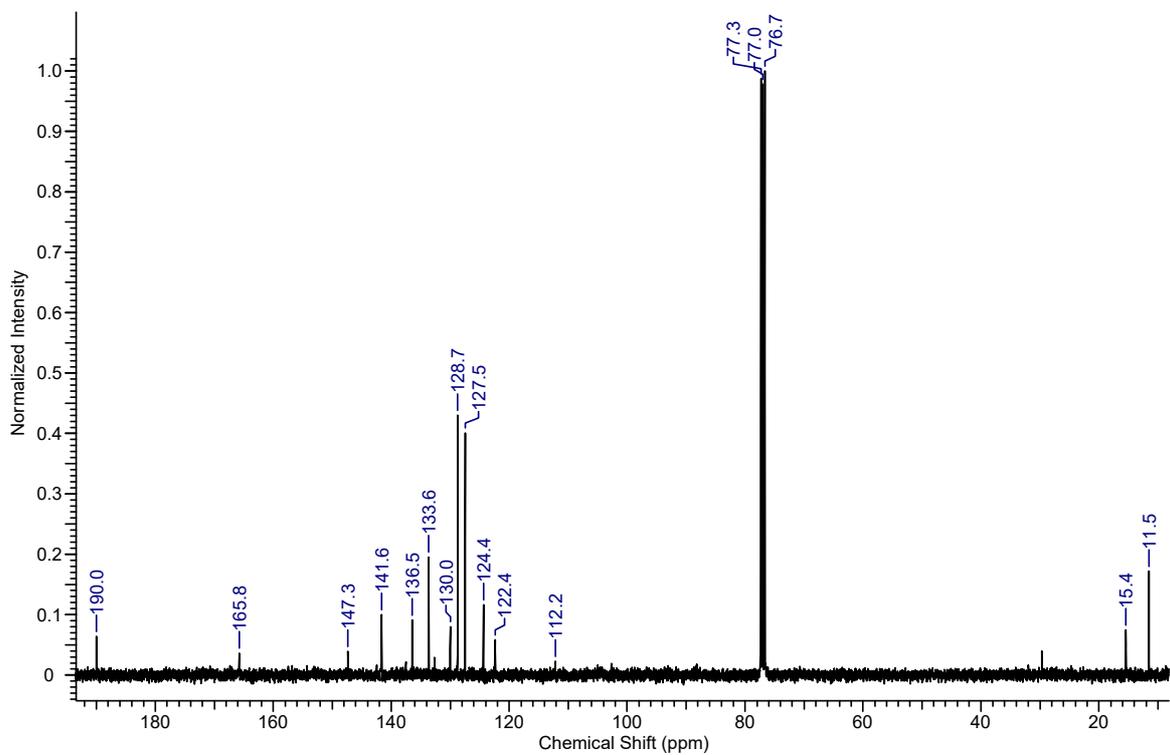


Abbildung 154: <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Verbindung 34 in CDCl<sub>3</sub>.

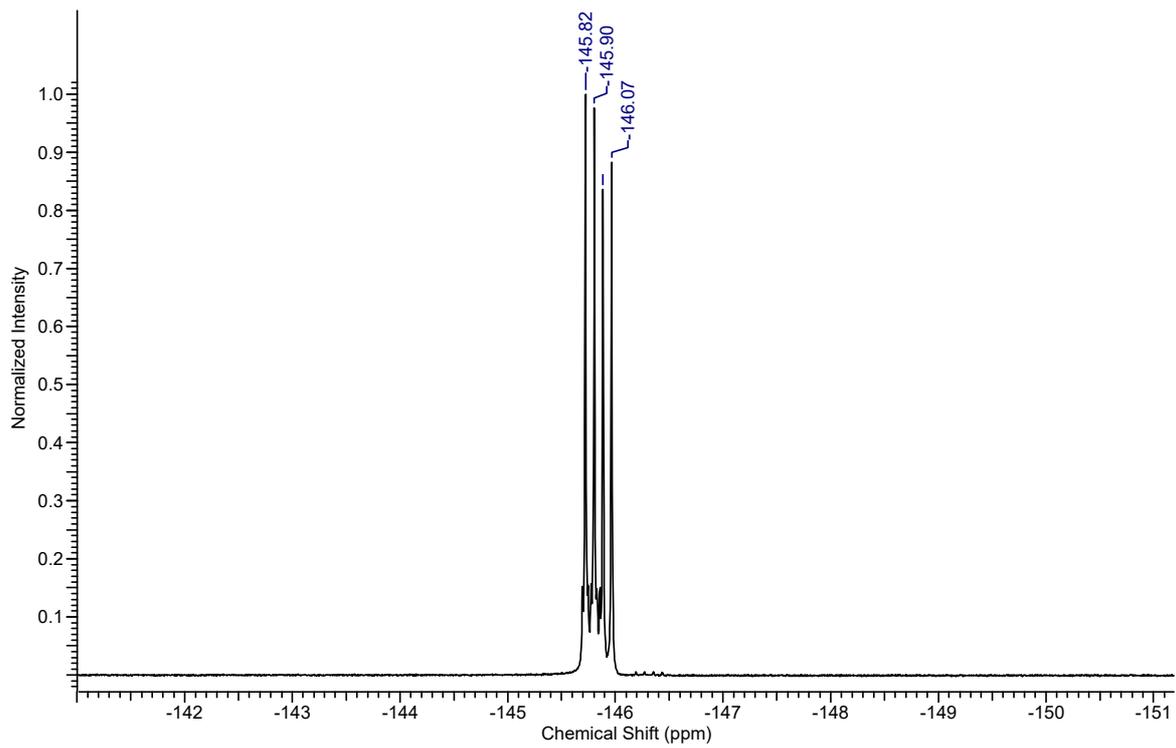


Abbildung 155:  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **34** in  $\text{CDCl}_3$ .

### A.3. MS-Spektren

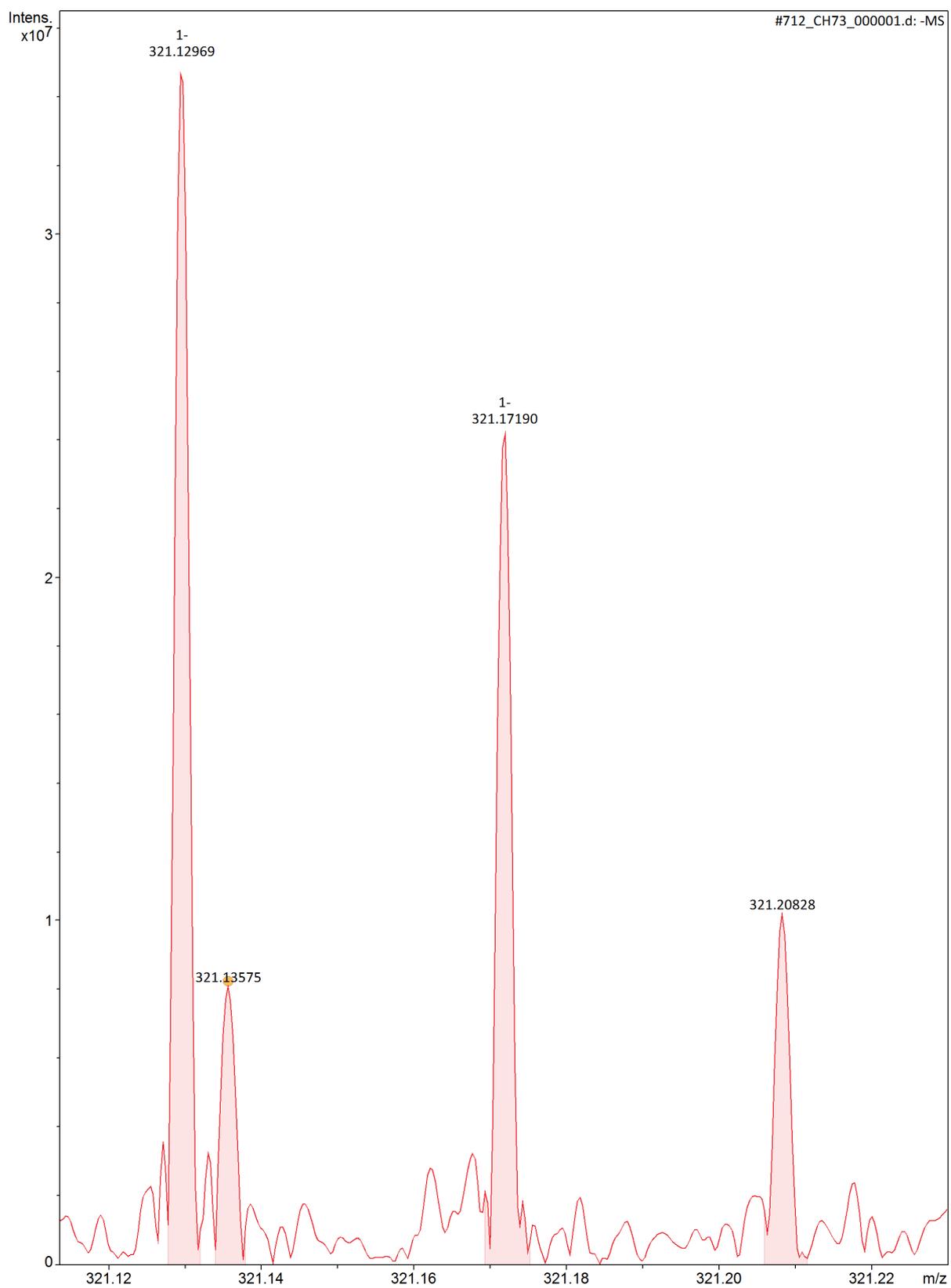


Abbildung 156: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 3.

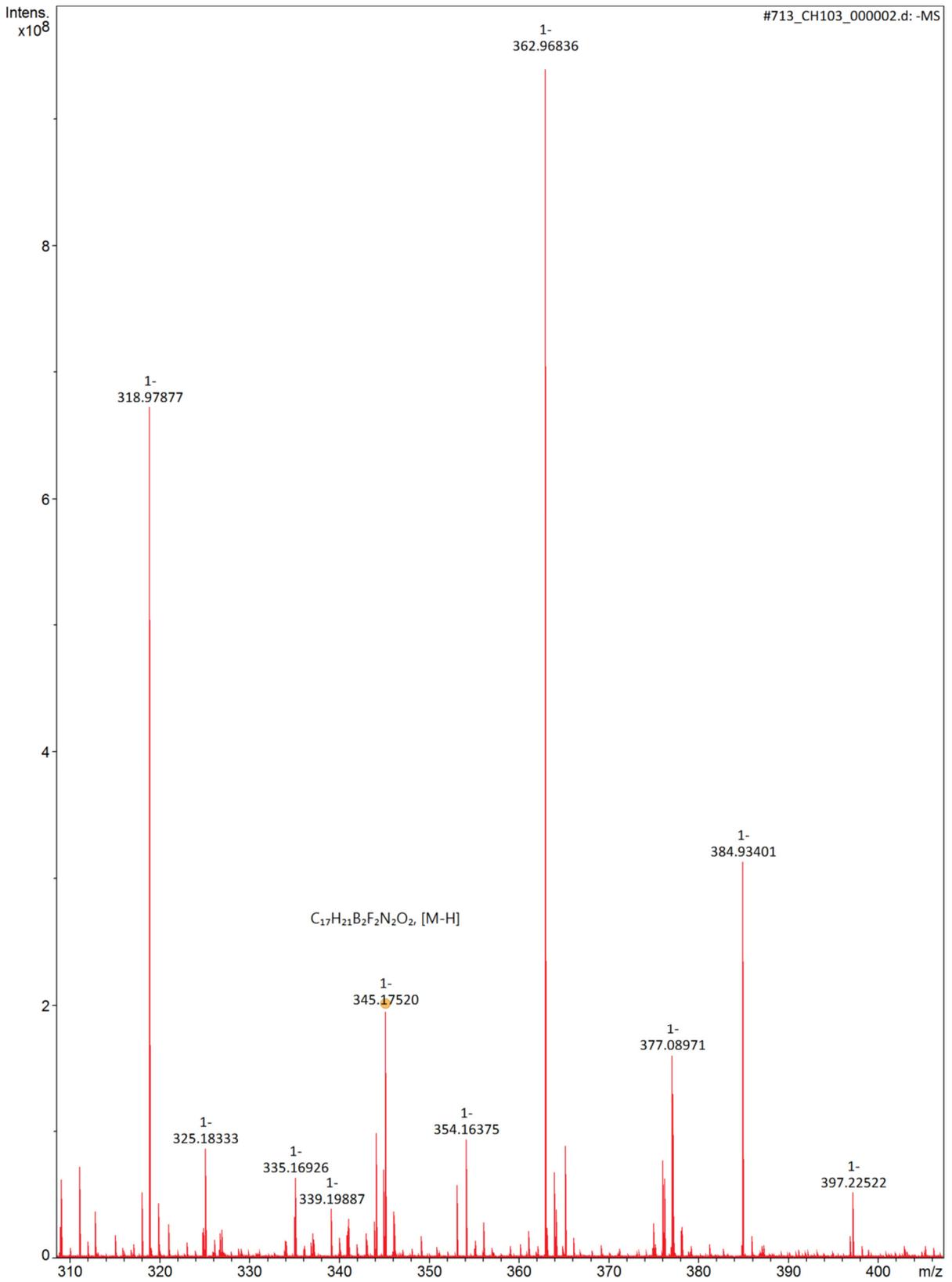


Abbildung 157: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 7.

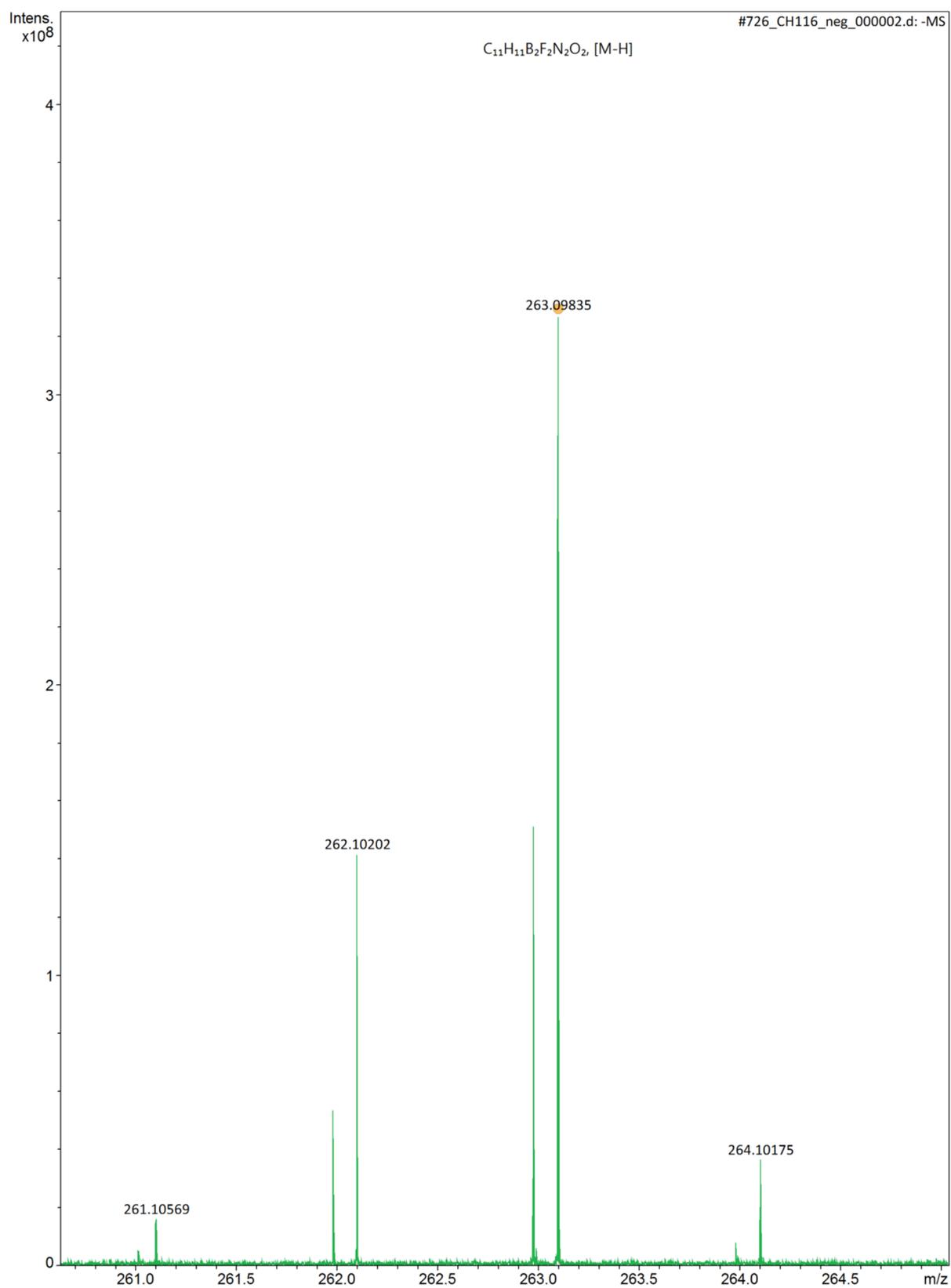


Abbildung 158: ESI-MS-Spektrum von Verbindung **8**.

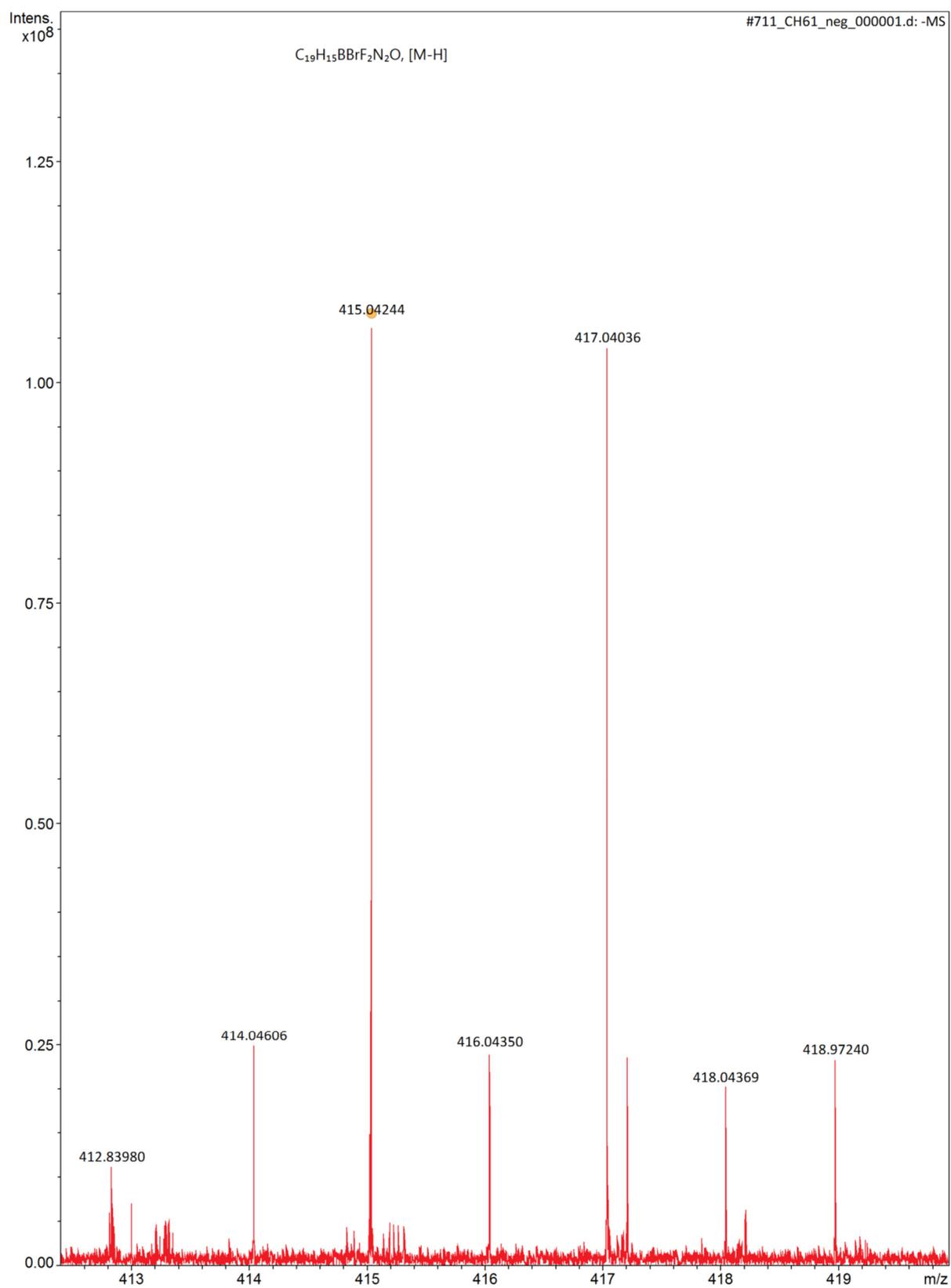


Abbildung 159: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 10.

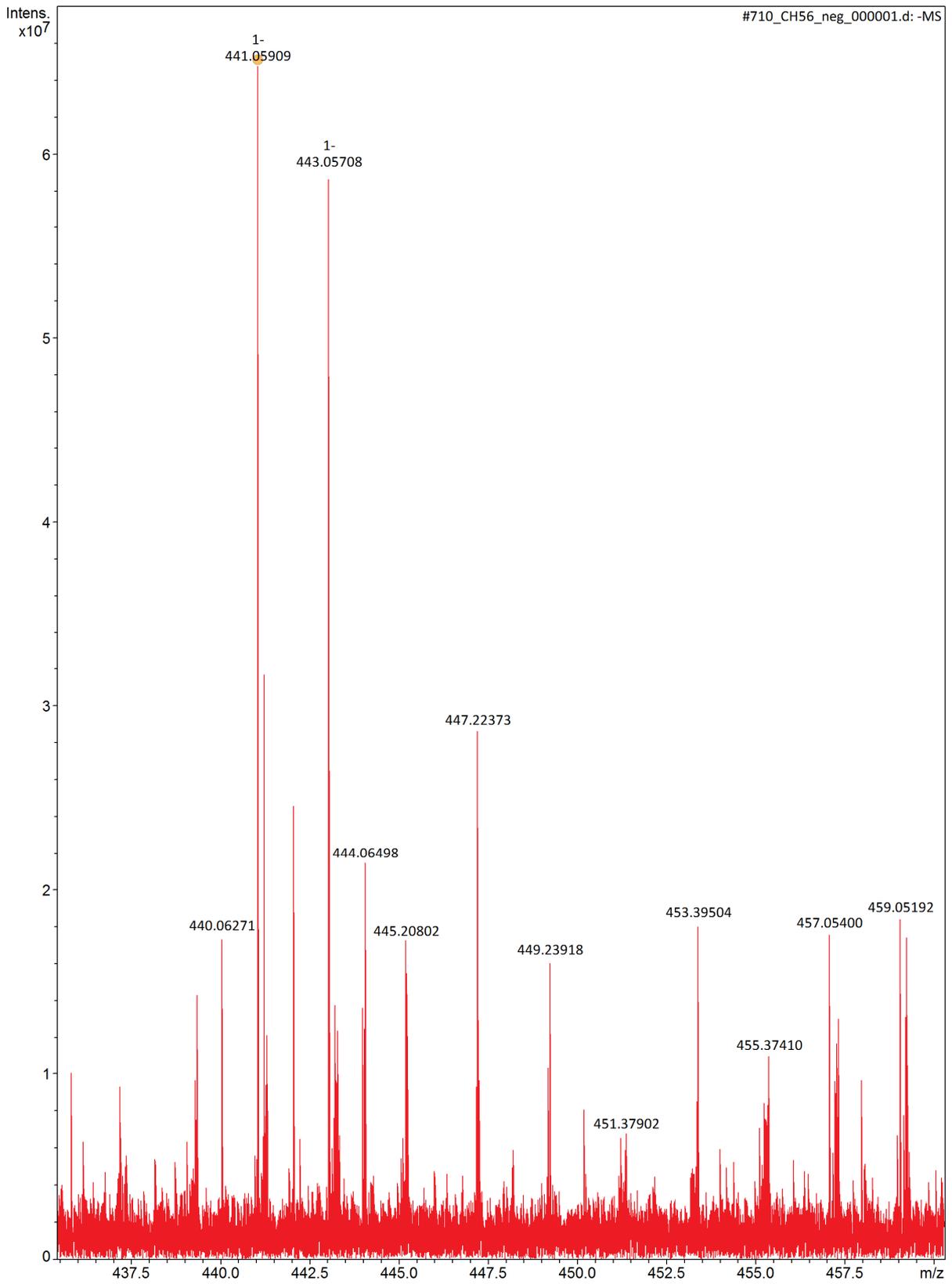


Abbildung 160: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 11.

