



(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2017 122 275.8**
(22) Anmeldetag: **26.09.2017**
(43) Offenlegungstag: **28.03.2019**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **11.03.2021**

(51) Int Cl.: **C07D 495/04 (2006.01)**
C09K 11/06 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
Universität Potsdam, 14469 Potsdam, DE

(72) Erfinder:
**Wessig, Pablo, Dr., 13353 Berlin, DE; Freyse,
Daniel, 12359 Berlin, DE**

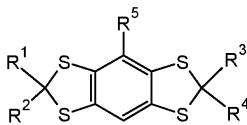
(74) Vertreter:
**Gulde & Partner Patent- und
Rechtsanwaltskanzlei mbB, 10179 Berlin, DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:
siehe Folgeseiten

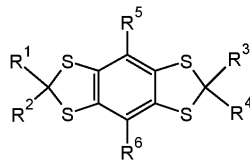
(54) Bezeichnung: **Fluoreszenzfarbstoffe basierend auf Benzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)**

(57) Hauptanspruch: Fluoreszenzfarbstoffe gemäß der Verbindungen der allgemeinen Formeln A oder B

R⁸ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, ausgenommen eine Verbindung der Formel C:

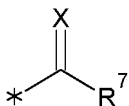


A

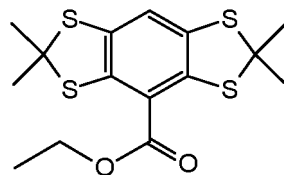


B

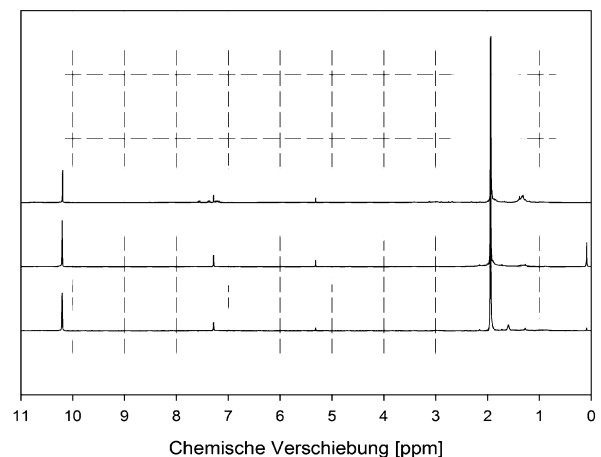
mit R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, wobei die Reste R¹ und R² und/oder die Reste R³ und R⁴ verbrückt substituiertes oder unsubstituiertes C₃-C₁₀ Cycloalkyl bilden können; R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Nitril und



mit X = Q, S oder NR⁸;
R⁷ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryloxy; und



(C)



(56) Ermittelter Stand der Technik:

US	5 530 140	A
US	5 728 370	A
WO	2009/ 022 738	A1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft neuartige Fluoreszenzfarbstoffe mit einer auf Benzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) beruhenden Grundstruktur.

Technologischer Hintergrund

[0002] Fluoreszenz ist die spontane Emission von Licht kurz nach der Anregung eines Materials, wobei das emittierte Licht in der Regel energieärmer als das vorher absorbierte Licht ist. Fluoreszente Stoffe, die für Färbungen verwendet werden, werden Fluorochrome oder Fluoreszenzfarbstoffe genannt. Diese Fluoreszenzfarbstoffe finden vielfältige Anwendung in der Biochemie, Biologie und Medizin, beispielsweise in Diagnostik-Kits, in der Mikroskopie oder beim Wirkstoffscreening. Bekannte und kommerziell verwendete Fluoreszenzfarbstoffe weisen in der Regel aromatische Strukturen auf. Die Fluoreszenzfarbstoffe können an weitere Strukturen, wie Proteine, Nukleinsäuren oder andere chemische oder biologische Entitäten kovalent gekoppelt werden. Solche Verbindungen werden z. B. dann in diagnostischen Anwendungen eingesetzt.

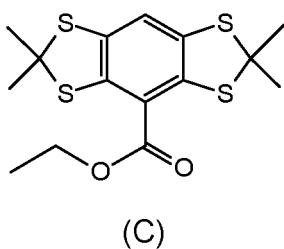
[0003] Fluoreszenzfarbstoffe werden durch eine Reihe von Parametern charakterisiert, die dem Anwender die Auswahl eines geeigneten Farbstoffs abhängig von dem gewünschten Verwendungszweck erlauben. Hier sind vor allem zu nennen die Anregungswellenlänge λ_{exc} (oder λ_{Abs}), welche dem Maximum der Absorptionsbande entspricht, die Emissionswellenlänge λ_{em} , welche dem Maximum der Emissionsbande entspricht, die Stokes-Verschiebung (Stokes-Shift) $\Delta\lambda$, welche der Differenz aus Emissionswellenlänge λ_{em} und Anregungswellenlänge λ_{exc} entspricht, der Extinktionskoeffizient ϵ , welcher den Anteil der bei der Anregungswellenlänge λ_{exc} absorbierten Strahlung widerspiegelt, die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_{F} , welche den Quotienten aus der Anzahl emittierter zu absorbierten Photonen entspricht, und die Fluoreszenzlebensdauer τ_{F} , welche der mittleren Zeit entspricht, in der das Molekül in seinem angeregtem Zustand verharrt, ehe es durch die Emission eines Lichtquants in seinen Grundzustand übergeht.