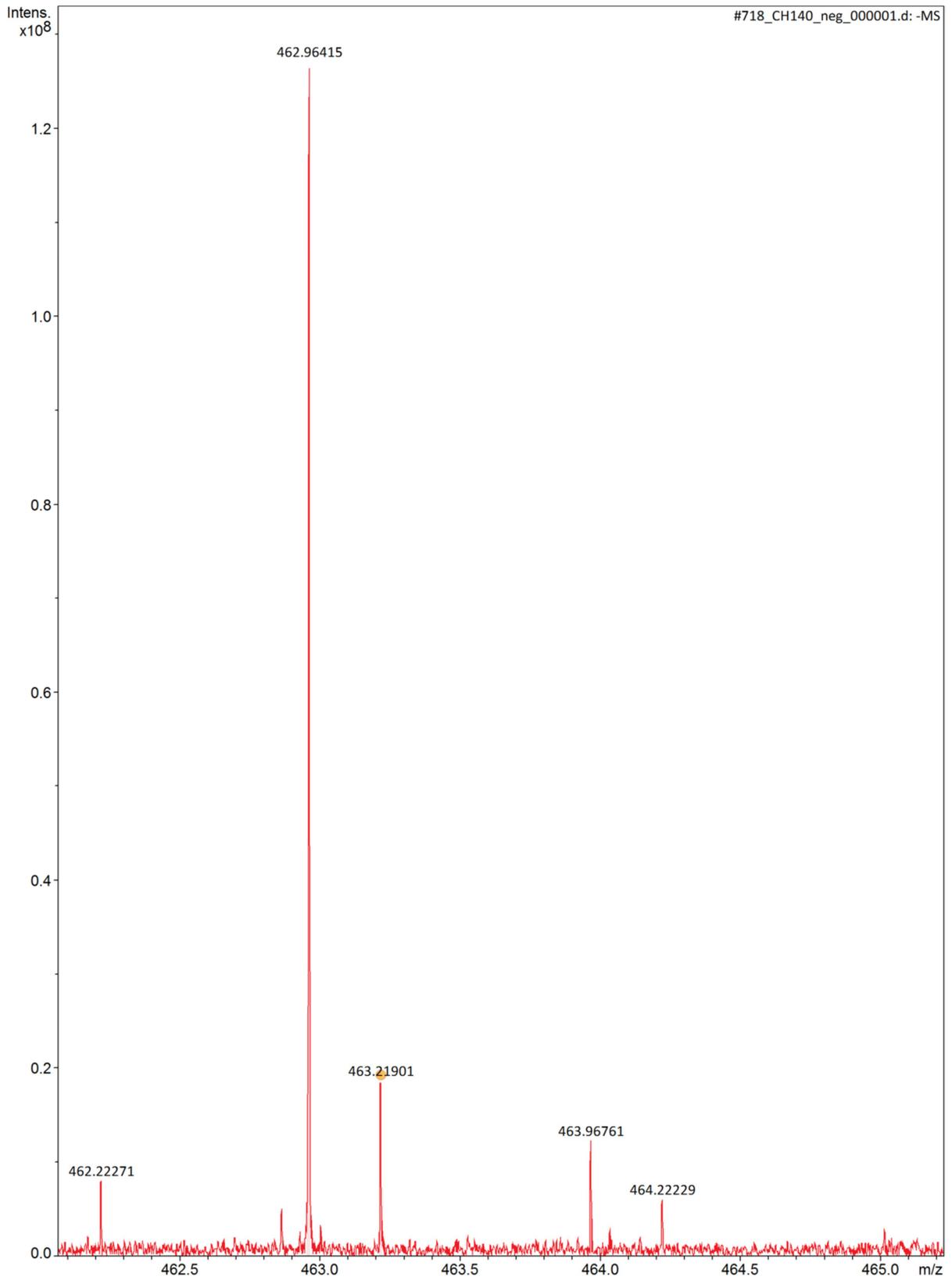


Abbildung 161: ESI-MS-Spektrum von Verbindung **12**.

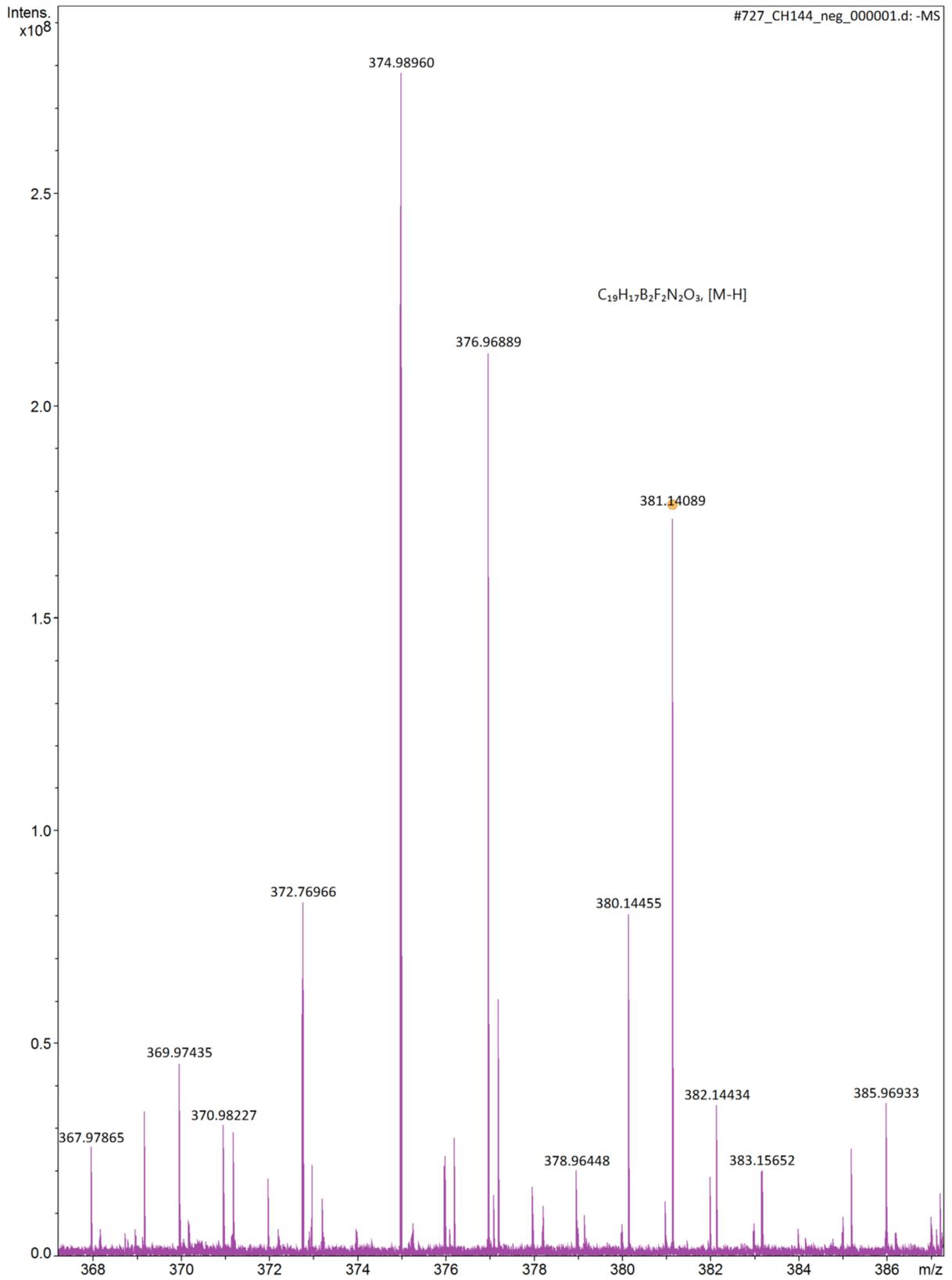


Abbildung 162: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 13.

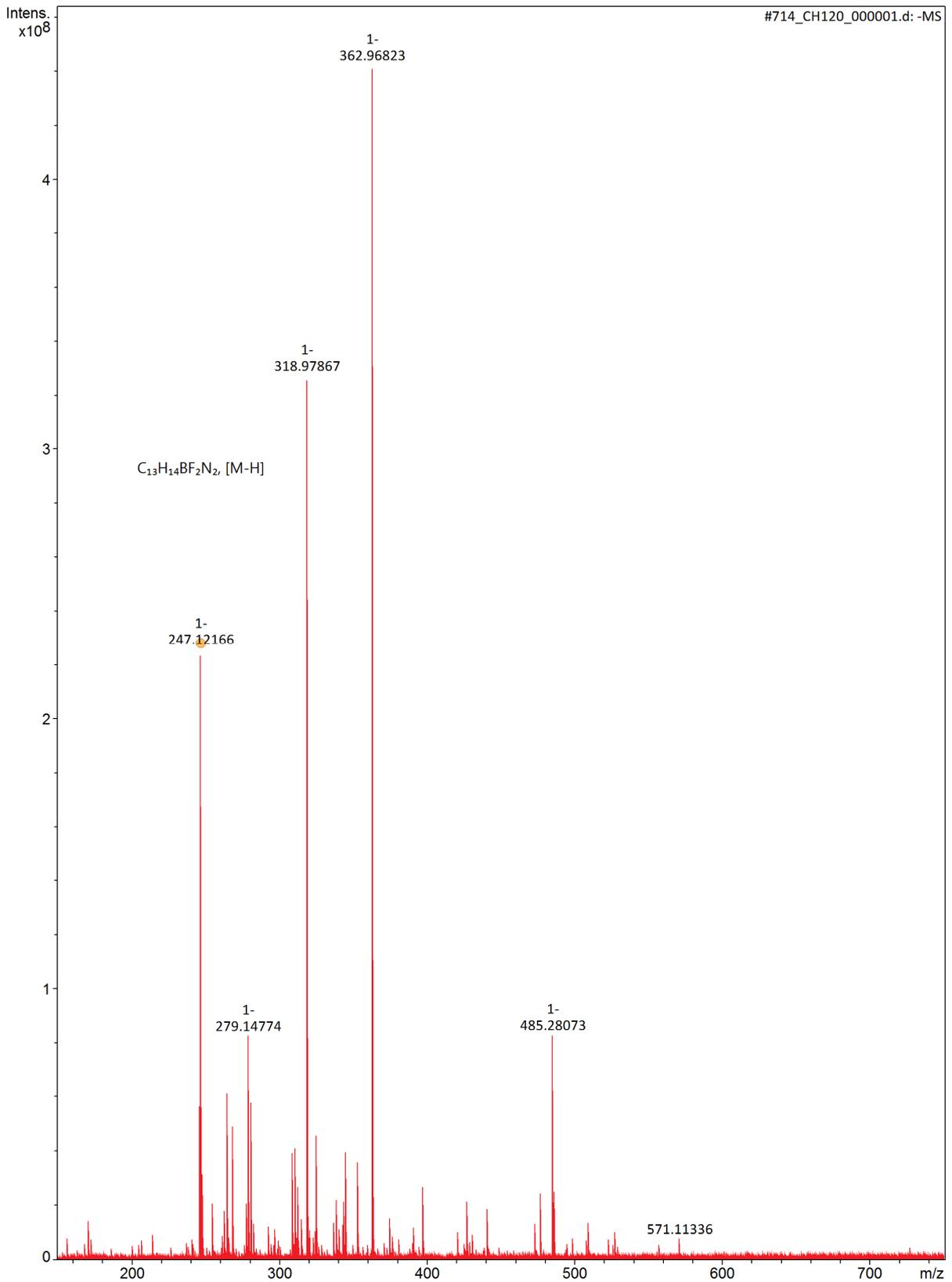


Abbildung 163: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 16.

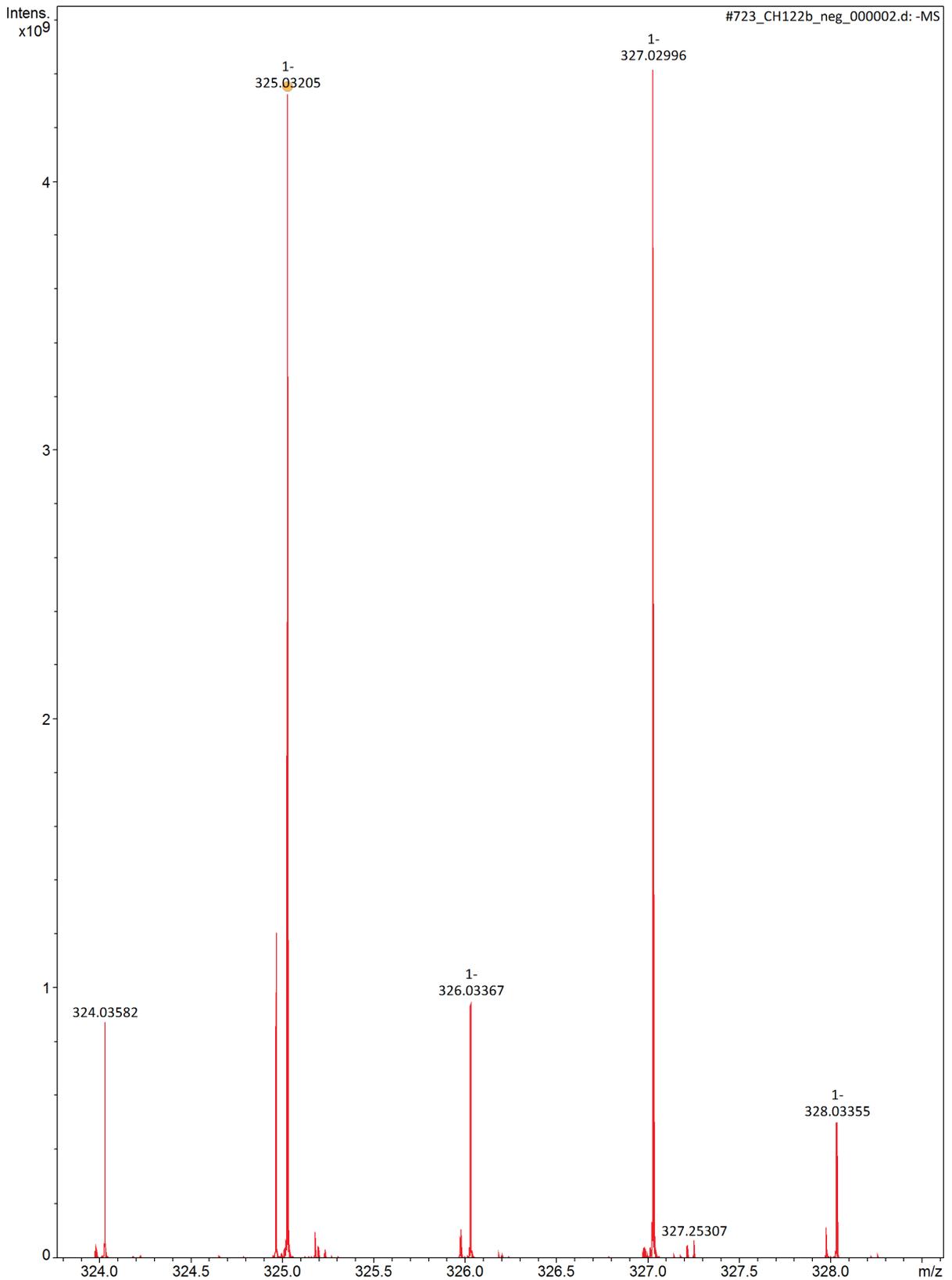


Abbildung 164: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 17.

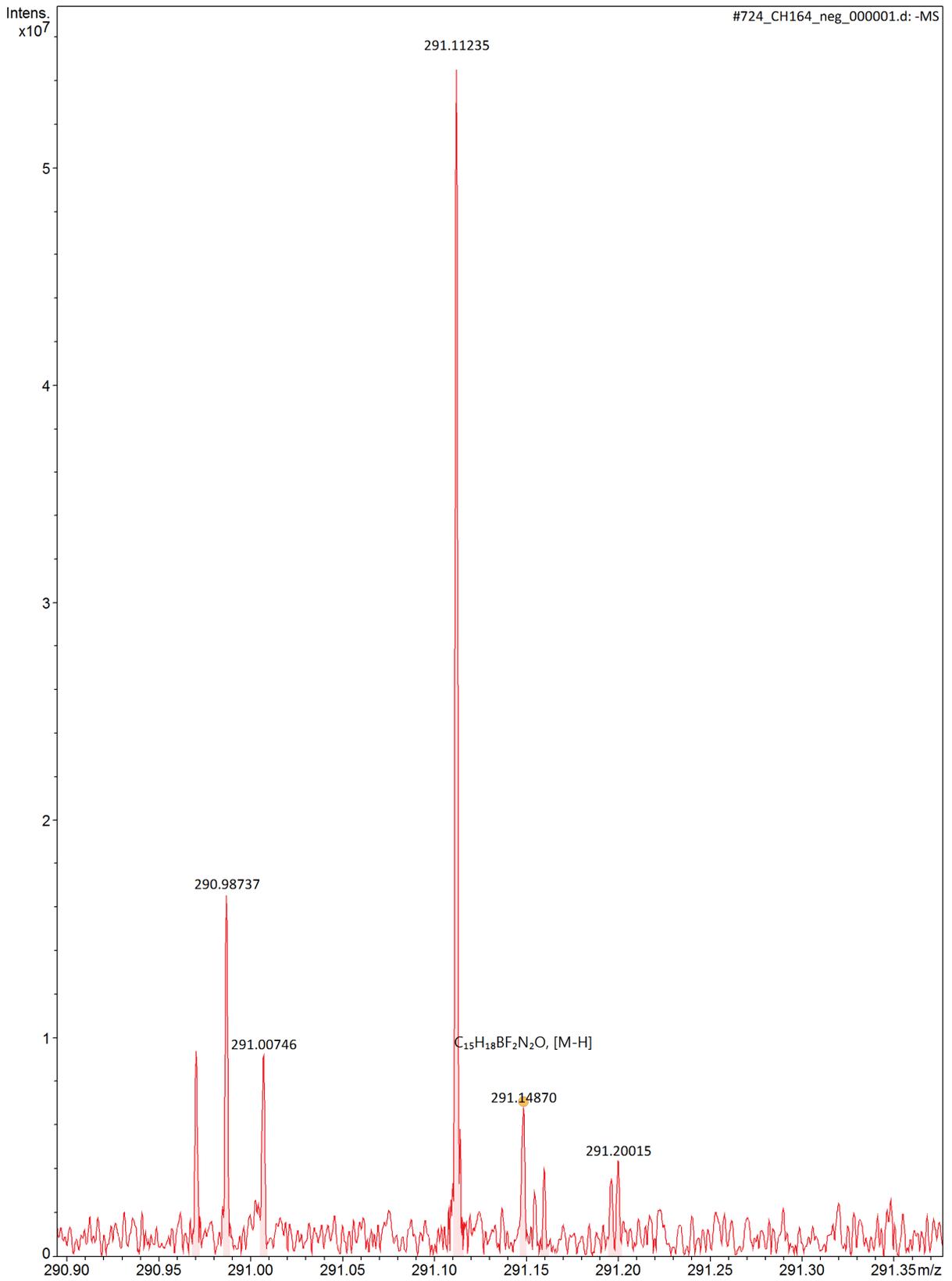


Abbildung 165: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 22.

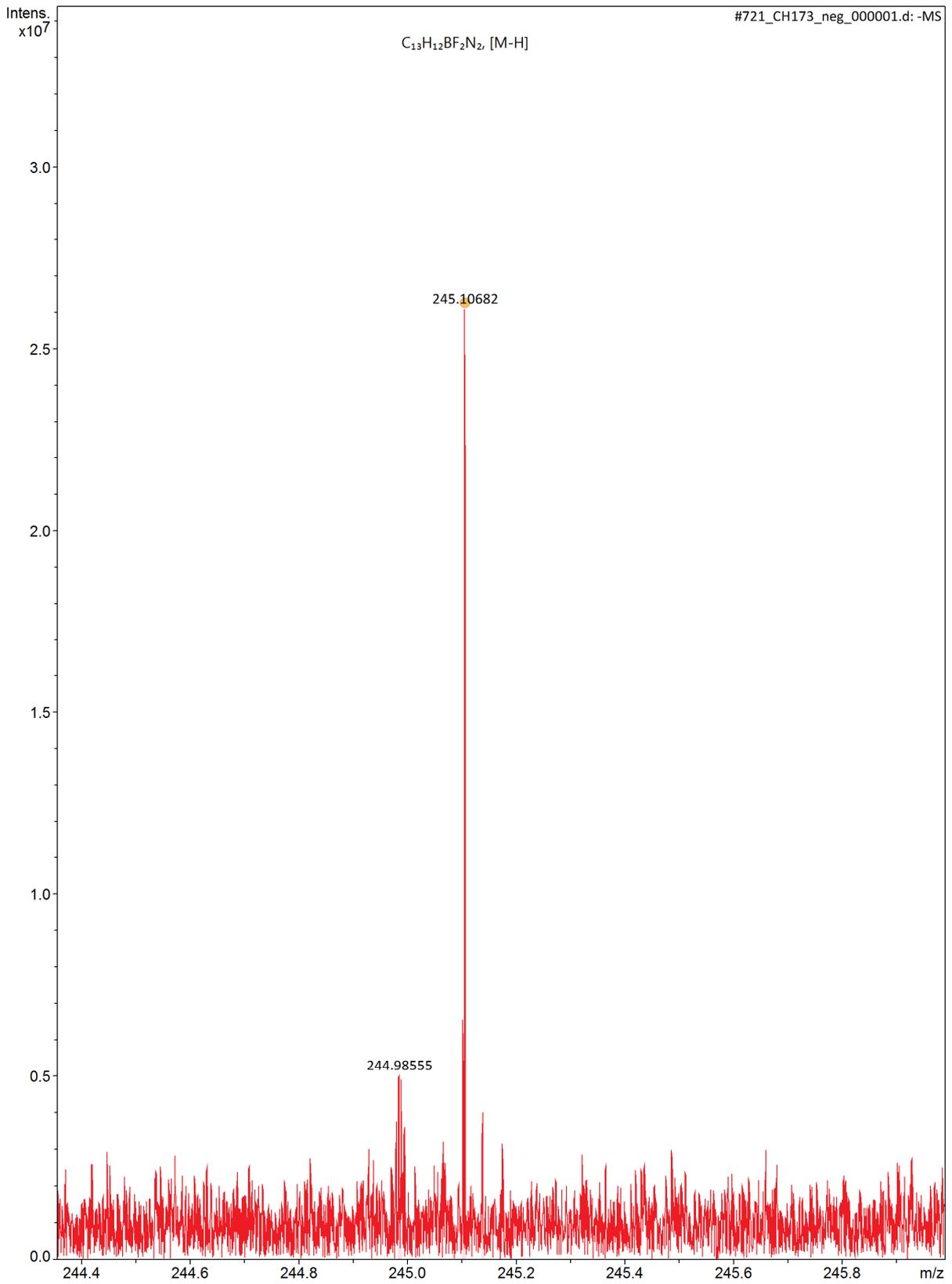


Abbildung 166: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 25.

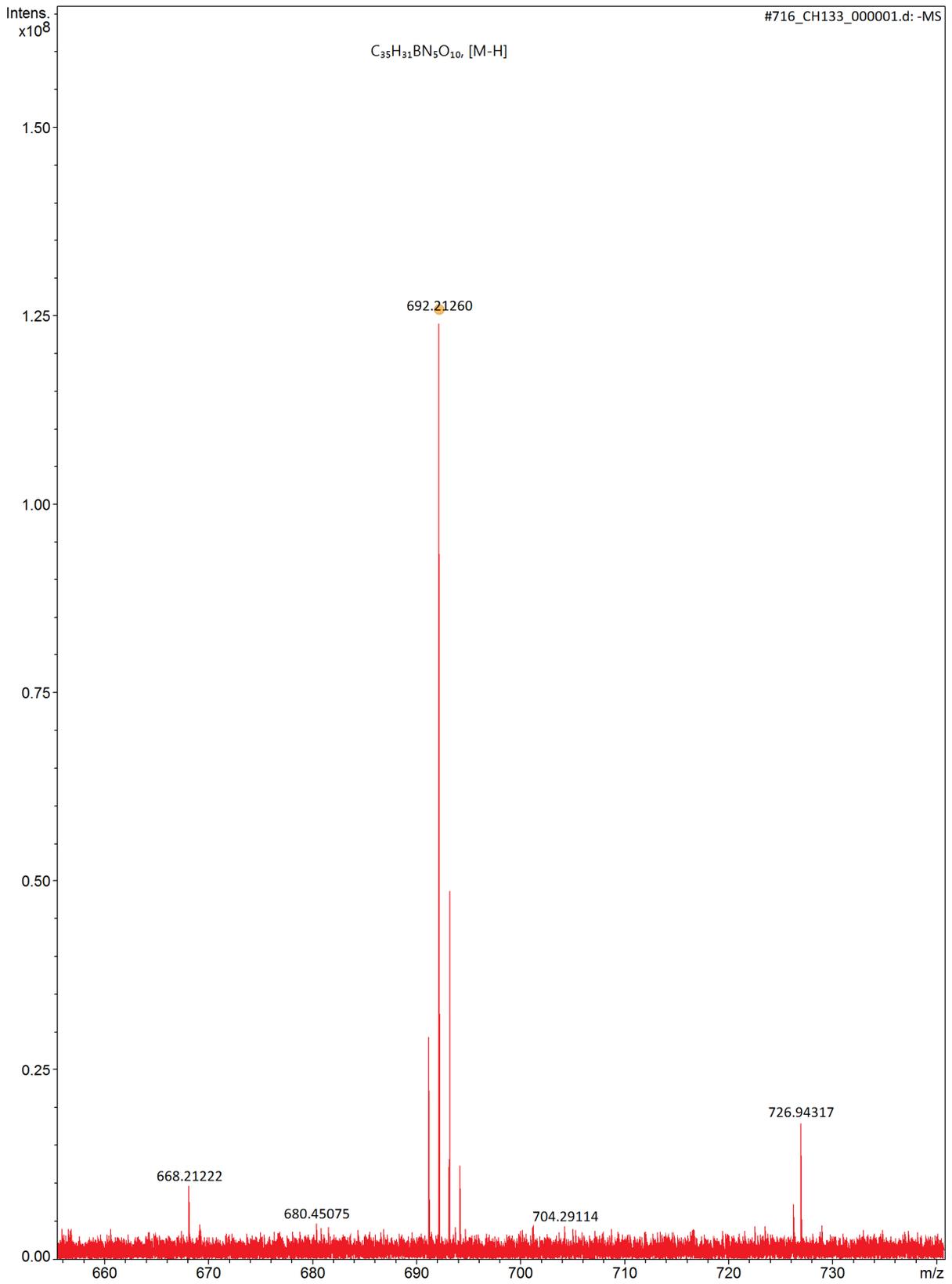


Abbildung 167: ESI-MS-Spektrum von Verbindung 29.

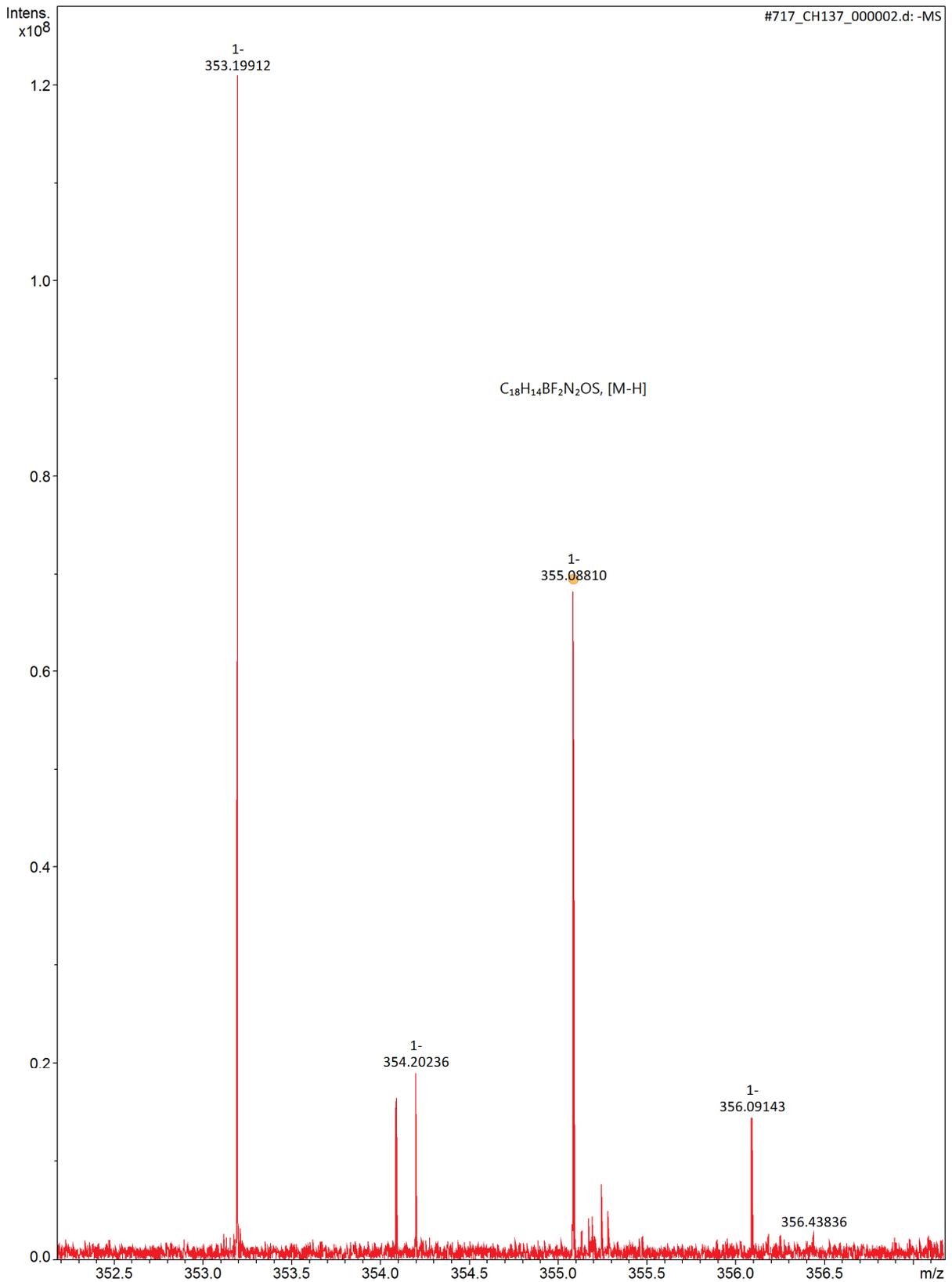


Abbildung 168: ESI-MS-Spektrum von Verbindung **34**.

## A.4. UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektroskopie – Farbstoffe

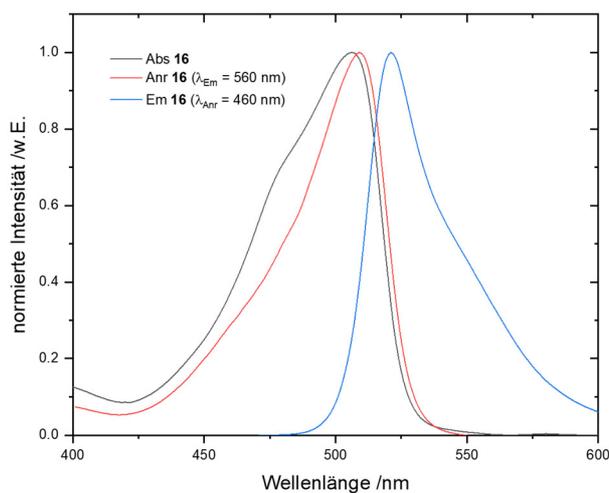


Abbildung 169: Normierte elektronische Spektren von Verbindung 16 in DCM.

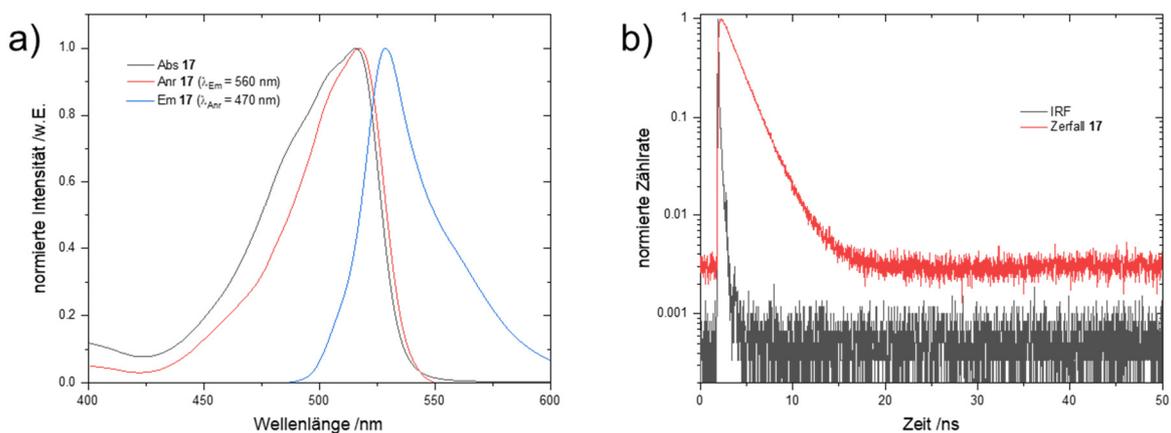


Abbildung 170: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung 17 in DCM.

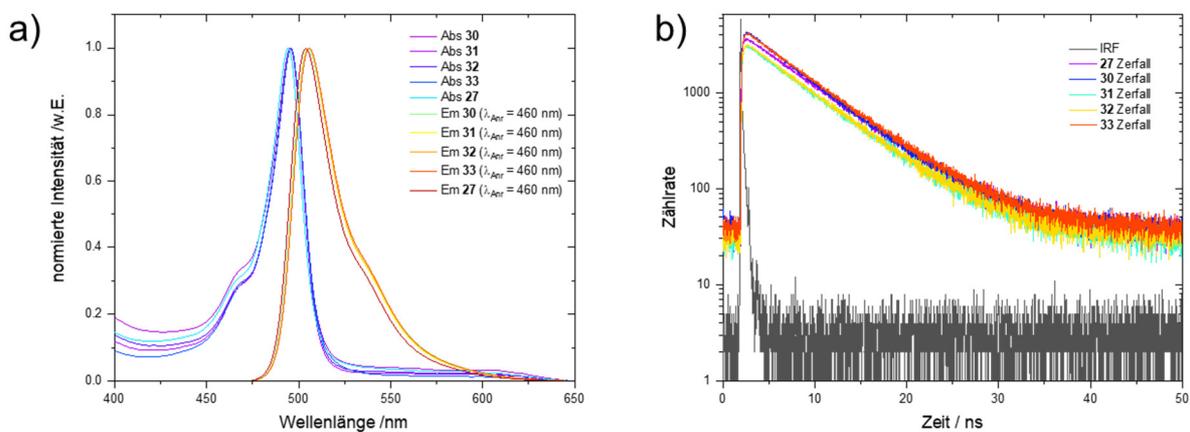


Abbildung 171: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramme von 27 und 30-33 in Acetonitril:Wasser (1:1).

Lediglich ein leichter Anstieg der Fluoreszenzquantenausbeute  $\Phi_{\text{Fl}}$ , in Folge der Bildung eines Amids statt der freien Carbonsäure, kann beobachtet werden (Tabelle 13). Ansonsten sind keine Auswirkungen auf Fluoreszenzeigenschaften des Bodipy-Gerüsts durch die PSMA-Liganden feststellbar.

Tabelle 13: Spektroskopische Daten von Verbindung 27 und der synthetisierten Bodipy-PSMA Konjugate 30-33 in Acetonitril:Wasser (1:1, v/v).

Verbindung	$\lambda_{\text{Abs}}$ /nm	$\lambda_{\text{Anr}}$ /nm	$\lambda_{\text{Em}}$ /nm	$\Phi_{\text{Fl}}$ /%	$\tau_{\text{Fl}}$ /ns
27	494	496	505	75 ± 5	6.3 ± 0.1
30	495	496	506	81 ± 5	5.9 ± 0.1
31	496	496	506	86 ± 5	6.1 ± 0.1
32	496	496	506	81 ± 5	6.2 ± 0.1
33	496	495	504	81 ± 5	6.1 ± 0.1

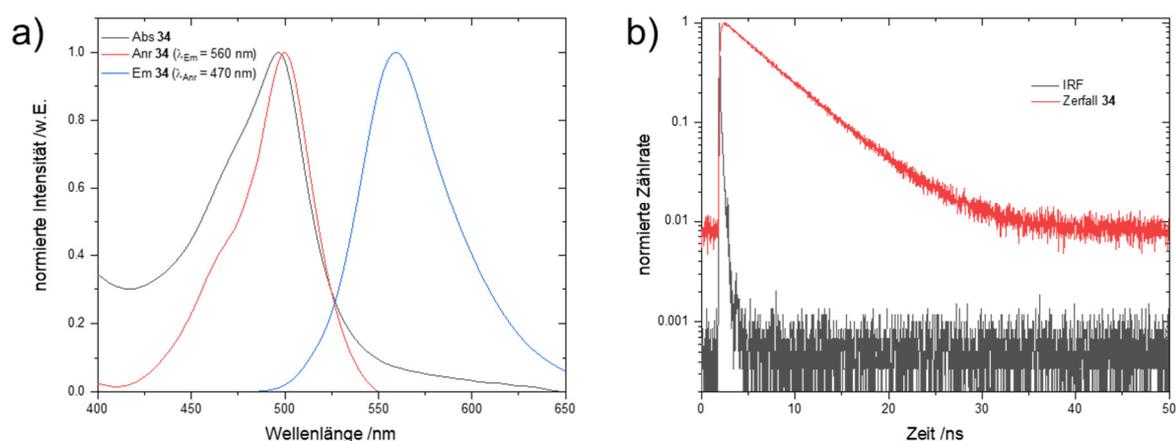


Abbildung 172: a) Normierte elektronische Spektren und b) TCSPC-Histogramm von Verbindung 34 in DCM.

## A.5. UV-Vis- und Fluoreszenz-Spektren – Saccharid-Sonden

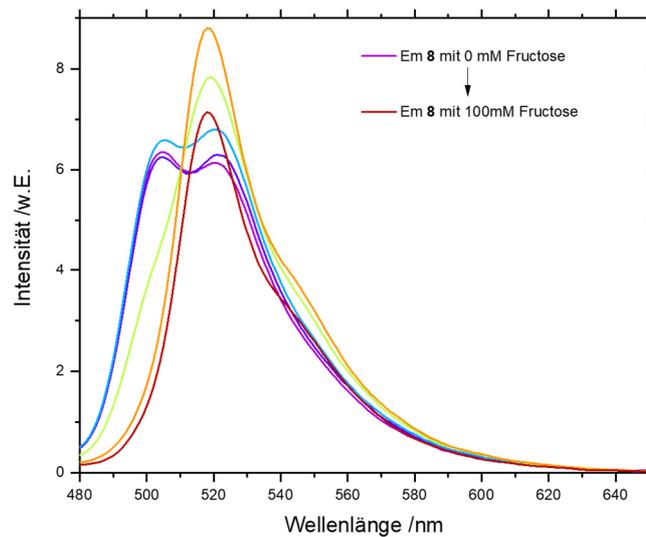


Abbildung 173: Emissionsspektren ( $\lambda_{Anr} = 470 \text{ nm}$ ) von Verbindung **8** mit zunehmender Konzentration an Fructose bei pH 9.

## $K_B$ -Bestimmungen mit Polyolen – gBBB

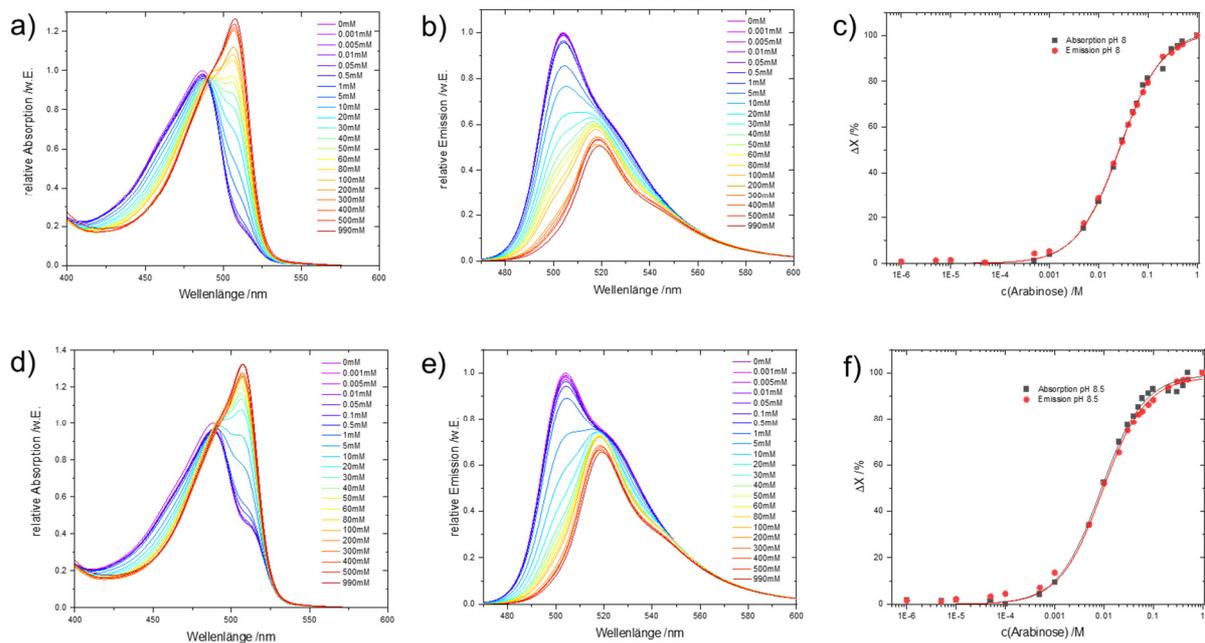


Abbildung 174: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Arabinose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

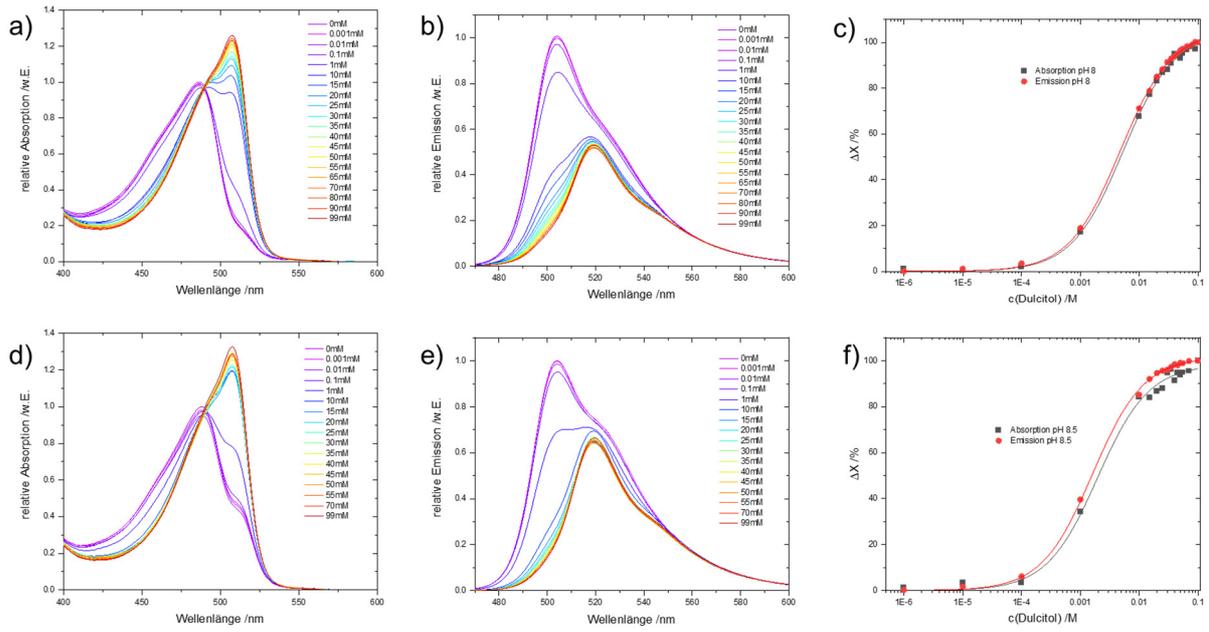


Abbildung 175: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Dulcitol bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

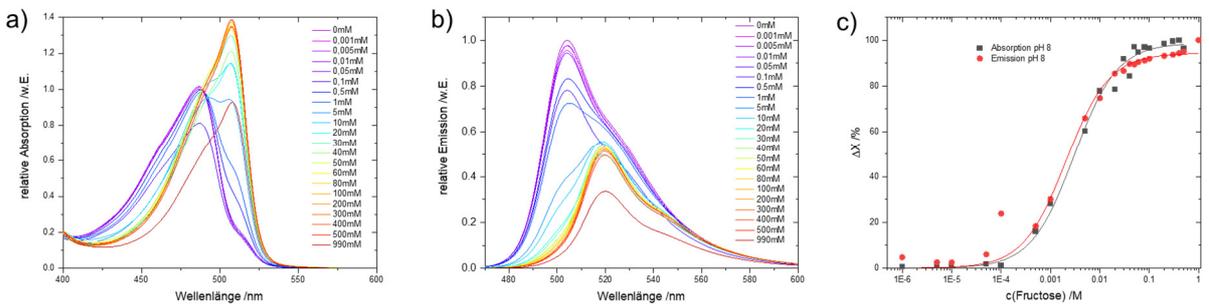


Abbildung 176: a) Absorptions-, b) Emissionsspektren und c) resultierende Titrationskurven von Verbindung **8** mit zunehmender Konzentration an Fructose bei pH 8.

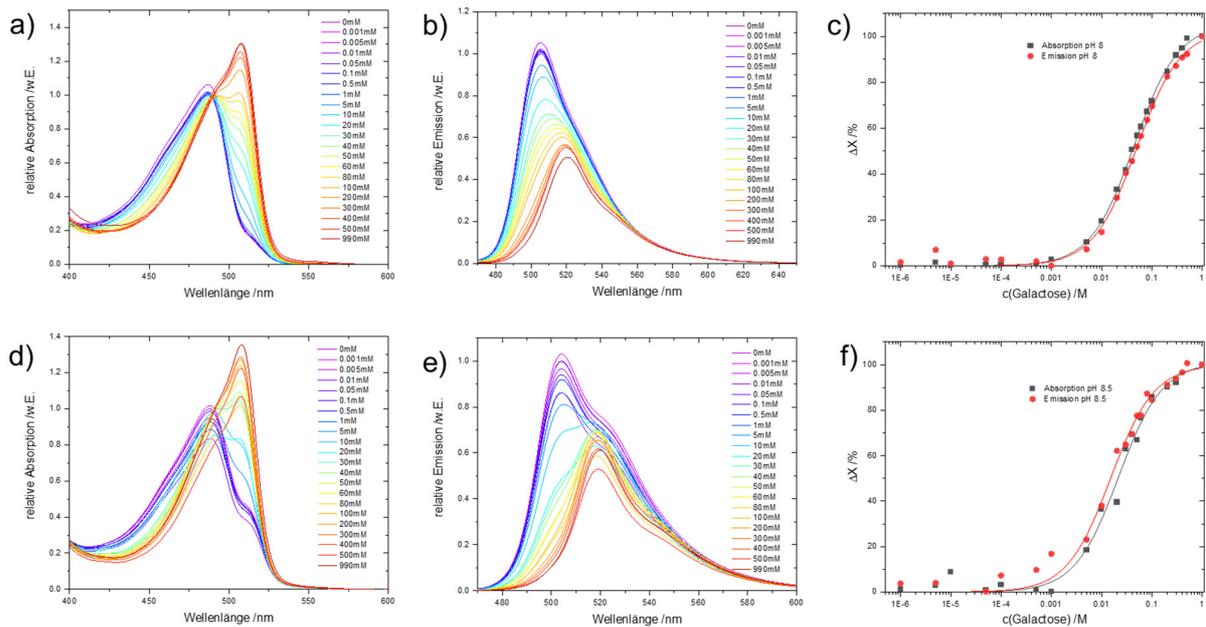


Abbildung 177: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Galactose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

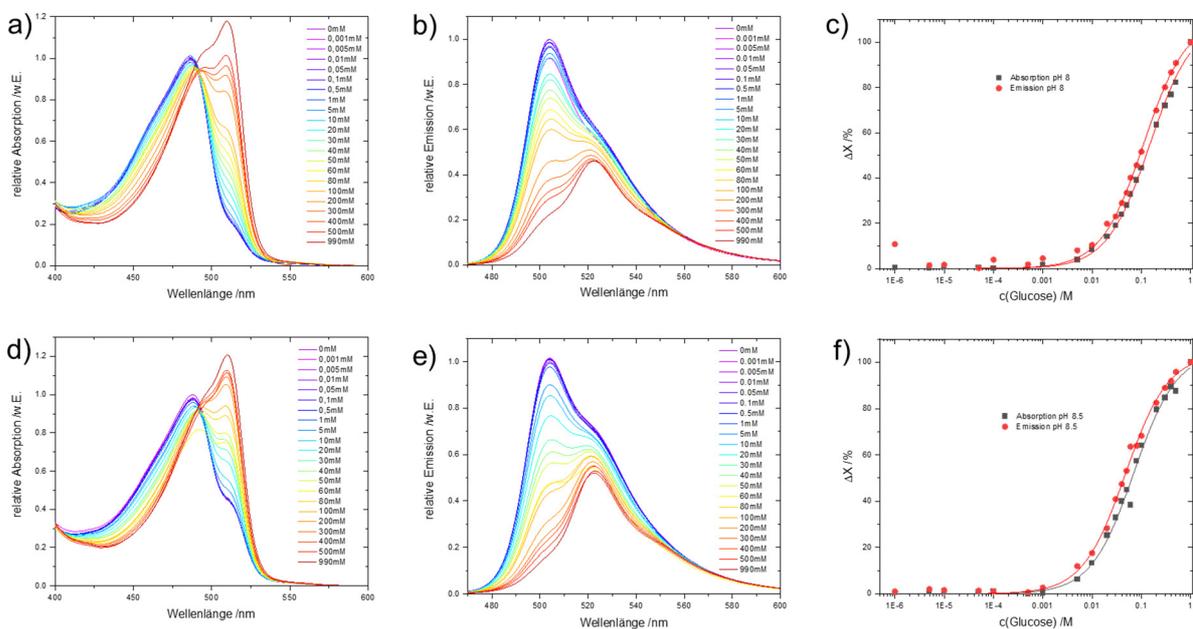


Abbildung 178: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Glucose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

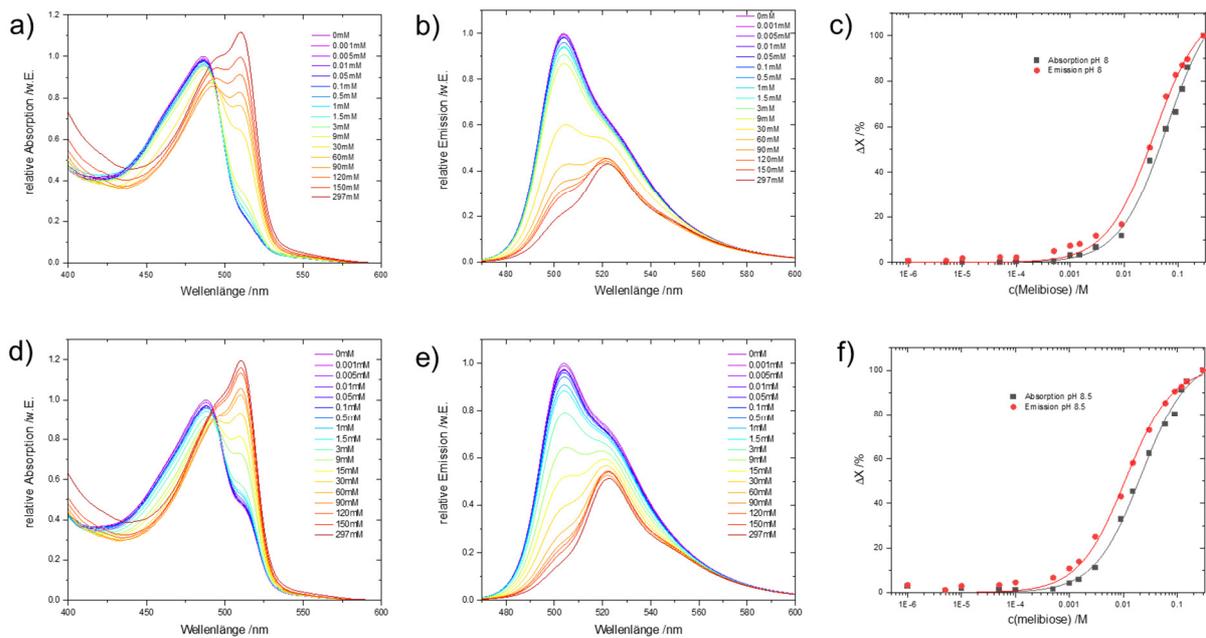


Abbildung 179: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Melibiose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

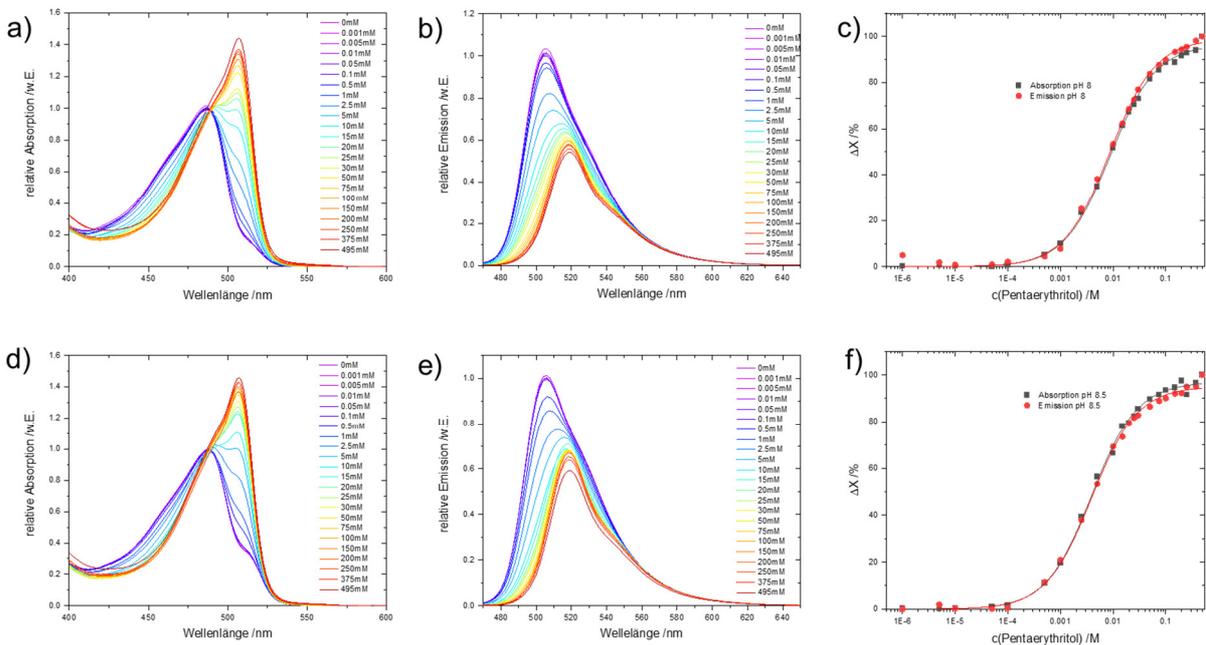


Abbildung 180: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Pentaerythritol bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

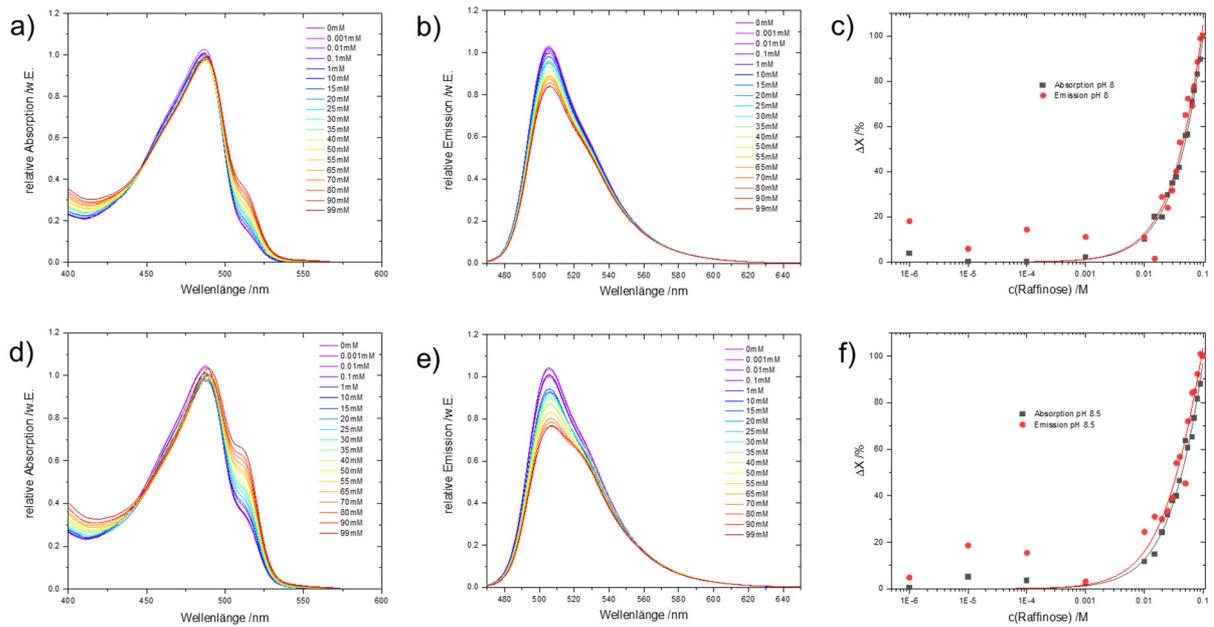


Abbildung 181: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Raffinose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

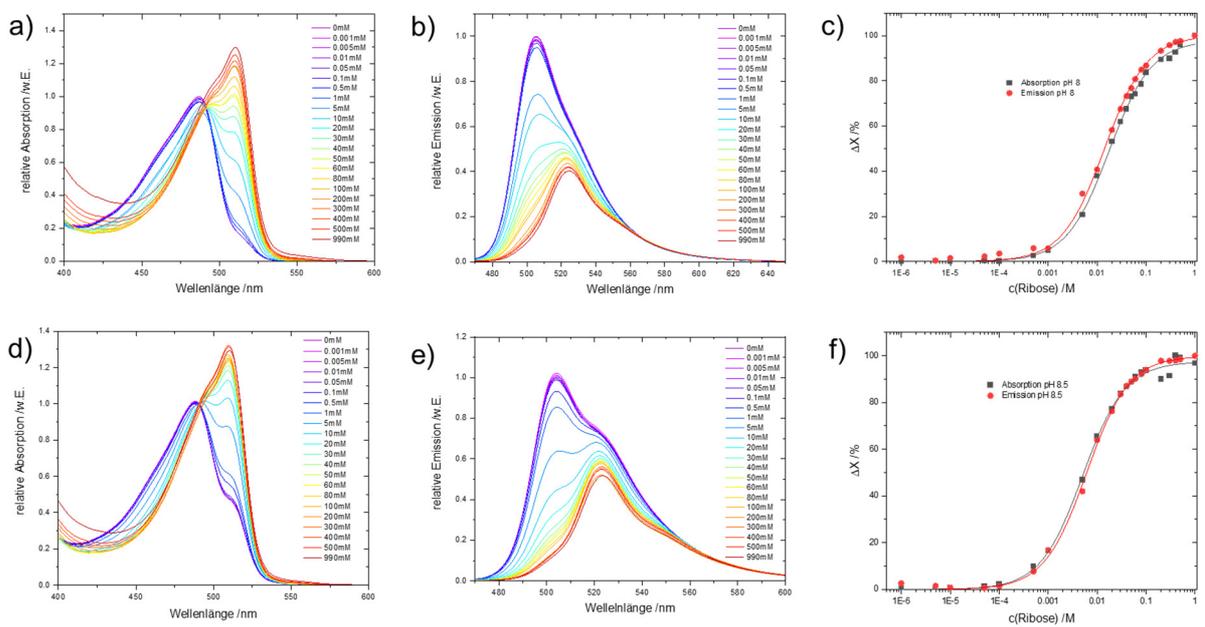


Abbildung 182: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **8** mit zunehmender Konzentration an Ribose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

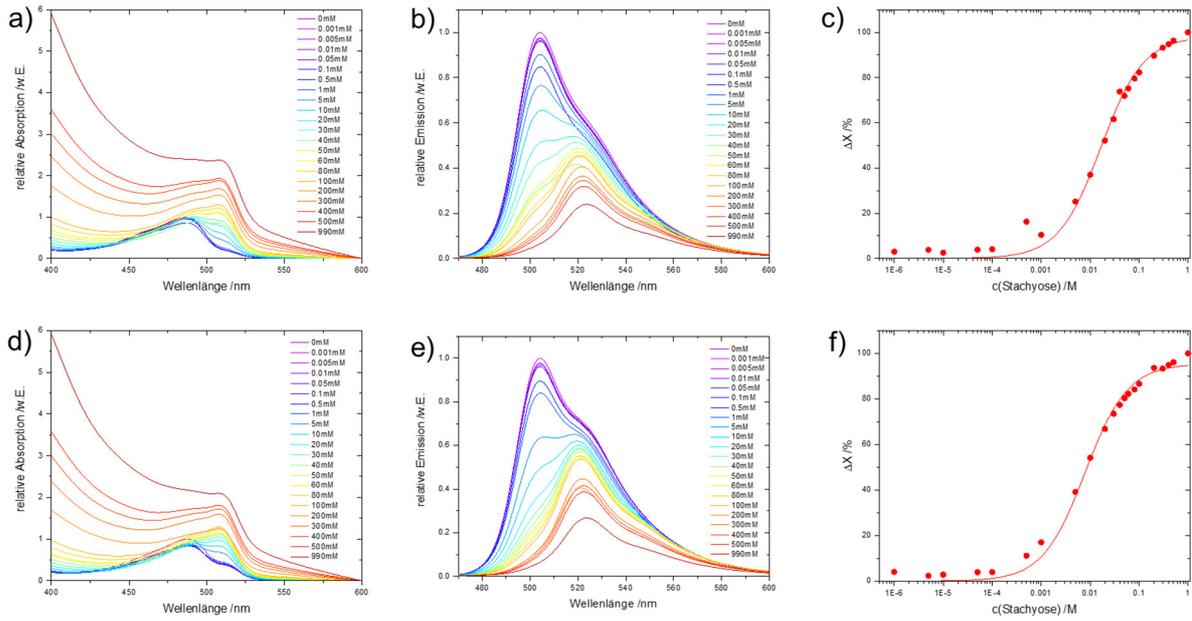


Abbildung 183: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve von **8** mit zunehmender Konzentration an Stachyose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

## K<sub>B</sub>-Bestimmungen mit Polyolen - rBBB

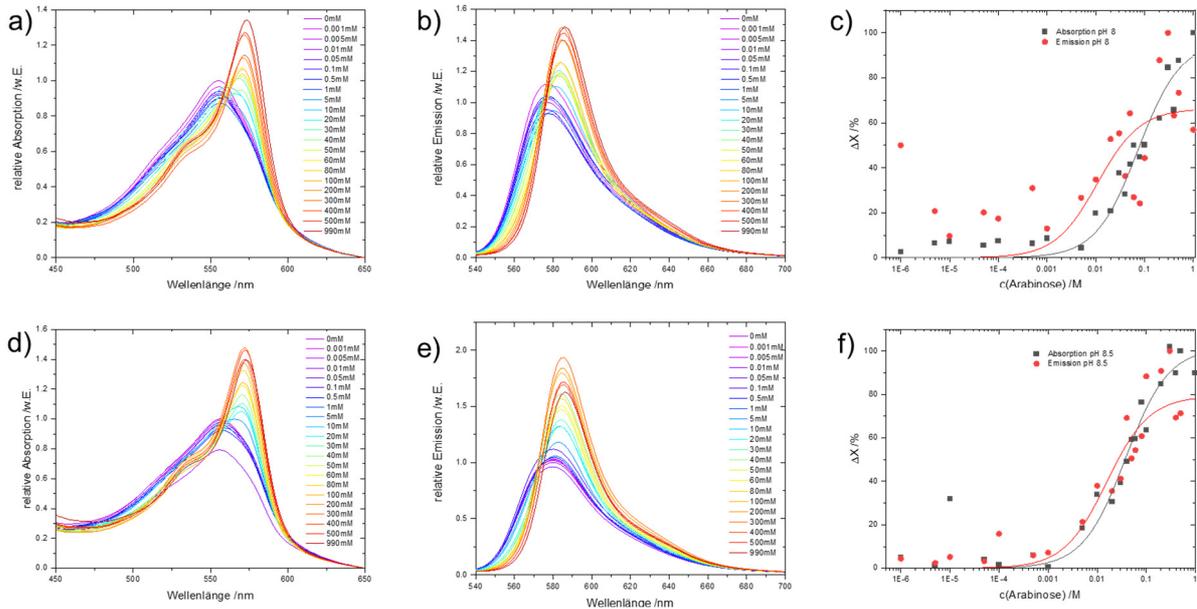


Abbildung 184: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von 13 mit zunehmender Konzentration an Arabinose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

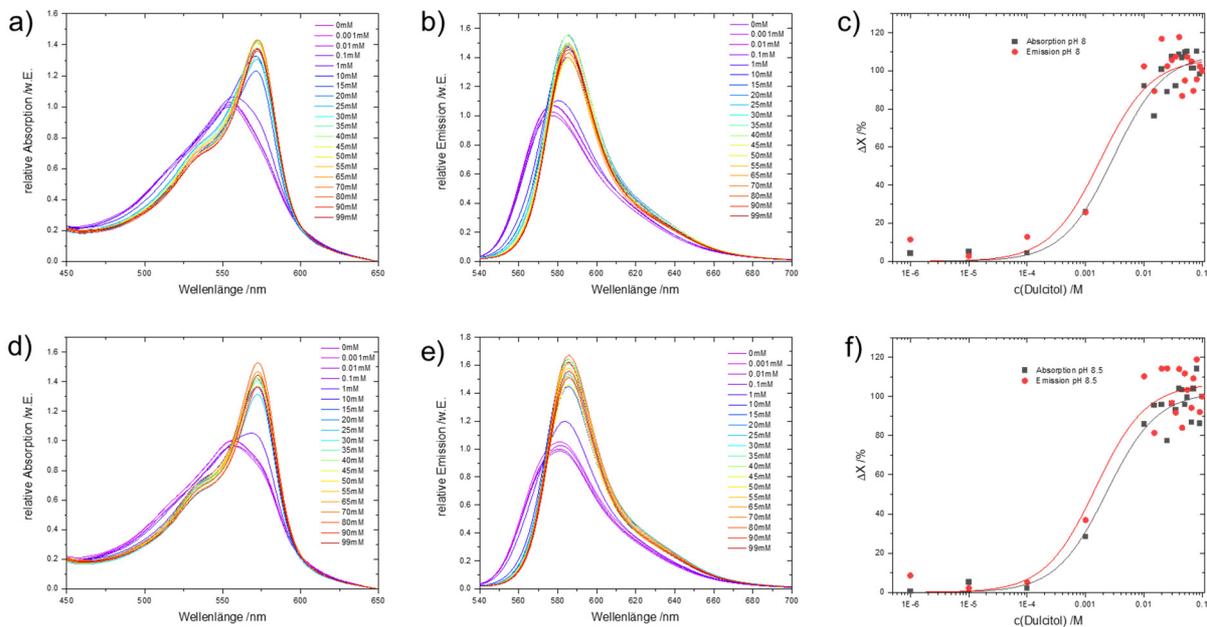


Abbildung 185: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von 13 mit zunehmender Konzentration an Dulcitol bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

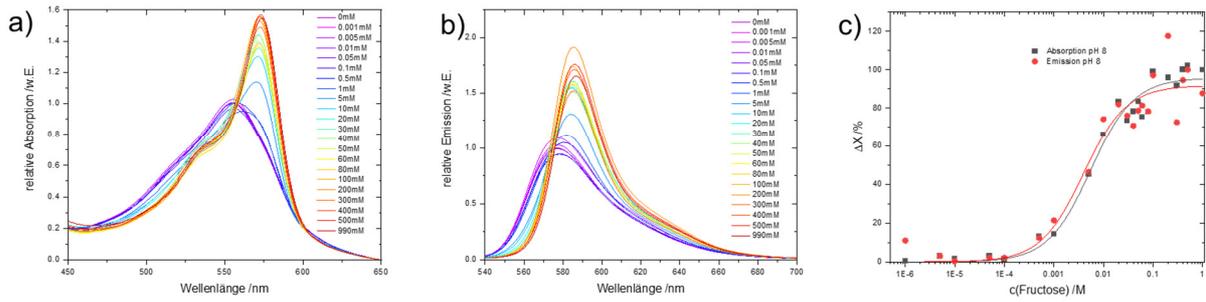


Abbildung 186: a) Absorptions-, b) Emissionsspektren und c) resultierende Titrationskurven von Verbindung 13 mit zunehmender Konzentration an Fructose bei pH 8.

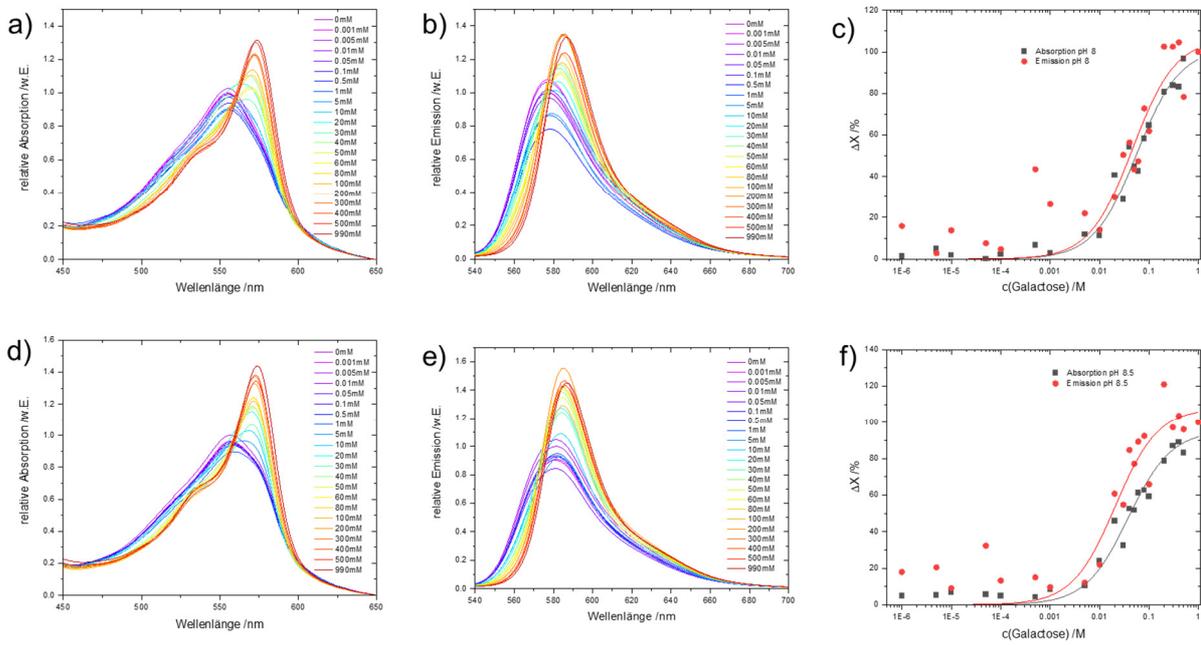


Abbildung 187: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von 13 mit zunehmender Konzentration an Galactose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

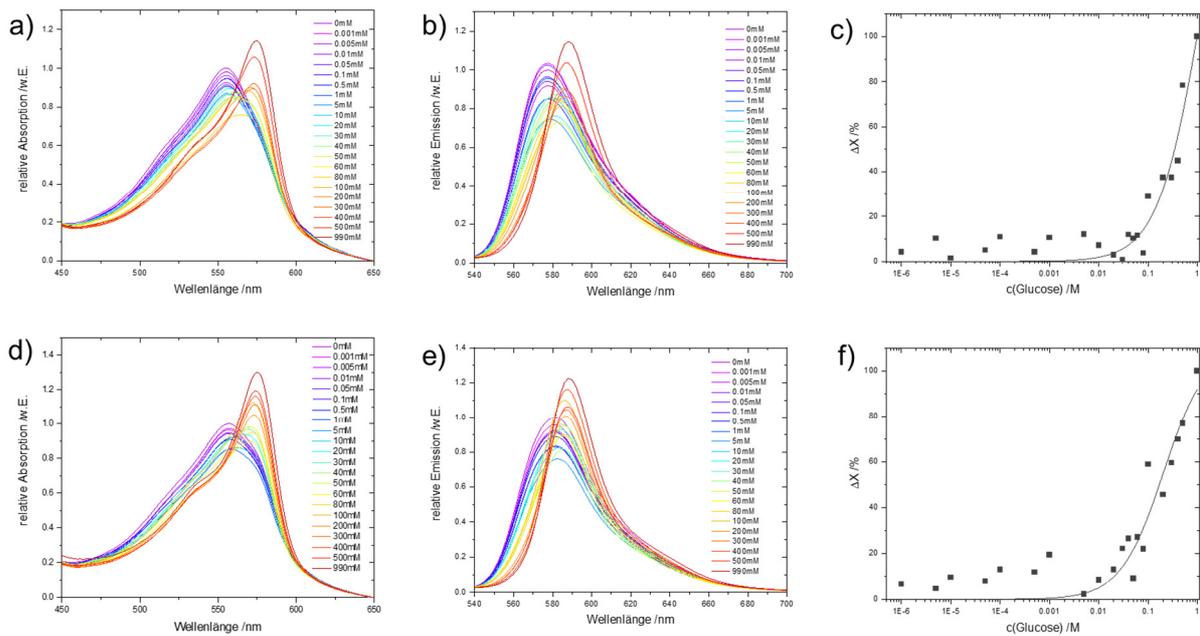


Abbildung 188: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve von **13** mit zunehmender Konzentration an Glucose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

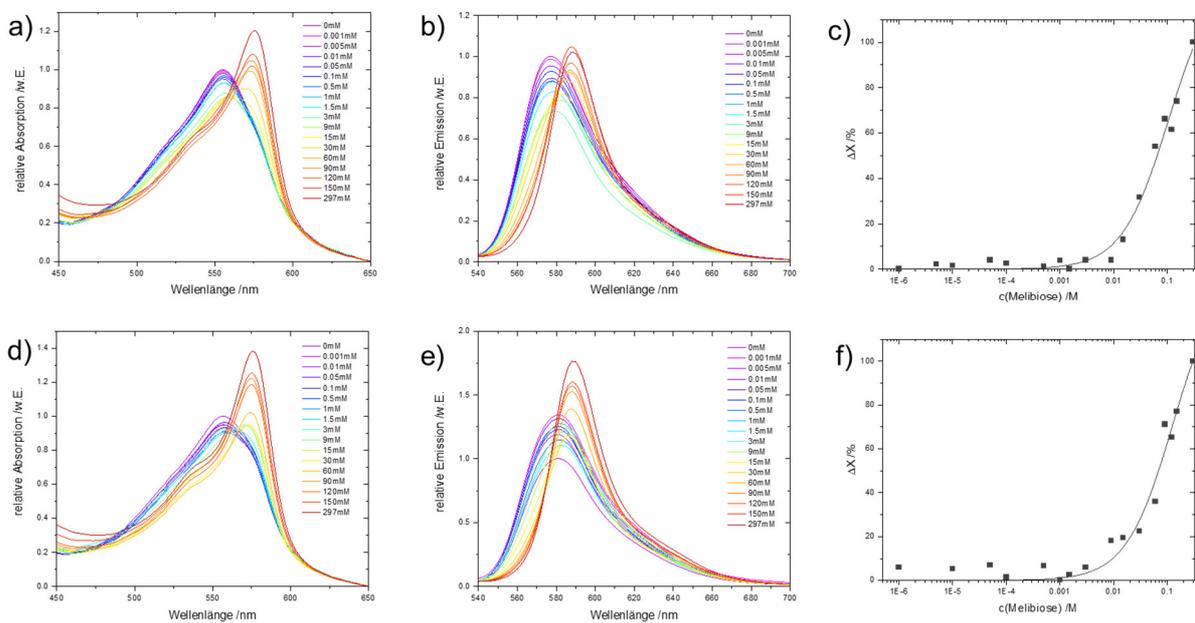


Abbildung 189: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve von **13** mit zunehmender Konzentration an Melibiose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

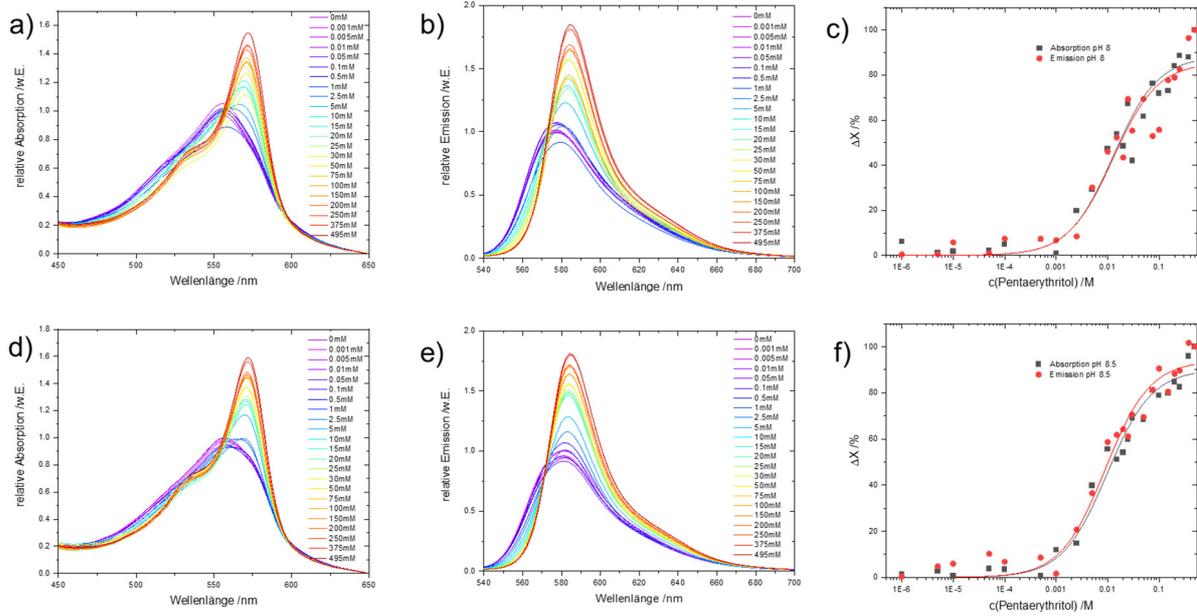


Abbildung 190: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **13** mit zunehmender Konzentration an Pentaerythritol bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

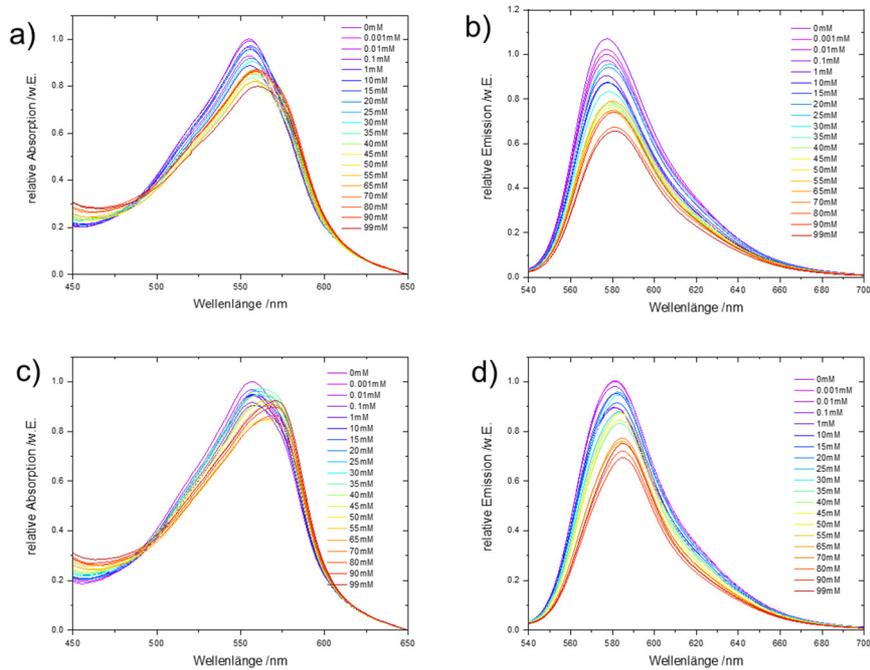


Abbildung 191: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren von **13** mit zunehmender Konzentration an Raffinose bei pH 8. c) und d) das gleiche für pH 8.5.

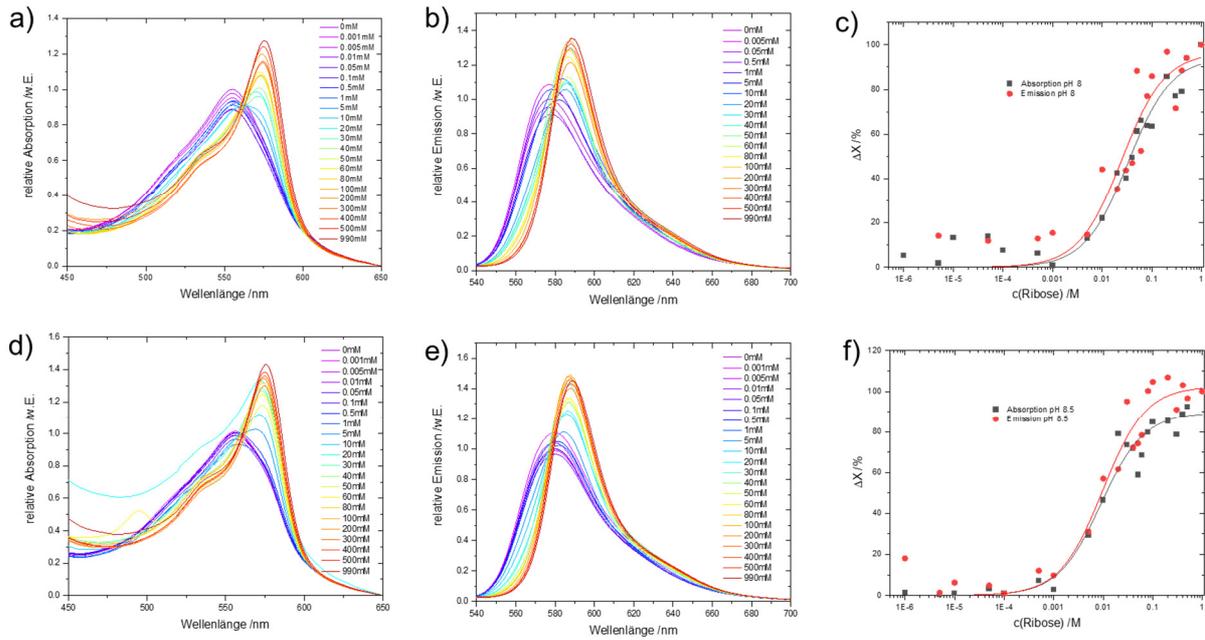


Abbildung 192: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven von **13** mit zunehmender Konzentration an Ribose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

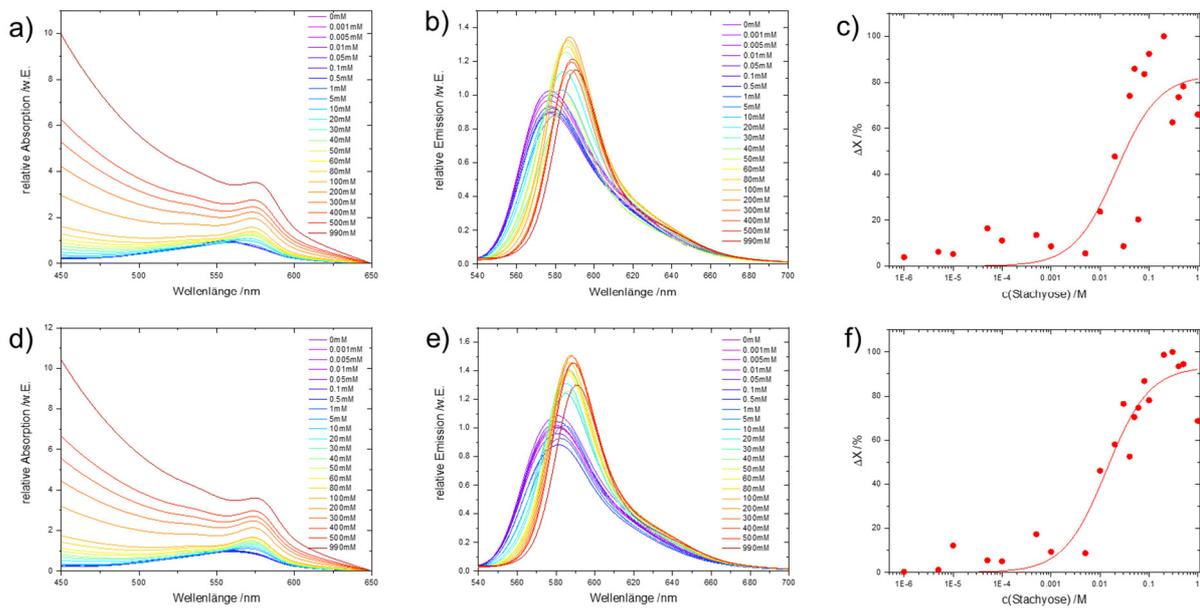


Abbildung 193: a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve von **13** mit zunehmender Konzentration an Stachyose bei pH 8. d), e) und f) das gleiche für pH 8.5.

## pK<sub>a</sub>-Bestimmungen mit Polyolen – gBBB

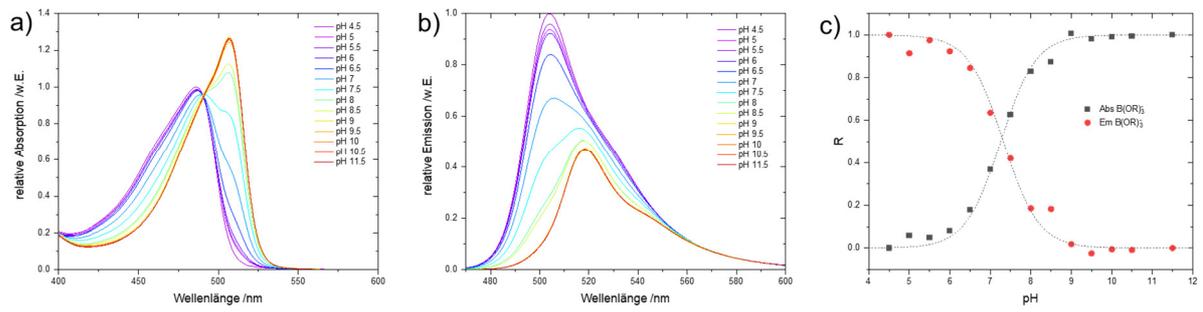


Abbildung 194: pH-Titration mit Bodipy 8 und 100 mM Arabinose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

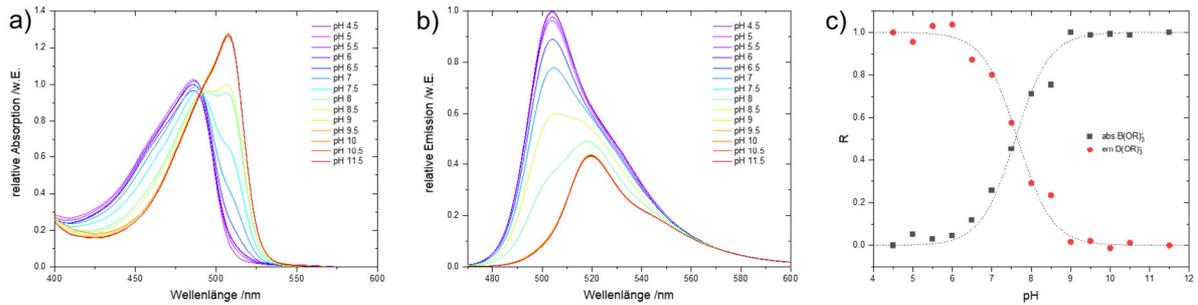


Abbildung 195: pH-Titration mit Bodipy 8 und 10 mM Dulcitol a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

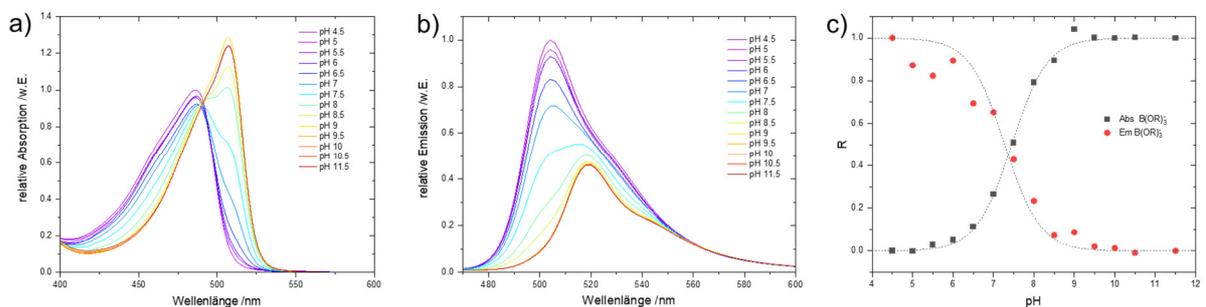


Abbildung 196: pH-Titration mit Bodipy 8 und 100 mM Galactose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

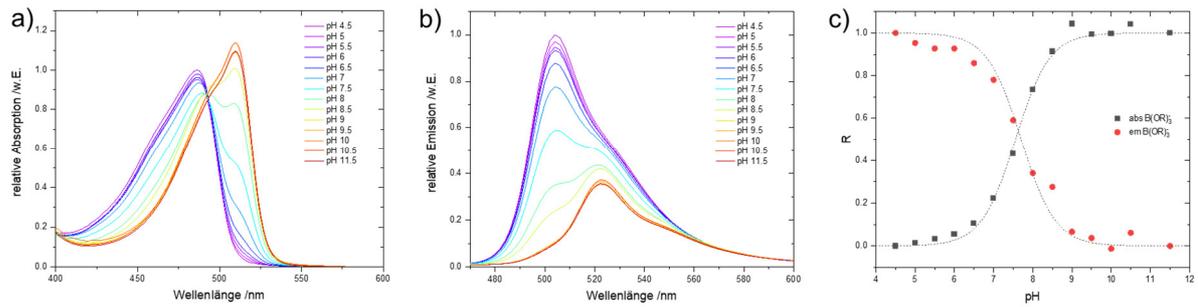


Abbildung 197: pH-Titration mit Bodipy **8** und 100 mM Glucose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

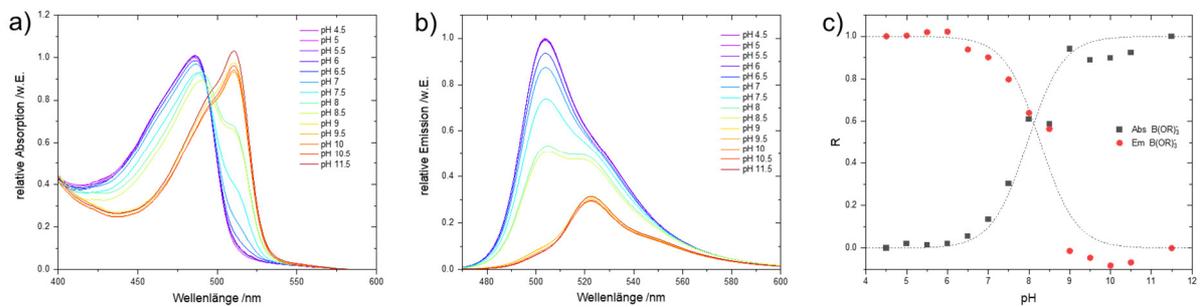


Abbildung 198: pH-Titration mit Bodipy **8** und 90 mM Melibiose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

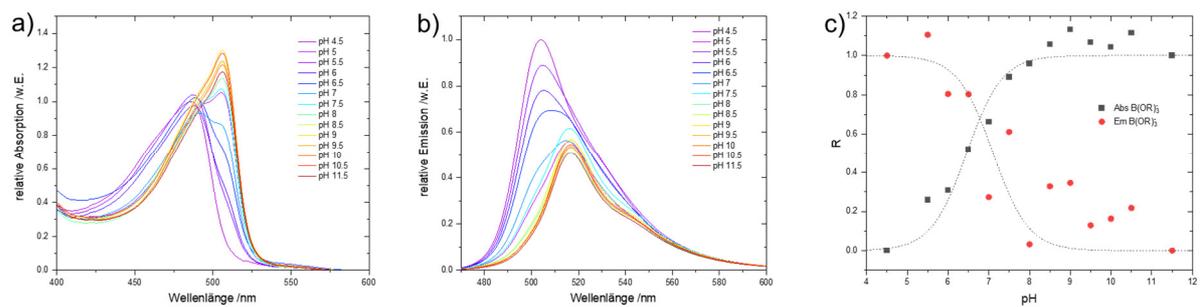


Abbildung 199: pH-Titration mit Bodipy **8** und 100 mM Pentaerythritol a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

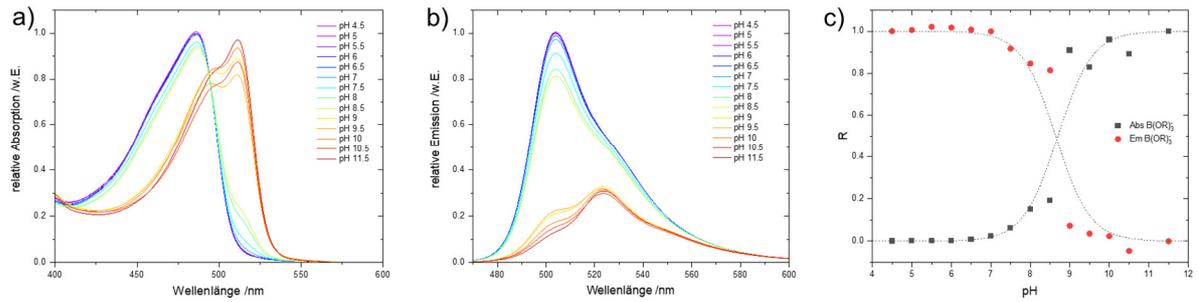


Abbildung 200: pH-Titration mit Bodipy 8 und 10 mM Raffinose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

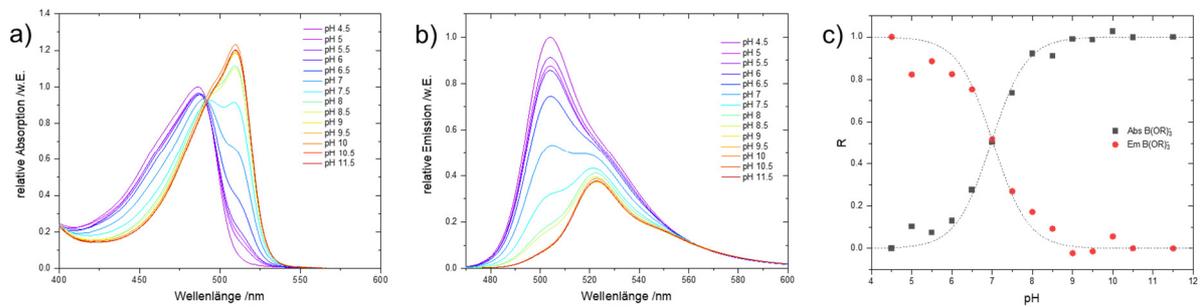


Abbildung 201: pH-Titration mit Bodipy 8 und 100 mM Ribose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

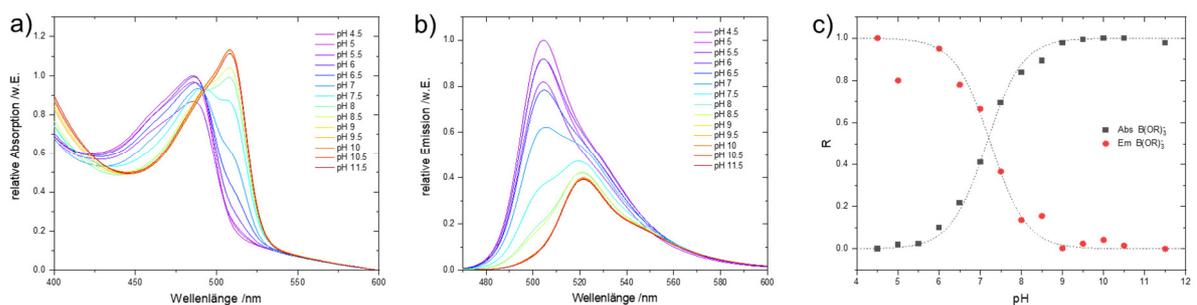


Abbildung 202: pH-Titration mit Bodipy 8 und 100 mM Stachyose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

## pK<sub>a</sub>-Bestimmungen mit Polyolen – rBBB

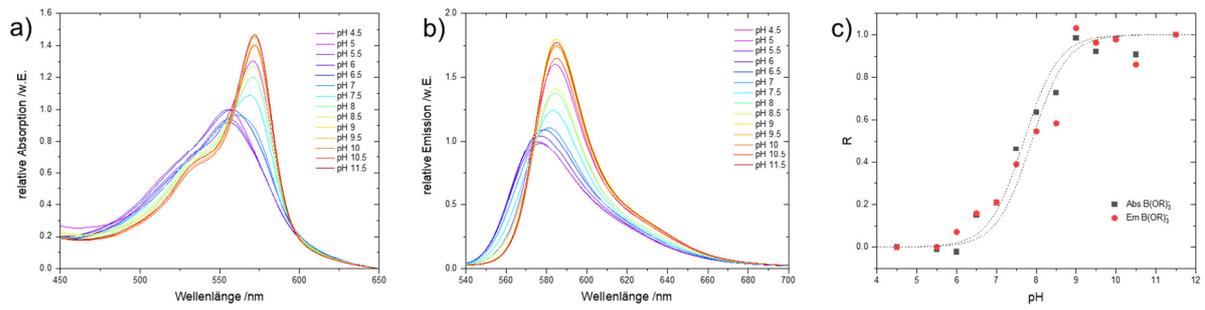


Abbildung 203: pH-Titration mit Bodipy 13 und 100 mM Arabinose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

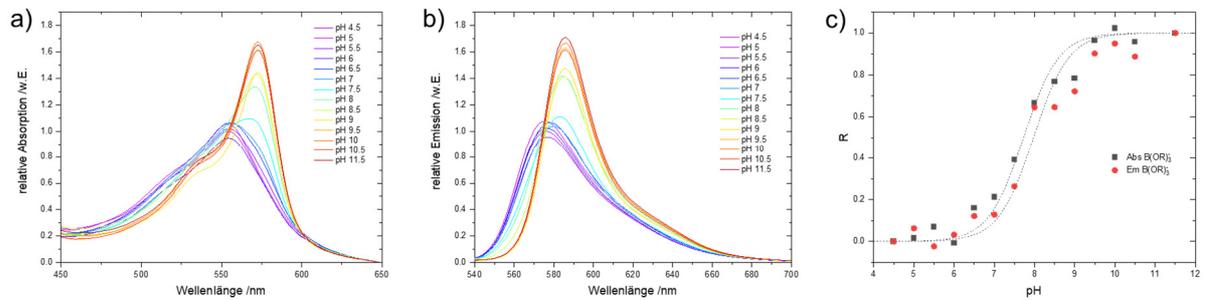


Abbildung 204: pH-Titration mit Bodipy 13 und 10 mM Dulcitol a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

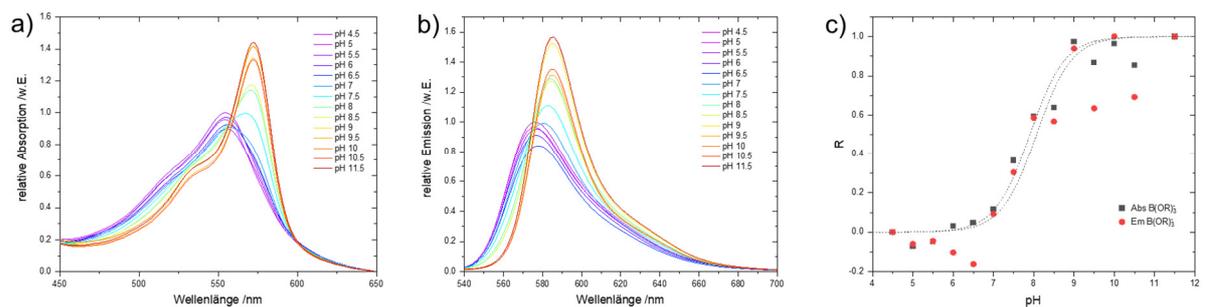


Abbildung 205: pH-Titration mit Bodipy 13 und 100 mM Galactose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

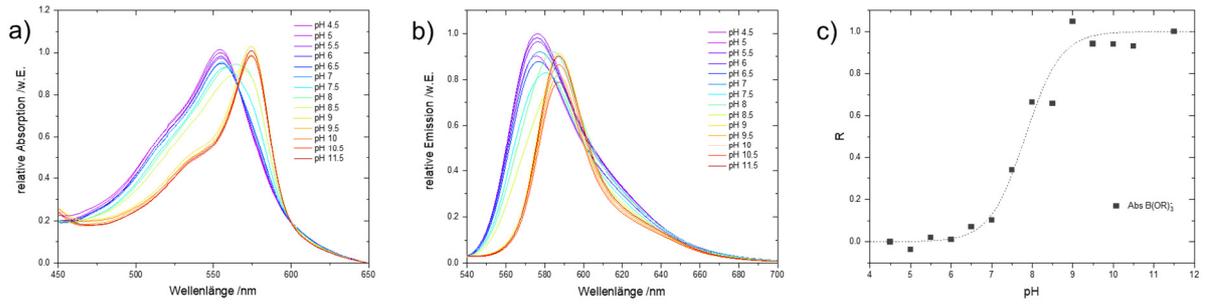


Abbildung 206: pH-Titration mit Bodipy 13 und 100 mM Glucose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve.

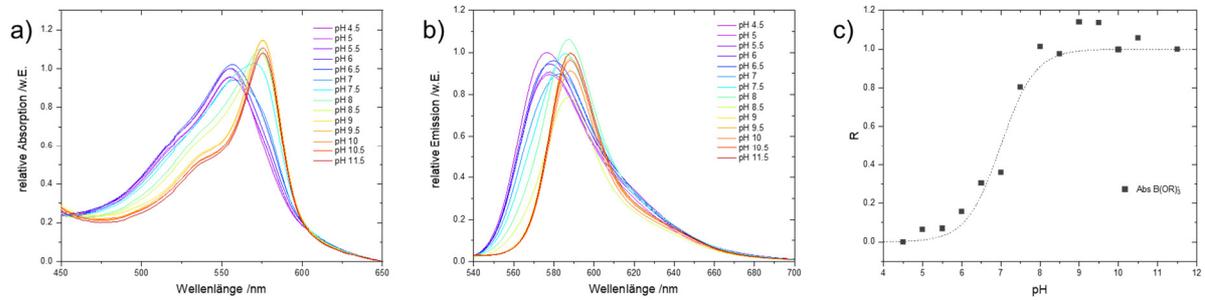


Abbildung 207: pH-Titration mit Bodipy 13 und 90 mM Melibiose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve.

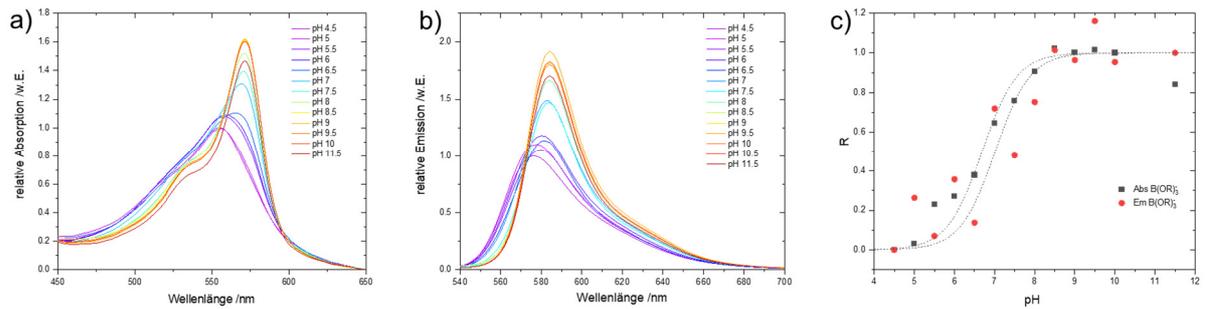


Abbildung 208: pH-Titration mit Bodipy 13 und 100 mM Pentaerythritol a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

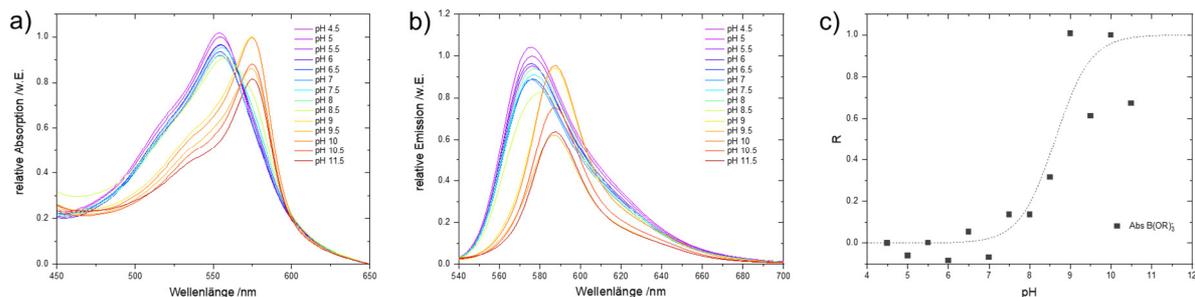


Abbildung 209: pH-Titration mit Bodipy **13** und 10 mM Raffinose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurve.

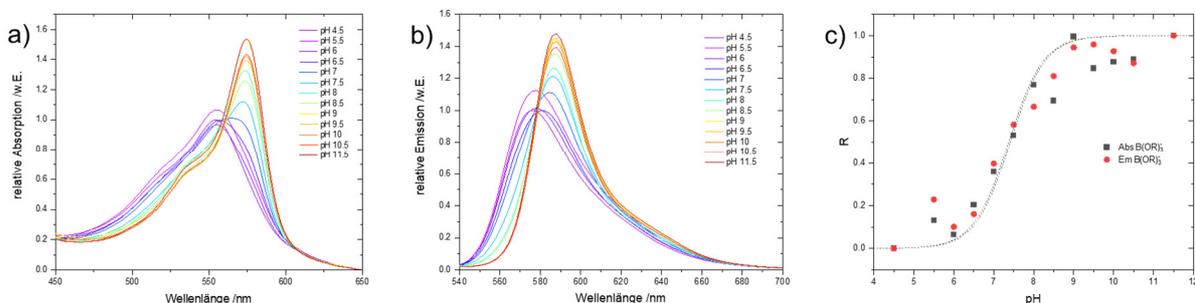


Abbildung 210: pH-Titration mit Bodipy **13** und 100 mM Ribose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

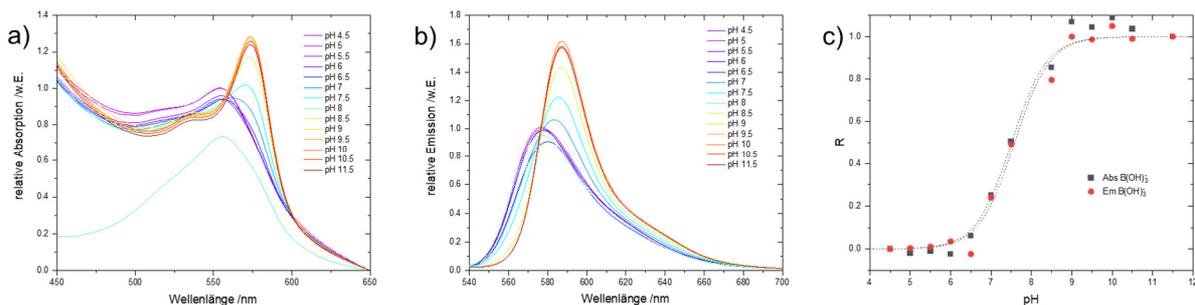


Abbildung 211: pH-Titration mit Bodipy **13** und 100 mM Stachyose a) Absorptions-, b) Fluoreszenzspektren und c) resultierende Titrationskurven.

Für gBBB **8** ergibt sich aus der Absorption ein  $pK_a$ -Wert von  $pK_a = 8.8 \pm 0.1$  und aus der Emission ein Wert von  $pK_a = 8.7 \pm 0.1$ . Als Mittelwert ergibt sich ein  $pK_a$ -Wert für gBBB **8** von  $pK_a = 8.7 \pm 0.1$ . Der erhaltene Wert stimmt auch mit dem  $pK_a$ -Wert überein, der sich aus dem

Schnittpunkt der beiden Titrationskurven aus Abbildung 62a ergibt. Aufgrund der geringeren spektralen Verschiebung im Emissionsspektrum, wird der  $pK_a$ -Wert von rBBB **13** nur mittels Absorption auf  $pK_a = 8.9 \pm 0.1$  bestimmt (Abbildung 62b). Wird die Auswertung mit der in Kapitel 2.4.1 beschriebenen alternativen Auswertung über Gleichung 5 durchgeführt, werden für gBBB  $pK_a = 8.6$  und für rBBB  $pK_a = 8.8$  erhalten. Somit können beide Auswertungen zukünftig äquivalent verwendet werden.

Tabelle 14: Alle mit Gleichung 2-4 erhaltenen  $pK_a$ -Werte für Verbindung gBBB (**8**) und rBBB (**13**).

Bodipy 8			Bodipy 13		
+ Diol	$pK_a$ (Abs)	$pK_a$ (Em)	+ Diol	$pK_a$ (Abs)	$pK_a$ (Em)
-	$8.8 \pm 0.1$	$8.7 \pm 0.1$	-	$8.9 \pm 0.1$	-
D-Arabinose	$7.3 \pm 0.1$	$7.3 \pm 0.1$	D-Arabinose	$7.7 \pm 0.1$	$7.9 \pm 0.1$
Dulcitol	$7.6 \pm 0.1$	$7.7 \pm 0.1$	Dulcitol	$7.7 \pm 0.1$	$7.9 \pm 0.1$
D-Fructose	$6.0 \pm 0.1$	$6.3 \pm 0.1$	D-Fructose	$6.1 \pm 0.1$	$6.2 \pm 0.1$
D-Galactose	$7.5 \pm 0.1$	$7.3 \pm 0.1$	D-Galactose	$7.9 \pm 0.1$	$8.1 \pm 0.2$
D-Glucose	$7.6 \pm 0.1$	$7.7 \pm 0.1$	D-Glucose	$7.8 \pm 0.1$	-
D-Melibiose	$8.0 \pm 0.1$	$8.3 \pm 0.1$	D-Melibiose	$7.0 \pm 0.1$	-
Pentaerythritol	$6.5 \pm 0.1$	$7.1 \pm 0.3$	Pentaerythritol	$6.7 \pm 0.1$	$7.0 \pm 0.2$
D-Raffinose	$8.7 \pm 0.1$	$8.6 \pm 0.1$	D-Raffinose	$8.9 \pm 0.1$	-
D-Ribose	$7.0 \pm 0.1$	$7.0 \pm 0.1$	D-Ribose	$7.4 \pm 0.1$	$7.4 \pm 0.1$
D-Stachyose	$7.2 \pm 0.1$	$7.3 \pm 0.1$	D-Stachyose	$7.5 \pm 0.1$	$7.6 \pm 0.1$

Tabelle 15: Mittelwerte der mit Gleichung 5 erhaltenen  $pK_a$ -Werte für Verbindung gBBB (**8**) und rBBB (**13**), sowie die relativen und prozentualen Abweichungen vom Mittelwert aus Tabelle 10.

Bodipy 8			Bodipy 13		
+ diol	$pK_a$ (MW)	$\Delta pK_a$ (in %)	+ diol	$pK_a$ (MW)	$\Delta pK_a$ (in %)
-	$8.6 \pm 0.1$	0.1 (1.1)	-	$8.8 \pm 0.4$	0.1 (1.1)
D-Arabinose	$7.2 \pm 0.1$	0.1 (1.4)	D-Arabinose	$7.4 \pm 0.1$	0.4 (5.1)
Dulcitol	$7.6 \pm 0.1$	- (-)	Dulcitol	$7.6 \pm 0.1$	0.2 (2.6)
D-Fructose	$5.8 \pm 0.1$	0.4 (6.5)	D-Fructose	$6.2 \pm 0.1$	- (-)
D-Galactose	$7.3 \pm 0.1$	0.1 (1.4)	D-Galactose	$7.6 \pm 0.1$	0.4 (5.0)
D-Glucose	$7.5 \pm 0.1$	0.1 (1.3)	D-Glucose	$8.1 \pm 0.1$	0.3 (3.9)
D-Melibiose	$8.1 \pm 0.2$	0.1 (1.2)	D-Melibiose	$7.5 \pm 0.1$	0.5 (7.1)
Pentaerythritol	$6.6 \pm 0.1$	0.1 (1.5)	Pentaerythritol	$6.7 \pm 0.1$	0.1 (1.5)
D-Raffinose	$8.7 \pm 0.2$	- (-)	D-Raffinose	$8.7 \pm 0.2$	0.2 (2.3)
D-Ribose	$7.0 \pm 0.1$	- (-)	D-Ribose	$7.2 \pm 0.1$	0.2 (2.7)
D-Stachyose	$7.1 \pm 0.1$	0.1 (1.4)	D-Stachyose	$7.3 \pm 0.1$	0.2 (2.7)

---

## A.6. Kristallstrukturen

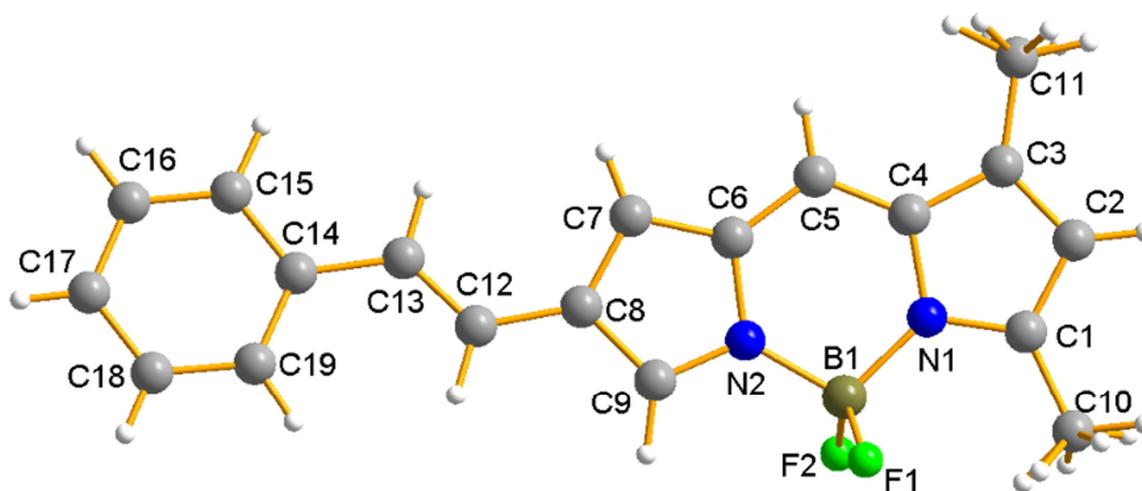


Abbildung 212: Kristallstruktur von Verbindung 3 (CCDC: 1890200).

Tabelle 16: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von Verbindung 3.

Identification code	sh3956
Empirical formula	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> B F <sub>2</sub> N <sub>2</sub>
Formula weight	322.15
Temperature	142(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub> /c
Unit cell dimensions	a = 14.555(3) Å      α = 90°. b = 8.3641(17) Å     β = 107.749(10)°. c = 13.629(3) Å      γ = 90°.
Volume	1580.2(6) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.354 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.096 mm <sup>-1</sup>
F(000)	672
Crystal size	0.428 x 0.106 x 0.040 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	2.844 to 30.636°
Index ranges	-20 ≤ h ≤ 20, -11 ≤ k ≤ 9, -18 ≤ l ≤ 19
Reflections collected	18506
Independent reflections	4835 [R(int) = 0.0241]
Completeness to theta = 25.242°	100.0%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7461 and 0.7037
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	4835 / 0 / 263
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.036
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0470, wR2 = 0.1204
R indices (all data)	R1 = 0.0616, wR2 = 0.1309
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.493 and -0.250 e.Å <sup>-3</sup>

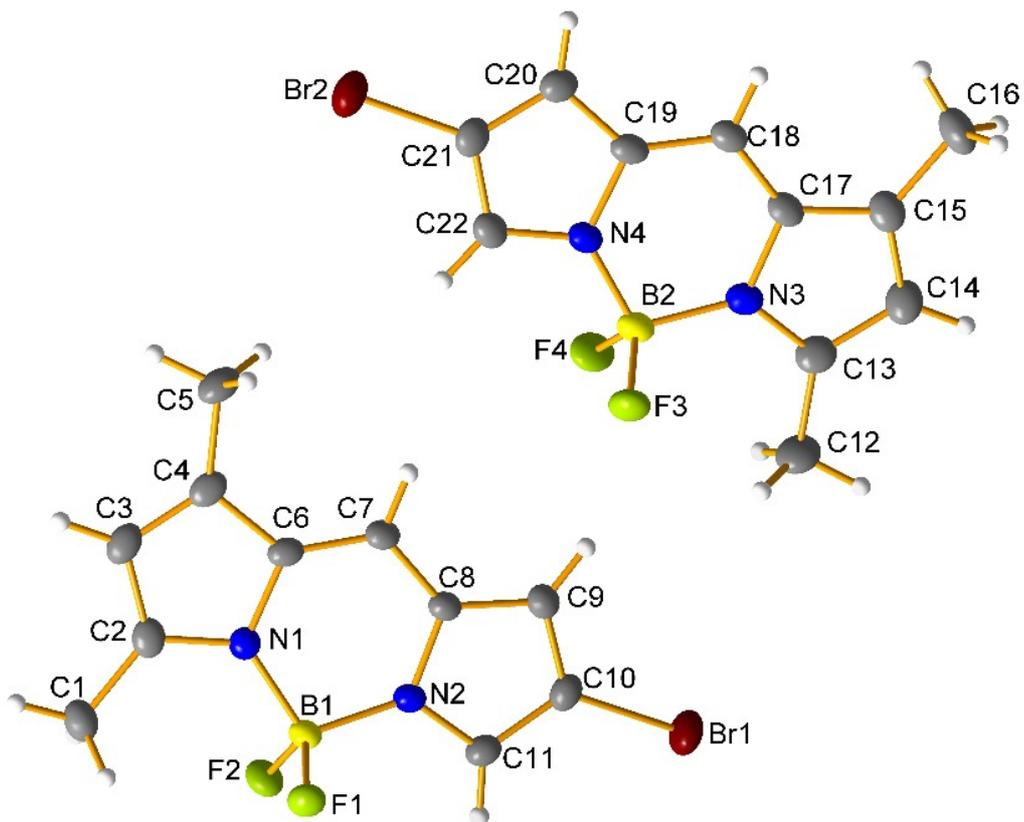


Abbildung 213: Kristallstruktur von Verbindung 6 (CCDC: 2071440).

Tabelle 17: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Verbindung 6.

Identification code	sh4337_a
Empirical formula	C11 H10 B Br F2 N2
Formula weight	298.93
Temperature	133(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 10.0745(4) Å    α = 103.8370(10)°. b = 11.1857(5) Å    β = 110.1270(10)°. c = 11.5665(5) Å    γ = 98.332(2)°.
Volume	1150.83(9) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.725 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	3.574 mm <sup>-1</sup>
F(000)	592
Crystal size	0.150 x 0.129 x 0.120 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	1.936 to 27.395°
Index ranges	-12<=h<=13, -14<=k<=14, -15<=l<=15
Reflections collected	24691
Independent reflections	5501 [R(int) = 0.0436]
Completeness to theta = 25.242°	99.7%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7456 and 0.6442
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	5501 / 0 / 311
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.033
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0340, wR2 = 0.0911
R indices (all data)	R1 = 0.0421, wR2 = 0.0967
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.941 and -0.903 e.Å <sup>-3</sup>

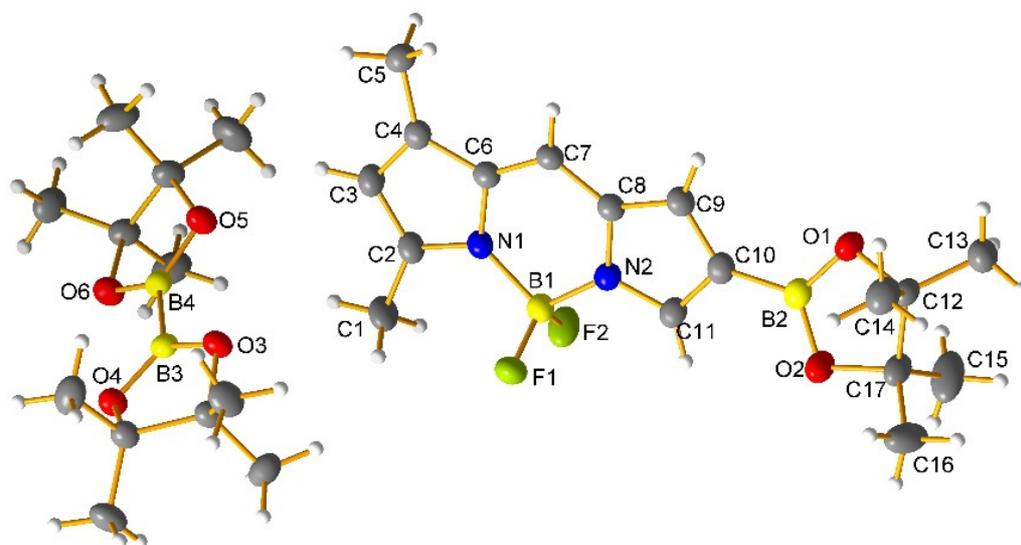


Abbildung 214: Kristallstruktur von Verbindung 7 (CCDC: 2071441).

Tabelle 18: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Verbindung 7.

Identification code	sh4338_a
Empirical formula	C29 H46 B4 F2 N2 O6
Formula weight	599.92
Temperature	133(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 11.5180(3) Å    α = 104.5730(10)°. b = 11.9274(3) Å    β = 100.3100(10)°. c = 12.7058(4) Å    γ = 98.0960(10)°.
Volume	1630.11(8) Å <sup>3</sup>
Z	2
Density (calculated)	1.222 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.089 mm <sup>-1</sup>
F(000)	640
Crystal size	0.576 x 0.230 x 0.162 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	2.094 to 27.124°
Index ranges	-14<=h<=14, -15<=k<=15, -16<=l<=16
Reflections collected	27037
Independent reflections	7195 [R(int) = 0.0309]
Completeness to theta = 25.242°	99.9%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7455 and 0.7126
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	7195 / 0 / 401
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.030
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0448, wR2 = 0.1132
R indices (all data)	R1 = 0.0557, wR2 = 0.1218
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.310 and -0.263 e.Å <sup>-3</sup>

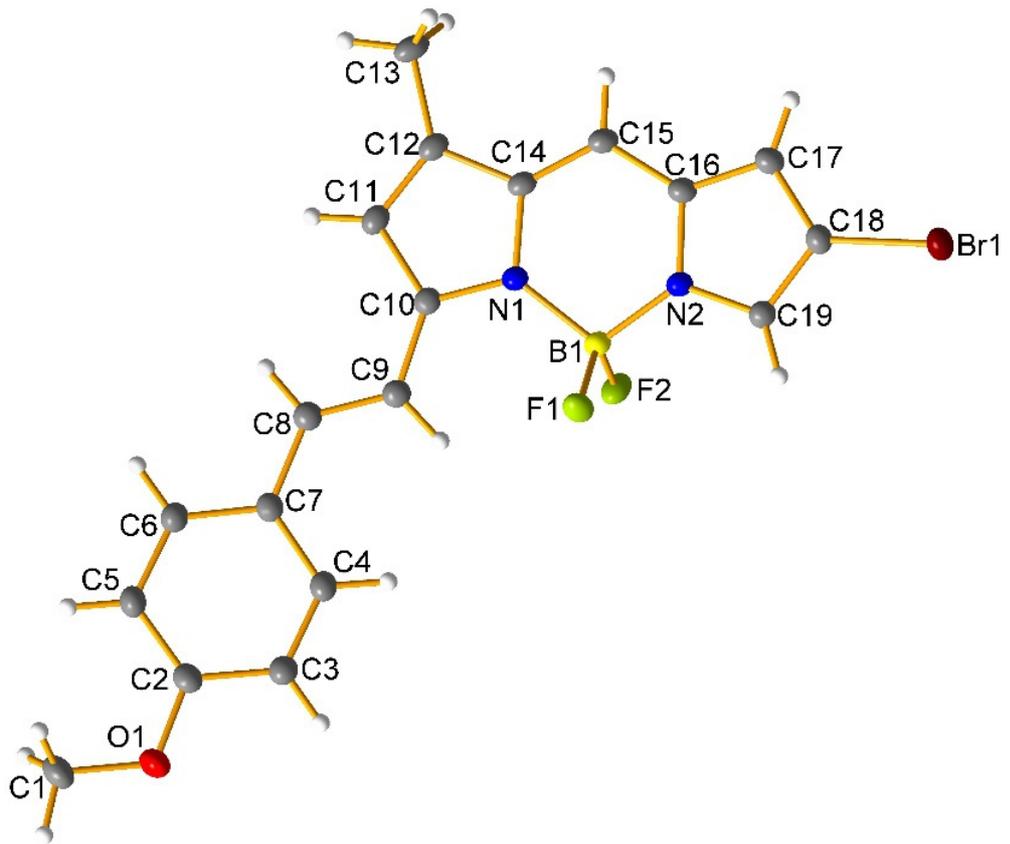


Abbildung 215: Kristallstruktur von Verbindung **10** (CCDC: 2071448).

Tabelle 19: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Verbindung 10.

Identification code	sh4360_a
Empirical formula	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> B Br F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
Formula weight	417.06
Temperature	133(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub> /n
Unit cell dimensions	a = 10.3746(3) Å     α = 90°. b = 16.5072(4) Å     β = 110.394(1)°. c = 10.8504(3) Å     γ = 90°.
Volume	1741.72(8) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.590 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	2.391 mm <sup>-1</sup>
F(000)	840
Crystal size	0.415 x 0.302 x 0.164 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	2.340 to 31.545°
Index ranges	-15 ≤ h ≤ 15, -24 ≤ k ≤ 24, -15 ≤ l ≤ 15
Reflections collected	50763
Independent reflections	5799 [R(int) = 0.0215]
Completeness to theta = 25.242°	99.8%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.746 and 0.605
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	5799 / 0 / 237
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.045
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0247, wR2 = 0.0586
R indices (all data)	R1 = 0.0215, wR2 = 0.0572
Extinction coefficient	n/a

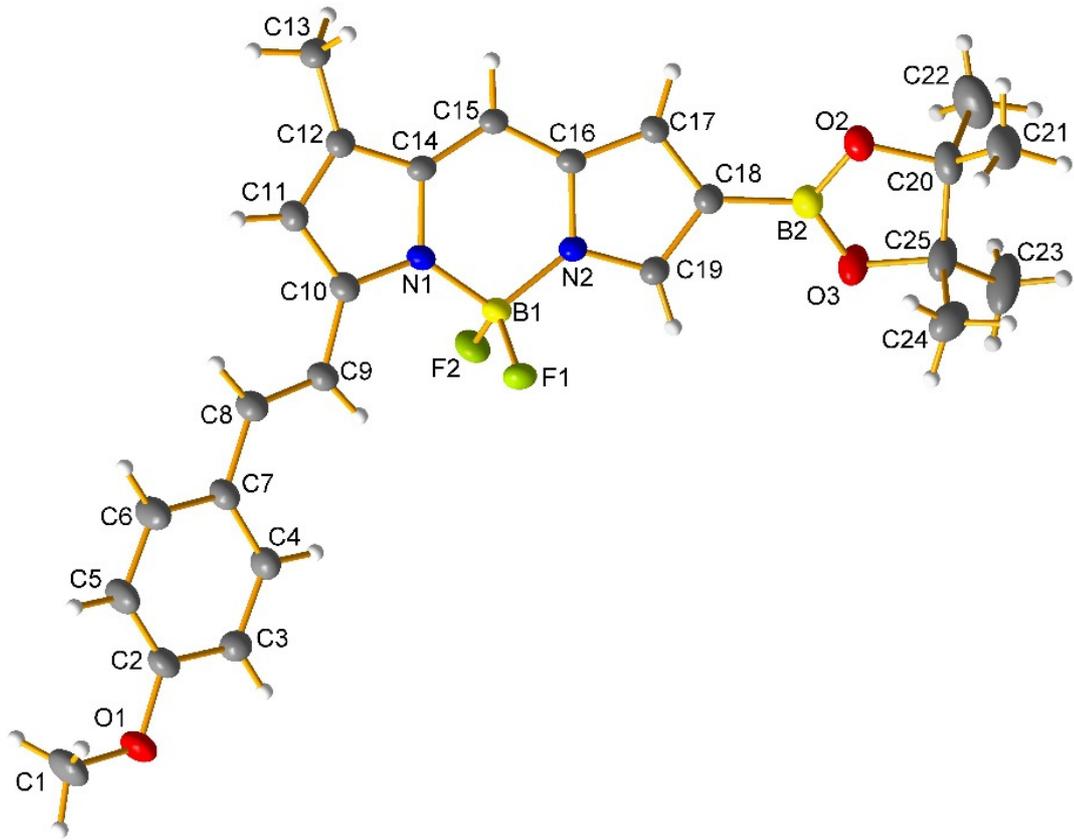


Abbildung 216: Kristallstruktur von Verbindung **12** (CCDC: 2071453).

Tabelle 20: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von Verbindung 12.

Identification code	sh4361_a
Empirical formula	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> B <sub>2</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Formula weight	464.11
Temperature	133(2) K
Wavelength	1.54178 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub> /c
Unit cell dimensions	a = 11.6981(5) Å     α = 90°. b = 15.2394(6) Å     β = 92.0930(10)°. c = 13.6398(6) Å     γ = 90°.
Volume	2429.97(18) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.269 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.758 mm <sup>-1</sup>
F(000)	976
Crystal size	0.143 x 0.107 x 0.089 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	3.781 to 80.070°
Index ranges	-14 ≤ h ≤ 14, -18 ≤ k ≤ 19, -17 ≤ l ≤ 17
Reflections collected	26389
Independent reflections	5198 [R(int) = 0.0290]
Completeness to theta = 25.242°	100.0%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7543 and 0.6732
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	5198 / 0 / 313
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.067
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0402, wR2 = 0.1079
R indices (all data)	R1 = 0.0433, wR2 = 0.1110
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.368 and -0.275 e.Å <sup>-3</sup>

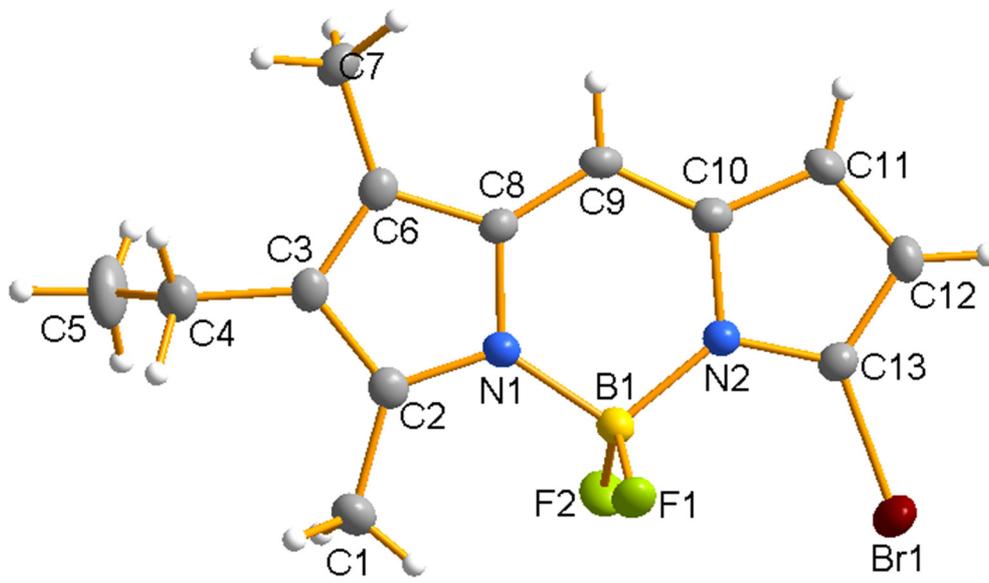


Abbildung 217: Kristallstruktur von Verbindung 17 (nicht veröffentlicht).

Tabelle 21: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von Verbindung 17.

Identification code	sh4067
Empirical formula	C13 H14 B Br F2 N2
Formula weight	326.98
Temperature	152(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 7.1524(3) Å      α = 78.191(2)°. b = 13.5353(6) Å      β = 87.616(2)°. c = 14.0463(7) Å      γ = 88.679(2)°.
Volume	1329.74(11) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.633 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	3.100 mm <sup>-1</sup>
F(000)	656
Crystal size	0.277 x 0.131 x 0.051 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	1.482 to 27.173°
Index ranges	-9<=h<=9, -17<=k<=17, -18<=l<=18
Reflections collected	35766
Independent reflections	5906 [R(int) = 0.0484]
Completeness to theta = 25.242°	100.0%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7455 and 0.6362
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	5906 / 0 / 439
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.033
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0315, wR2 = 0.0679
R indices (all data)	R1 = 0.0508, wR2 = 0.0750
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.409 and -0.429 e.Å <sup>-3</sup>

Table 22: Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for 17.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
B(1)	6654(4)	8237(2)	1277(2)	20(1)
Br(1)	8786(1)	6682(1)	5(1)	33(1)
F(1)	8390(2)	8694(1)	1056(1)	27(1)
F(2)	6835(2)	7363(1)	1975(1)	29(1)
N(1)	5249(3)	8975(1)	1658(1)	18(1)
N(2)	5832(3)	8009(2)	337(1)	19(1)
C(1)	6865(4)	9060(2)	3179(2)	28(1)
C(2)	5353(3)	9348(2)	2469(2)	21(1)
C(3)	3804(3)	10014(2)	2550(2)	20(1)
C(4)	3452(4)	10577(2)	3360(2)	27(1)
C(5)	2281(6)	10000(3)	4199(3)	45(1)
C(6)	2720(3)	10030(2)	1763(2)	20(1)
C(7)	936(4)	10597(2)	1518(2)	26(1)
C(8)	3616(3)	9376(2)	1198(2)	19(1)
C(9)	3105(3)	9097(2)	370(2)	21(1)
C(10)	4171(3)	8415(2)	-67(2)	21(1)
C(11)	3875(4)	8027(2)	-894(2)	24(1)
C(12)	5376(4)	7383(2)	-1010(2)	26(1)
C(13)	6530(3)	7394(2)	-243(2)	22(1)
B(2)	7908(4)	3177(2)	5295(2)	20(1)
Br(2)	8365(1)	1965(1)	3445(1)	29(1)
F(3)	9547(2)	2616(1)	5453(1)	28(1)
F(4)	6369(2)	2556(1)	5542(1)	29(1)
N(3)	7826(3)	4010(1)	5912(1)	18(1)
N(4)	7831(3)	3732(1)	4211(1)	18(1)
C(14)	8400(4)	2880(2)	7507(2)	29(1)
C(15)	8003(3)	3882(2)	6870(2)	20(1)
C(16)	7776(3)	4825(2)	7174(2)	19(1)
C(17)	7962(4)	4967(2)	8192(2)	24(1)
C(18)	6348(4)	4562(3)	8898(2)	33(1)
C(19)	7434(3)	5545(2)	6352(2)	18(1)
C(20)	7072(4)	6654(2)	6271(2)	25(1)
C(21)	7487(3)	5042(2)	5547(2)	19(1)

---

C(22)	7319(3)	5399(2)	4575(2)	18(1)
C(23)	7495(3)	4764(2)	3894(2)	19(1)
C(24)	7421(3)	4977(2)	2893(2)	24(1)
C(25)	7718(3)	4075(2)	2564(2)	23(1)
C(26)	7955(3)	3343(2)	3395(2)	21(1)

---

*Tabelle 23: Bond lengths [Å] and angles [°] for 17.*

---

B(1)-F(2)	1.380(3)
B(1)-F(1)	1.395(3)
B(1)-N(1)	1.556(3)
B(1)-N(2)	1.558(3)
Br(1)-C(13)	1.869(2)
N(1)-C(2)	1.342(3)
N(1)-C(8)	1.402(3)
N(2)-C(13)	1.353(3)
N(2)-C(10)	1.390(3)
C(1)-C(2)	1.493(4)
C(1)-H(1)	0.98(3)
C(1)-H(2)	0.93(4)
C(1)-H(3)	0.88(4)
C(2)-C(3)	1.428(3)
C(3)-C(6)	1.373(3)
C(3)-C(4)	1.503(4)
C(4)-C(5)	1.507(4)
C(4)-H(4)	0.90(3)
C(4)-H(5)	1.01(3)
C(5)-H(6)	0.85(4)
C(5)-H(7)	0.98(3)
C(5)-H(8)	0.98(4)
C(6)-C(8)	1.429(3)
C(6)-C(7)	1.489(4)
C(7)-H(9)	0.92(3)
C(7)-H(10)	0.96(3)
C(7)-H(11)	1.00(3)
C(8)-C(9)	1.360(3)

---

---

C(9)-C(10)	1.404(3)
C(9)-H(12)	0.91(2)
C(10)-C(11)	1.395(3)
C(11)-C(12)	1.393(4)
C(11)-H(13)	0.91(3)
C(12)-C(13)	1.387(4)
C(12)-H(14)	0.93(3)
B(2)-F(3)	1.383(3)
B(2)-F(4)	1.389(3)
B(2)-N(3)	1.556(3)
B(2)-N(4)	1.557(3)
Br(2)-C(26)	1.868(2)
N(3)-C(15)	1.333(3)
N(3)-C(21)	1.405(3)
N(4)-C(26)	1.355(3)
N(4)-C(23)	1.395(3)
C(14)-C(15)	1.493(3)
C(14)-H(15)	0.9800
C(14)-H(16)	0.9800
C(14)-H(17)	0.9800
C(15)-C(16)	1.429(3)
C(16)-C(19)	1.376(3)
C(16)-C(17)	1.493(3)
C(17)-C(18)	1.526(4)
C(17)-H(18)	0.99(3)
C(17)-H(19)	0.96(3)
C(18)-H(20)	0.98(3)
C(18)-H(21)	0.98(3)
C(18)-H(22)	0.93(3)
C(19)-C(21)	1.434(3)
C(19)-C(20)	1.499(3)
C(20)-H(23)	0.9800
C(20)-H(24)	0.9800
C(20)-H(25)	0.9800
C(21)-C(22)	1.362(3)
C(22)-C(23)	1.412(3)
C(22)-H(26)	0.91(3)

---

C(23)-C(24)	1.379(3)
C(24)-C(25)	1.399(4)
C(24)-H(27)	0.87(2)
C(25)-C(26)	1.382(3)
C(25)-H(28)	1.14(2)
F(2)-B(1)-F(1)	110.0(2)
F(2)-B(1)-N(1)	109.7(2)
F(1)-B(1)-N(1)	109.8(2)
F(2)-B(1)-N(2)	110.8(2)
F(1)-B(1)-N(2)	109.8(2)
N(1)-B(1)-N(2)	106.55(19)
C(2)-N(1)-C(8)	107.27(19)
C(2)-N(1)-B(1)	127.4(2)
C(8)-N(1)-B(1)	125.30(19)
C(13)-N(2)-C(10)	106.27(19)
C(13)-N(2)-B(1)	128.6(2)
C(10)-N(2)-B(1)	125.1(2)
C(2)-C(1)-H(1)	114.9(18)
C(2)-C(1)-H(2)	113(2)
H(1)-C(1)-H(2)	106(3)
C(2)-C(1)-H(3)	113(2)
H(1)-C(1)-H(3)	105(3)
H(2)-C(1)-H(3)	104(3)
N(1)-C(2)-C(3)	110.2(2)
N(1)-C(2)-C(1)	123.3(2)
C(3)-C(2)-C(1)	126.5(2)
C(6)-C(3)-C(2)	107.1(2)
C(6)-C(3)-C(4)	127.4(2)
C(2)-C(3)-C(4)	125.5(2)
C(3)-C(4)-C(5)	113.3(2)
C(3)-C(4)-H(4)	105.1(18)
C(5)-C(4)-H(4)	110.6(19)
C(3)-C(4)-H(5)	109.9(17)
C(5)-C(4)-H(5)	109.9(16)
H(4)-C(4)-H(5)	108(2)
C(4)-C(5)-H(6)	109(3)

---

C(4)-C(5)-H(7)	112.1(19)
H(6)-C(5)-H(7)	112(3)
C(4)-C(5)-H(8)	112(2)
H(6)-C(5)-H(8)	108(3)
H(7)-C(5)-H(8)	104(3)
C(3)-C(6)-C(8)	106.9(2)
C(3)-C(6)-C(7)	128.2(2)
C(8)-C(6)-C(7)	124.8(2)
C(6)-C(7)-H(9)	110(2)
C(6)-C(7)-H(10)	109.9(19)
H(9)-C(7)-H(10)	107(3)
C(6)-C(7)-H(11)	111.9(19)
H(9)-C(7)-H(11)	112(3)
H(10)-C(7)-H(11)	106(3)
C(9)-C(8)-N(1)	120.4(2)
C(9)-C(8)-C(6)	131.1(2)
N(1)-C(8)-C(6)	108.5(2)
C(8)-C(9)-C(10)	122.4(2)
C(8)-C(9)-H(12)	118.1(15)
C(10)-C(9)-H(12)	119.4(15)
N(2)-C(10)-C(11)	108.8(2)
N(2)-C(10)-C(9)	120.1(2)
C(11)-C(10)-C(9)	131.0(2)
C(12)-C(11)-C(10)	107.6(2)
C(12)-C(11)-H(13)	126.3(18)
C(10)-C(11)-H(13)	126.1(18)
C(13)-C(12)-C(11)	105.9(2)
C(13)-C(12)-H(14)	126.0(16)
C(11)-C(12)-H(14)	128.0(16)
N(2)-C(13)-C(12)	111.4(2)
N(2)-C(13)-Br(1)	121.95(18)
C(12)-C(13)-Br(1)	126.64(19)
F(3)-B(2)-F(4)	110.2(2)
F(3)-B(2)-N(3)	110.2(2)
F(4)-B(2)-N(3)	109.5(2)
F(3)-B(2)-N(4)	110.5(2)
F(4)-B(2)-N(4)	109.8(2)

---

N(3)-B(2)-N(4)	106.48(19)
C(15)-N(3)-C(21)	107.7(2)
C(15)-N(3)-B(2)	127.0(2)
C(21)-N(3)-B(2)	125.2(2)
C(26)-N(4)-C(23)	105.7(2)
C(26)-N(4)-B(2)	129.2(2)
C(23)-N(4)-B(2)	125.1(2)
C(15)-C(14)-H(15)	109.5
C(15)-C(14)-H(16)	109.5
H(15)-C(14)-H(16)	109.5
C(15)-C(14)-H(17)	109.5
H(15)-C(14)-H(17)	109.5
H(16)-C(14)-H(17)	109.5
N(3)-C(15)-C(16)	110.5(2)
N(3)-C(15)-C(14)	123.1(2)
C(16)-C(15)-C(14)	126.5(2)
C(19)-C(16)-C(15)	106.8(2)
C(19)-C(16)-C(17)	128.3(2)
C(15)-C(16)-C(17)	124.8(2)
C(16)-C(17)-C(18)	115.1(2)
C(16)-C(17)-H(18)	107.3(15)
C(18)-C(17)-H(18)	112.7(15)
C(16)-C(17)-H(19)	111.0(16)
C(18)-C(17)-H(19)	105.8(16)
H(18)-C(17)-H(19)	104(2)
C(17)-C(18)-H(20)	110.1(19)
C(17)-C(18)-H(21)	110.6(18)
H(20)-C(18)-H(21)	108(3)
C(17)-C(18)-H(22)	111(2)
H(20)-C(18)-H(22)	112(3)
H(21)-C(18)-H(22)	104(3)
C(16)-C(19)-C(21)	107.1(2)
C(16)-C(19)-C(20)	128.4(2)
C(21)-C(19)-C(20)	124.5(2)
C(19)-C(20)-H(23)	109.5
C(19)-C(20)-H(24)	109.5
H(23)-C(20)-H(24)	109.5

---

C(19)-C(20)-H(25)	109.5
H(23)-C(20)-H(25)	109.5
H(24)-C(20)-H(25)	109.5
C(22)-C(21)-N(3)	120.6(2)
C(22)-C(21)-C(19)	131.6(2)
N(3)-C(21)-C(19)	107.8(2)
C(21)-C(22)-C(23)	122.2(2)
C(21)-C(22)-H(26)	122.7(16)
C(23)-C(22)-H(26)	115.2(15)
C(24)-C(23)-N(4)	109.0(2)
C(24)-C(23)-C(22)	131.0(2)
N(4)-C(23)-C(22)	120.0(2)
C(23)-C(24)-C(25)	108.2(2)
C(23)-C(24)-H(27)	124.6(16)
C(25)-C(24)-H(27)	127.1(16)
C(26)-C(25)-C(24)	105.2(2)
C(26)-C(25)-H(28)	120.7(10)
C(24)-C(25)-H(28)	134.1(10)
N(4)-C(26)-C(25)	112.0(2)
N(4)-C(26)-Br(2)	121.86(18)
C(25)-C(26)-Br(2)	126.14(19)

---

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

*Tabelle 24: Anisotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for 17. The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2p^2[h^2 a^{*2}U^{11} + \dots + 2hka^*b^*U^{12}]$ .*

---

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
B(1)	22(1)	19(1)	20(1)	-5(1)	-3(1)	1(1)
Br(1)	30(1)	34(1)	38(1)	-16(1)	-7(1)	12(1)
F(1)	18(1)	32(1)	33(1)	-12(1)	-1(1)	-2(1)
F(2)	41(1)	21(1)	25(1)	-1(1)	-7(1)	7(1)
N(1)	18(1)	19(1)	20(1)	-4(1)	-2(1)	-1(1)
N(2)	19(1)	19(1)	20(1)	-4(1)	-2(1)	1(1)
C(1)	25(2)	34(2)	27(2)	-10(1)	-4(1)	-1(1)
C(2)	21(1)	20(1)	20(1)	-2(1)	1(1)	-5(1)
C(3)	21(1)	19(1)	22(1)	-5(1)	4(1)	-6(1)

---

---

C(4)	28(2)	29(2)	28(2)	-12(1)	0(1)	-2(1)
C(5)	66(3)	42(2)	28(2)	-12(2)	16(2)	-6(2)
C(6)	21(1)	17(1)	22(1)	-3(1)	4(1)	-4(1)
C(7)	21(1)	26(2)	31(2)	-8(1)	2(1)	2(1)
C(8)	17(1)	18(1)	20(1)	-1(1)	0(1)	1(1)
C(9)	16(1)	22(1)	22(1)	-1(1)	-3(1)	0(1)
C(10)	19(1)	22(1)	19(1)	-2(1)	-2(1)	-1(1)
C(11)	24(1)	29(1)	19(1)	-5(1)	-5(1)	0(1)
C(12)	30(1)	27(1)	22(1)	-10(1)	0(1)	-1(1)
C(13)	20(1)	21(1)	24(1)	-6(1)	0(1)	0(1)
B(2)	21(1)	15(1)	22(2)	-4(1)	1(1)	-1(1)
Br(2)	34(1)	25(1)	31(1)	-12(1)	1(1)	-2(1)
F(3)	29(1)	27(1)	28(1)	-6(1)	-2(1)	10(1)
F(4)	33(1)	25(1)	28(1)	-6(1)	5(1)	-13(1)
N(3)	17(1)	17(1)	20(1)	-3(1)	1(1)	-1(1)
N(4)	16(1)	18(1)	22(1)	-5(1)	0(1)	-1(1)
C(14)	38(2)	22(1)	24(1)	-1(1)	-2(1)	2(1)
C(15)	14(1)	24(1)	22(1)	-3(1)	1(1)	-1(1)
C(16)	13(1)	25(1)	20(1)	-7(1)	4(1)	-4(1)
C(17)	22(1)	29(2)	23(1)	-9(1)	0(1)	-2(1)
C(18)	32(2)	40(2)	27(2)	-9(1)	5(1)	-5(1)
C(19)	12(1)	19(1)	25(1)	-7(1)	2(1)	-2(1)
C(20)	25(1)	20(1)	30(2)	-7(1)	2(1)	-1(1)
C(21)	12(1)	17(1)	26(1)	-3(1)	6(1)	-2(1)
C(22)	14(1)	16(1)	24(1)	0(1)	1(1)	-2(1)
C(23)	15(1)	18(1)	23(1)	-2(1)	2(1)	-2(1)
C(24)	22(1)	23(1)	24(1)	2(1)	-2(1)	-2(1)
C(25)	18(1)	31(1)	20(1)	-6(1)	2(1)	-5(1)
C(26)	17(1)	23(1)	24(1)	-8(1)	3(1)	-3(1)

---

Tabelle 25: Hydrogen coordinates ( $\times 10^4$ ) and isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **17**.

	x	y	z	U(eq)
H(1)	7360(40)	9620(20)	3430(20)	46(9)
H(2)	6480(50)	8580(30)	3720(30)	66(12)
H(3)	7840(50)	8770(30)	2940(20)	53(10)
H(4)	2860(40)	11150(20)	3090(20)	34(8)
H(5)	4680(40)	10760(20)	3600(20)	38(8)
H(6)	1290(50)	9800(30)	3980(30)	63(13)
H(7)	1990(40)	10400(20)	4700(20)	49(9)
H(8)	2950(50)	9400(30)	4550(30)	61(11)
H(9)	-60(50)	10170(20)	1700(20)	50(10)
H(10)	900(40)	10850(20)	830(20)	50(10)
H(11)	810(50)	11200(30)	1820(20)	54(10)
H(12)	2040(30)	9379(17)	86(17)	14(6)
H(13)	2880(40)	8170(20)	-1290(20)	32(8)
H(14)	5570(40)	7000(20)	-1489(19)	25(7)
H(15)	8210	2345	7147	82(13)
H(16)	7553	2782	8084	99(15)
H(17)	9699	2855	7709	93(14)
H(23)	5720	6789	6271	79(12)
H(24)	7657	7026	5663	67(11)
H(25)	7603	6873	6824	68(11)
H(18)	8180(30)	5690(20)	8157(18)	22(7)
H(19)	9070(40)	4630(20)	8470(20)	31(8)
H(20)	6230(40)	3830(30)	8940(20)	49(9)
H(21)	6570(40)	4680(20)	9550(20)	41(8)
H(22)	5240(50)	4910(20)	8720(20)	49(10)
H(26)	7100(30)	6070(20)	4315(17)	19(7)
H(27)	7310(30)	5579(18)	2539(17)	11(6)
H(28)	7790(30)	3871(15)	1817(15)	2(5)

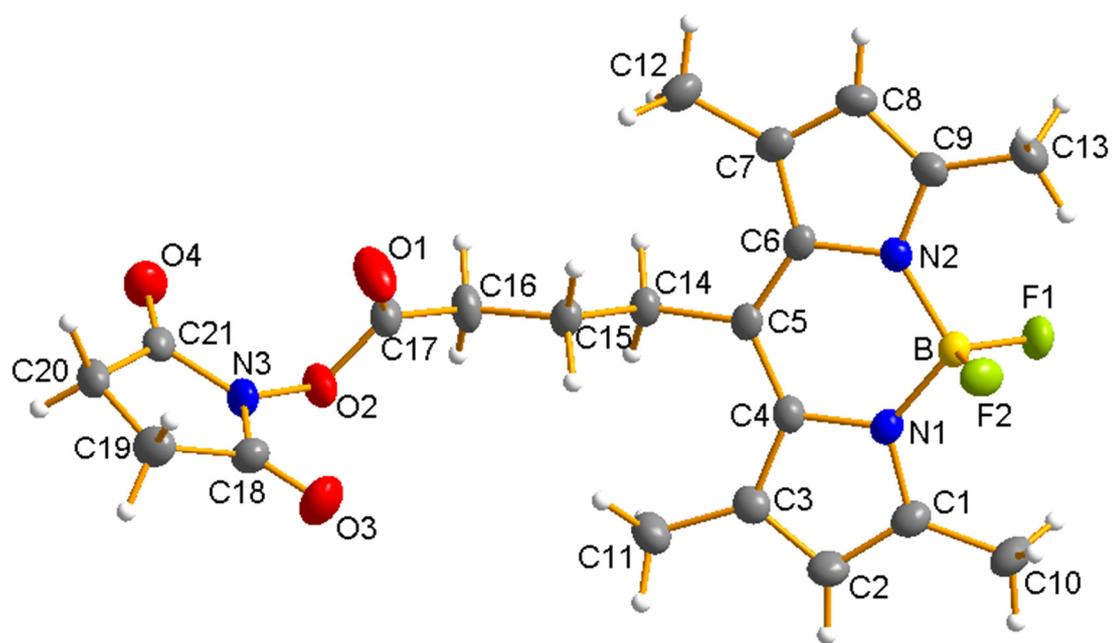


Abbildung 218: Kristallstruktur von Verbindung **28** (CCDC: 2054523).

Tabelle 26: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von Verbindung **28**.

Identification code	sh3778
Empirical formula	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> B F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
Formula weight	431.24
Temperature	152(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub> /c
Unit cell dimensions	a = 9.8723(4) Å     α = 90°. b = 19.0752(7) Å     β = 99.980(2)°. c = 11.1028(5) Å     γ = 90°.
Volume	2059.20(15) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.391 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.108 mm <sup>-1</sup>
F(000)	904
Crystal size	0.434 x 0.233 x 0.090 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	2.095 to 27.922°
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 13, -25 ≤ k ≤ 20, -14 ≤ l ≤ 14
Reflections collected	19799
Independent reflections	4925 [R(int) = 0.0559]
Completeness to theta = 25.242°	100.0%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7456 and 0.6717
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	4925 / 0 / 366
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.031
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0408, wR2 = 0.0998
R indices (all data)	R1 = 0.0548, wR2 = 0.1075
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.244 and -0.263 e.Å <sup>-3</sup>

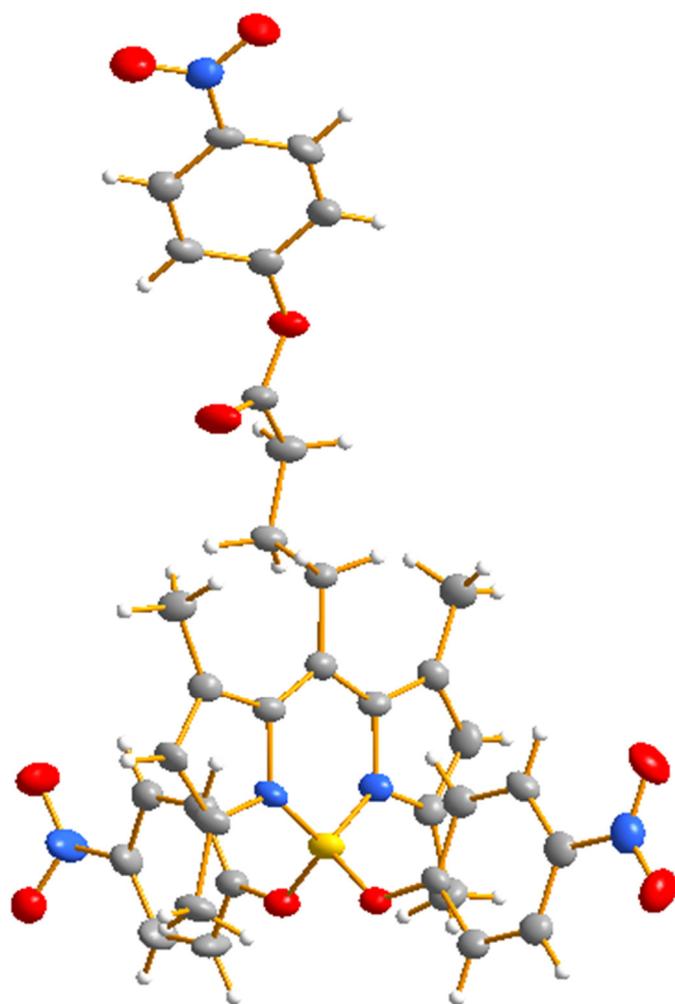


Abbildung 219: Kristallstruktur von Verbindung 29 (nicht veröffentlicht).

Tabelle 27: Kristalldaten und Strukturverfeinerung von Verbindung 29.

Identification code	sh4159a_sq
Empirical formula	C35 H32 B N5 O10 [+solvent]
Formula weight	693.46
Temperature	133(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2 <sub>1</sub> /c
Unit cell dimensions	a = 19.6788(12) Å    α = 90°. b = 7.6715(5) Å     β = 104.299(2)°. c = 23.6918(10) Å    γ = 90°.
Volume	3465.9(3) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.329 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.098 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1448
Crystal size	0.203 x 0.143 x 0.035 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	2.286 to 26.023°
Index ranges	-24 ≤ h ≤ 24, -8 ≤ k ≤ 9, -29 ≤ l ≤ 28
Reflections collected	29770
Independent reflections	6830 [R(int) = 0.0453]
Completeness to theta = 25.242°	99.9%
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7453 and 0.7065
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	6830 / 18 / 483
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.035
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0409, wR2 = 0.0974
R indices (all data)	R1 = 0.0559, wR2 = 0.1048
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.208 and -0.206 e.Å <sup>-3</sup>

Tabelle 28: Atomic coordinates ( $\times 10^4$ ) and equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for **29**.  $U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U^{ij}$  tensor.

	x	y	z	U(eq)
B(1)	1757(1)	609(2)	2248(1)	24(1)
N(1)	1838(1)	-517(2)	1726(1)	24(1)
N(2)	2159(1)	2308(2)	2219(1)	24(1)
O(1)	3289(1)	1172(2)	-320(1)	45(1)
O(2)	3960(1)	3490(2)	-423(1)	33(1)
O(3)	4992(1)	-531(2)	-2352(1)	54(1)
O(4)	5975(1)	461(2)	-1832(1)	46(1)
O(5)	1021(1)	953(2)	2237(1)	27(1)
O(6A)	-872(13)	5310(40)	199(6)	47(3)
O(7A)	-1553(7)	4920(50)	770(12)	67(4)
O(6B)	-901(8)	4990(30)	166(3)	42(2)
O(7B)	-1477(7)	5400(30)	826(8)	59(3)
O(8)	1989(1)	-311(2)	2805(1)	26(1)
O(9)	4735(1)	-3192(2)	4452(1)	50(1)
O(10)	5175(1)	-1991(2)	3798(1)	49(1)
N(3)	5333(1)	310(2)	-1939(1)	38(1)
N(4)	-976(1)	4809(2)	663(1)	42(1)
N(5)	4675(1)	-2378(2)	3998(1)	37(1)
C(1)	1518(1)	-2058(2)	1566(1)	27(1)
C(2)	1698(1)	-2645(2)	1065(1)	30(1)
C(3)	2141(1)	-1455(2)	907(1)	27(1)
C(4)	2235(1)	-79(2)	1326(1)	23(1)
C(5)	2607(1)	1491(2)	1383(1)	23(1)
C(6)	2567(1)	2683(2)	1824(1)	24(1)
C(7)	2878(1)	4346(2)	1974(1)	28(1)
C(8)	2642(1)	4918(2)	2448(1)	32(1)
C(9)	2210(1)	3657(2)	2594(1)	28(1)
C(10)	1038(1)	-2890(2)	1884(1)	35(1)
C(11)	2438(1)	-1665(2)	385(1)	34(1)
C(12)	3377(1)	5367(2)	1717(1)	35(1)
C(13)	1840(1)	3712(3)	3075(1)	36(1)
C(14)	3046(1)	1945(2)	965(1)	25(1)
C(15)	2649(1)	3088(2)	457(1)	28(1)

---

C(16)	3140(1)	3917(2)	127(1)	32(1)
C(17)	3451(1)	2654(2)	-220(1)	31(1)
C(18)	4282(1)	2644(2)	-808(1)	29(1)
C(19)	4998(1)	2852(2)	-706(1)	35(1)
C(20)	5345(1)	2108(3)	-1084(1)	36(1)
C(21)	4966(1)	1182(2)	-1554(1)	32(1)
C(22)	4250(1)	1026(2)	-1671(1)	33(1)
C(23)	3898(1)	1769(2)	-1291(1)	32(1)
C(24)	580(1)	1949(2)	1845(1)	26(1)
C(25)	681(1)	2441(2)	1303(1)	28(1)
C(26)	176(1)	3397(2)	920(1)	28(1)
C(27)	-427(1)	3887(2)	1080(1)	31(1)
C(28)	-529(1)	3481(3)	1623(1)	39(1)
C(29)	-24(1)	2509(3)	2000(1)	35(1)
C(30)	2651(1)	-773(2)	3070(1)	24(1)
C(31)	3234(1)	-460(2)	2848(1)	27(1)
C(32)	3893(1)	-985(2)	3154(1)	29(1)
C(33)	3972(1)	-1844(2)	3677(1)	29(1)
C(34)	3402(1)	-2206(2)	3905(1)	31(1)
C(35)	2744(1)	-1654(2)	3602(1)	28(1)

---

*Tabelle 29: Bond lengths [Å] and angles [°] for 29.*

---

B(1)-O(8)	1.465(2)
B(1)-O(5)	1.467(2)
B(1)-N(2)	1.535(2)
B(1)-N(1)	1.548(2)
N(1)-C(1)	1.349(2)
N(1)-C(4)	1.4111(19)
N(2)-C(9)	1.352(2)
N(2)-C(6)	1.4048(19)
O(1)-C(17)	1.189(2)
O(2)-C(17)	1.372(2)
O(2)-C(18)	1.3926(19)
O(3)-N(3)	1.225(2)
O(4)-N(3)	1.231(2)

---

---

O(5)-C(24)	1.343(2)
O(6A)-N(4)	1.227(7)
O(7A)-N(4)	1.226(7)
O(6B)-N(4)	1.229(5)
O(7B)-N(4)	1.233(5)
O(8)-C(30)	1.3479(19)
O(9)-N(5)	1.224(2)
O(10)-N(5)	1.231(2)
N(3)-C(21)	1.459(2)
N(4)-C(27)	1.455(2)
N(5)-C(33)	1.462(2)
C(1)-C(2)	1.393(2)
C(1)-C(10)	1.490(2)
C(2)-C(3)	1.377(2)
C(2)-H(2)	0.9500
C(3)-C(4)	1.428(2)
C(3)-C(11)	1.501(2)
C(4)-C(5)	1.399(2)
C(5)-C(6)	1.404(2)
C(5)-C(14)	1.508(2)
C(6)-C(7)	1.422(2)
C(7)-C(8)	1.388(2)
C(7)-C(12)	1.497(2)
C(8)-C(9)	1.387(2)
C(8)-H(8)	0.9500
C(9)-C(13)	1.497(2)
C(10)-H(10A)	0.9800
C(10)-H(10B)	0.9800
C(10)-H(10C)	0.9800
C(11)-H(11A)	0.9800
C(11)-H(11B)	0.9800
C(11)-H(11C)	0.9800
C(12)-H(12A)	0.9800
C(12)-H(12B)	0.9800
C(12)-H(12C)	0.9800
C(13)-H(13A)	0.9800
C(13)-H(13B)	0.9800

---

C(13)-H(13C)	0.9800
C(14)-C(15)	1.537(2)
C(14)-H(14A)	0.9900
C(14)-H(14B)	0.9900
C(15)-C(16)	1.525(2)
C(15)-H(15A)	0.9900
C(15)-H(15B)	0.9900
C(16)-C(17)	1.496(2)
C(16)-H(16A)	0.9900
C(16)-H(16B)	0.9900
C(18)-C(19)	1.378(2)
C(18)-C(23)	1.380(3)
C(19)-C(20)	1.376(3)
C(19)-H(19)	0.9500
C(20)-C(21)	1.375(3)
C(20)-H(20)	0.9500
C(21)-C(22)	1.373(2)
C(22)-C(23)	1.386(2)
C(22)-H(22)	0.9500
C(23)-H(23)	0.9500
C(24)-C(29)	1.396(2)
C(24)-C(25)	1.400(2)
C(25)-C(26)	1.380(2)
C(25)-H(25)	0.9500
C(26)-C(27)	1.385(2)
C(26)-H(26)	0.9500
C(27)-C(28)	1.386(2)
C(28)-C(29)	1.379(3)
C(28)-H(28)	0.9500
C(29)-H(29)	0.9500
C(30)-C(31)	1.397(2)
C(30)-C(35)	1.402(2)
C(31)-C(32)	1.380(2)
C(31)-H(31)	0.9500
C(32)-C(33)	1.377(2)
C(32)-H(32)	0.9500
C(33)-C(34)	1.388(2)

---

C(34)-C(35)	1.382(2)
C(34)-H(34)	0.9500
C(35)-H(35)	0.9500
O(8)-B(1)-O(5)	100.92(12)
O(8)-B(1)-N(2)	113.65(14)
O(5)-B(1)-N(2)	111.35(13)
O(8)-B(1)-N(1)	112.27(13)
O(5)-B(1)-N(1)	112.43(13)
N(2)-B(1)-N(1)	106.36(12)
C(1)-N(1)-C(4)	108.40(13)
C(1)-N(1)-B(1)	125.58(13)
C(4)-N(1)-B(1)	125.98(13)
C(9)-N(2)-C(6)	108.59(13)
C(9)-N(2)-B(1)	125.13(13)
C(6)-N(2)-B(1)	126.19(13)
C(17)-O(2)-C(18)	120.08(13)
C(24)-O(5)-B(1)	125.60(12)
C(30)-O(8)-B(1)	126.63(12)
O(3)-N(3)-O(4)	123.20(16)
O(3)-N(3)-C(21)	118.83(15)
O(4)-N(3)-C(21)	117.97(16)
O(7A)-N(4)-O(6A)	122.1(17)
O(6B)-N(4)-O(7B)	123.7(12)
O(7A)-N(4)-C(27)	117.5(13)
O(6A)-N(4)-C(27)	120.1(12)
O(6B)-N(4)-C(27)	117.5(8)
O(7B)-N(4)-C(27)	118.8(8)
O(9)-N(5)-O(10)	123.30(16)
O(9)-N(5)-C(33)	118.40(16)
O(10)-N(5)-C(33)	118.30(16)
N(1)-C(1)-C(2)	108.96(14)
N(1)-C(1)-C(10)	122.85(15)
C(2)-C(1)-C(10)	128.17(15)
C(3)-C(2)-C(1)	109.15(15)
C(3)-C(2)-H(2)	125.4
C(1)-C(2)-H(2)	125.4

---

---

C(2)-C(3)-C(4)	106.45(14)
C(2)-C(3)-C(11)	123.69(15)
C(4)-C(3)-C(11)	129.86(15)
C(5)-C(4)-N(1)	120.17(14)
C(5)-C(4)-C(3)	132.77(14)
N(1)-C(4)-C(3)	107.04(13)
C(4)-C(5)-C(6)	120.66(14)
C(4)-C(5)-C(14)	120.38(14)
C(6)-C(5)-C(14)	118.96(14)
N(2)-C(6)-C(5)	120.46(14)
N(2)-C(6)-C(7)	107.41(13)
C(5)-C(6)-C(7)	132.13(14)
C(8)-C(7)-C(6)	106.04(14)
C(8)-C(7)-C(12)	123.19(16)
C(6)-C(7)-C(12)	130.76(15)
C(9)-C(8)-C(7)	109.25(15)
C(9)-C(8)-H(8)	125.4
C(7)-C(8)-H(8)	125.4
N(2)-C(9)-C(8)	108.71(14)
N(2)-C(9)-C(13)	123.46(15)
C(8)-C(9)-C(13)	127.83(16)
C(1)-C(10)-H(10A)	109.5
C(1)-C(10)-H(10B)	109.5
H(10A)-C(10)-H(10B)	109.5
C(1)-C(10)-H(10C)	109.5
H(10A)-C(10)-H(10C)	109.5
H(10B)-C(10)-H(10C)	109.5
C(3)-C(11)-H(11A)	109.5
C(3)-C(11)-H(11B)	109.5
H(11A)-C(11)-H(11B)	109.5
C(3)-C(11)-H(11C)	109.5
H(11A)-C(11)-H(11C)	109.5
H(11B)-C(11)-H(11C)	109.5
C(7)-C(12)-H(12A)	109.5
C(7)-C(12)-H(12B)	109.5
H(12A)-C(12)-H(12B)	109.5
C(7)-C(12)-H(12C)	109.5

---

H(12A)-C(12)-H(12C)	109.5
H(12B)-C(12)-H(12C)	109.5
C(9)-C(13)-H(13A)	109.5
C(9)-C(13)-H(13B)	109.5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109.5
C(9)-C(13)-H(13C)	109.5
H(13A)-C(13)-H(13C)	109.5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109.5
C(5)-C(14)-C(15)	112.50(13)
C(5)-C(14)-H(14A)	109.1
C(15)-C(14)-H(14A)	109.1
C(5)-C(14)-H(14B)	109.1
C(15)-C(14)-H(14B)	109.1
H(14A)-C(14)-H(14B)	107.8
C(16)-C(15)-C(14)	112.06(14)
C(16)-C(15)-H(15A)	109.2
C(14)-C(15)-H(15A)	109.2
C(16)-C(15)-H(15B)	109.2
C(14)-C(15)-H(15B)	109.2
H(15A)-C(15)-H(15B)	107.9
C(17)-C(16)-C(15)	114.13(14)
C(17)-C(16)-H(16A)	108.7
C(15)-C(16)-H(16A)	108.7
C(17)-C(16)-H(16B)	108.7
C(15)-C(16)-H(16B)	108.7
H(16A)-C(16)-H(16B)	107.6
O(1)-C(17)-O(2)	124.02(16)
O(1)-C(17)-C(16)	127.13(16)
O(2)-C(17)-C(16)	108.83(14)
C(19)-C(18)-C(23)	121.82(16)
C(19)-C(18)-O(2)	116.28(16)
C(23)-C(18)-O(2)	121.69(15)
C(18)-C(19)-C(20)	119.25(17)
C(18)-C(19)-H(19)	120.4
C(20)-C(19)-H(19)	120.4
C(19)-C(20)-C(21)	118.95(17)
C(19)-C(20)-H(20)	120.5

---

---

C(21)-C(20)-H(20)	120.5
C(22)-C(21)-C(20)	122.14(16)
C(22)-C(21)-N(3)	118.51(16)
C(20)-C(21)-N(3)	119.34(16)
C(21)-C(22)-C(23)	119.08(17)
C(21)-C(22)-H(22)	120.5
C(23)-C(22)-H(22)	120.5
C(18)-C(23)-C(22)	118.66(16)
C(18)-C(23)-H(23)	120.7
C(22)-C(23)-H(23)	120.7
O(5)-C(24)-C(29)	116.07(14)
O(5)-C(24)-C(25)	125.04(14)
C(29)-C(24)-C(25)	118.88(15)
C(26)-C(25)-C(24)	120.22(15)
C(26)-C(25)-H(25)	119.9
C(24)-C(25)-H(25)	119.9
C(25)-C(26)-C(27)	119.39(15)
C(25)-C(26)-H(26)	120.3
C(27)-C(26)-H(26)	120.3
C(26)-C(27)-C(28)	121.66(16)
C(26)-C(27)-N(4)	119.15(15)
C(28)-C(27)-N(4)	119.17(15)
C(29)-C(28)-C(27)	118.42(16)
C(29)-C(28)-H(28)	120.8
C(27)-C(28)-H(28)	120.8
C(28)-C(29)-C(24)	121.34(15)
C(28)-C(29)-H(29)	119.3
C(24)-C(29)-H(29)	119.3
O(8)-C(30)-C(31)	124.68(14)
O(8)-C(30)-C(35)	116.29(14)
C(31)-C(30)-C(35)	119.02(15)
C(32)-C(31)-C(30)	120.25(15)
C(32)-C(31)-H(31)	119.9
C(30)-C(31)-H(31)	119.9
C(33)-C(32)-C(31)	119.72(15)
C(33)-C(32)-H(32)	120.1
C(31)-C(32)-H(32)	120.1

---

---

C(32)-C(33)-C(34)	121.50(15)
C(32)-C(33)-N(5)	119.04(15)
C(34)-C(33)-N(5)	119.46(16)
C(35)-C(34)-C(33)	118.72(16)
C(35)-C(34)-H(34)	120.6
C(33)-C(34)-H(34)	120.6
C(34)-C(35)-C(30)	120.76(15)
C(34)-C(35)-H(35)	119.6
C(30)-C(35)-H(35)	119.6

---

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

*Tabelle 30: Anisotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) for 29. The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2\rho^2[h^2 a^* U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$ .*

---

	U <sup>11</sup>	U <sup>22</sup>	U <sup>33</sup>	U <sup>23</sup>	U <sup>13</sup>	U <sup>12</sup>
B(1)	23(1)	25(1)	27(1)	0(1)	11(1)	1(1)
N(1)	22(1)	24(1)	27(1)	0(1)	10(1)	-1(1)
N(2)	24(1)	25(1)	25(1)	-1(1)	10(1)	3(1)
O(1)	63(1)	32(1)	53(1)	-6(1)	38(1)	-9(1)
O(2)	39(1)	29(1)	39(1)	3(1)	22(1)	1(1)
O(3)	50(1)	71(1)	45(1)	-14(1)	21(1)	-2(1)
O(4)	32(1)	62(1)	48(1)	8(1)	19(1)	9(1)
O(5)	23(1)	32(1)	28(1)	4(1)	11(1)	4(1)
O(6A)	46(5)	63(8)	39(4)	17(4)	20(4)	15(4)
O(7A)	22(3)	114(10)	64(6)	39(7)	10(3)	9(5)
O(6B)	43(2)	52(5)	27(2)	2(2)	1(2)	2(2)
O(7B)	40(3)	89(6)	55(3)	27(4)	24(4)	33(3)
O(8)	24(1)	29(1)	27(1)	2(1)	10(1)	2(1)
O(9)	47(1)	63(1)	33(1)	2(1)	0(1)	13(1)
O(10)	28(1)	54(1)	64(1)	1(1)	10(1)	4(1)
N(3)	36(1)	47(1)	35(1)	7(1)	16(1)	5(1)
N(4)	28(1)	61(1)	36(1)	10(1)	8(1)	5(1)
N(5)	34(1)	37(1)	36(1)	-9(1)	2(1)	6(1)
C(1)	25(1)	25(1)	33(1)	0(1)	9(1)	-2(1)
C(2)	32(1)	24(1)	34(1)	-5(1)	10(1)	-2(1)
C(3)	27(1)	26(1)	28(1)	0(1)	8(1)	4(1)

---

---

C(4)	23(1)	25(1)	24(1)	2(1)	10(1)	3(1)
C(5)	20(1)	24(1)	25(1)	3(1)	6(1)	3(1)
C(6)	21(1)	25(1)	26(1)	2(1)	7(1)	1(1)
C(7)	26(1)	26(1)	30(1)	1(1)	6(1)	1(1)
C(8)	35(1)	24(1)	35(1)	-5(1)	7(1)	0(1)
C(9)	30(1)	27(1)	29(1)	-2(1)	8(1)	5(1)
C(10)	34(1)	32(1)	44(1)	-3(1)	19(1)	-9(1)
C(11)	45(1)	29(1)	33(1)	-5(1)	18(1)	-1(1)
C(12)	37(1)	30(1)	39(1)	-1(1)	11(1)	-7(1)
C(13)	41(1)	38(1)	35(1)	-7(1)	17(1)	1(1)
C(14)	24(1)	26(1)	28(1)	2(1)	11(1)	1(1)
C(15)	28(1)	29(1)	29(1)	4(1)	12(1)	4(1)
C(16)	40(1)	28(1)	33(1)	5(1)	17(1)	4(1)
C(17)	36(1)	29(1)	31(1)	6(1)	16(1)	2(1)
C(18)	33(1)	27(1)	30(1)	8(1)	16(1)	3(1)
C(19)	35(1)	40(1)	32(1)	2(1)	11(1)	-6(1)
C(20)	26(1)	48(1)	37(1)	7(1)	12(1)	-2(1)
C(21)	33(1)	37(1)	30(1)	10(1)	15(1)	4(1)
C(22)	32(1)	39(1)	28(1)	6(1)	10(1)	1(1)
C(23)	28(1)	39(1)	32(1)	8(1)	10(1)	3(1)
C(24)	23(1)	28(1)	26(1)	-1(1)	8(1)	-1(1)
C(25)	26(1)	30(1)	29(1)	-3(1)	12(1)	0(1)
C(26)	29(1)	32(1)	26(1)	-1(1)	10(1)	-2(1)
C(27)	23(1)	40(1)	30(1)	3(1)	5(1)	3(1)
C(28)	24(1)	60(1)	36(1)	4(1)	14(1)	9(1)
C(29)	28(1)	54(1)	27(1)	6(1)	13(1)	7(1)
C(30)	24(1)	21(1)	27(1)	-5(1)	8(1)	1(1)
C(31)	30(1)	26(1)	28(1)	0(1)	10(1)	2(1)
C(32)	27(1)	27(1)	34(1)	-5(1)	12(1)	0(1)
C(33)	28(1)	25(1)	32(1)	-7(1)	3(1)	4(1)
C(34)	37(1)	30(1)	26(1)	-3(1)	8(1)	4(1)
C(35)	31(1)	29(1)	28(1)	-4(1)	13(1)	0(1)

---