[0004] Wünschenswert, insbesondere in Hinblick auf biologische Anwendungen, sind eine große Anregungswellenlänge λ_{exc} , um mit der Anregungsstrahlung möglichst tief in biologische Proben eindringen zu können, ein großer Extinktionskoeffizient ϵ , damit möglichst viel des eingestrahlten Lichts absorbiert wird, eine große Stokes-Verschiebung $\Delta\lambda$, um möglichst geringe Wechselwirkungen zwischen der Anregungs- und der Emissionsstrahlung zu beobachten, eine lange Fluoreszenzlebensdauer τ_{F} , um die kurzlebige natürliche Hintergrundfluoreszenz biologischer Gewebe ausblenden zu können, und schließlich eine große Fluoreszenzquantenausbeute Φ_{F} , um ein möglichst hohes Signal-Rausch-Verhältnis zu erzielen. Die meisten bisher bekannten Fluoreszenzfarbstoffe weisen bei bestimmten Parametern Nachteile auf, so dass stets ein Bedarf an neuen Fluoreszenzfarbstoffen besteht.

[0005] Eine Gruppe von Fluoreszenzfarbstoffen leitet sich von Xanthen ab, beispielsweise Fluorescein, Calcein, Eosin oder Merbromin. Zu den Xanthen-basierten Farbstoffen zählen auch die Rhodamine, wie Rhodamin B, Rhodamin 6G, Rhodamin 123 und Tetramethylrhodaminmethylester (TMRM). Auf einem verwandten Grundgerüst, nämlich Benzophenoxazin, basieren Farbstoffe, wie Nilblau oder Nilrot. Daneben sind Cumarin-farbstoffe bekannt, wie das Cumarin selbst oder Umbelliferon; Indolfarbstoffe, beispielsweise 4',6-Diamidin-2-phenylindol; Phenanthridin-Farbstoffe, wie Ethidiumbromid oder Propidiumiodid; Benzofuran-Farbstoffe, wie Fura-2 oder die Fura-Farbstoffe; und Benzothiazol-Farbstoffe, wie Luciferin. Auf verschiedenen anderen heteroaromatischen Grundgerüsten basieren Xylenorange, Berberin, Epiocconon oder Coelanterazin. Erwähnenswert sind ferner die Cyanine (Polymethin-Farbstoffe), deren prominenteste Vertreter Indocyaningrün ist.

[0006] EP 2 399 913 A1 beschreibt einen Fluoreszenzfarbstoff auf Basis eines 1,2,4,5-Tetrahydroxybenzolderivats mit langer Fluoreszenzlebensdauer und großer Stokes-Verschiebung sowie die Verwendung dieser Verbindung als Fluoreszenzfarbstoff.

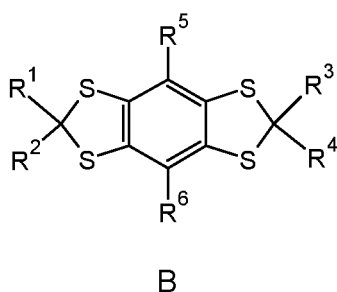
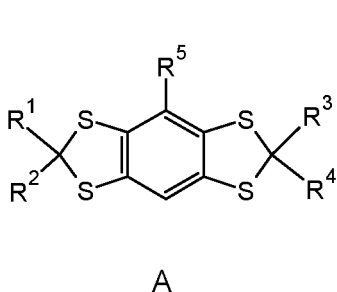
[0007] US 5,530,140 und US 5,728,370 offenbaren eine Verbindung der Formel C als Zwischenprodukt der Synthese freier Radikale, die als Kontrastmittel in NMR-Untersuchungen Verwendung finden sollen:



[0008] Es besteht ein anhaltender Bedarf nach neuen Fluoreszenzfarbstoffen. Insbesondere sollten die Farbstoffe höhere Anregungs- und Emissionswellenlängen aufweisen.

Zusammenfassung der Erfindung

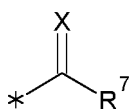
[0009] Es wird eine neue Gruppe von Fluoreszenzfarbstoffen bereitgestellt, deren spektrale Eigenschaften insbesondere den oben genannten Erfordernissen in Hinblick auf biologische Anwendungen genügen. Erfindungsgemäße Fluoreszenzfarbstoffe umfassen Verbindungen der allgemeinen Formeln A oder B



mit

R^1 , R^2 , R^3 und R^4 unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, wobei die Reste R^1 und R^2 und/oder die Reste R^3 und R^4 verbrückt substituiertes oder unsubstituiertes C_3 - C_{10} Cycloalkyl bilden können;

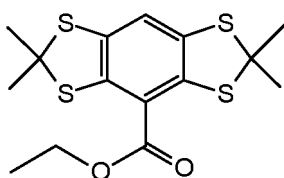
R^5 und R^6 unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Nitril und



mit $X = O, S$ oder NR^8 ;

R^7 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryloxy; und

[0010] R^8 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, ausgenommen eine Verbindung der Formel C:



(C)

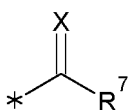
[0011] Die neuartigen Fluoreszenzfarbstoffe weisen eine auf Benzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) beruhende Grundstruktur auf, die insgesamt vier Schwefelatome enthält (im Folgenden kurz S⁴-DBD). Die neuartige Klasse von Fluoreszenzfarbstoffen zeigt unter anderem eine bessere hydrolytische Stabilität, höhere Anregungs- und Emissionswellenlängen, größere Stokes-Shifts sowie eine bessere Zugänglichkeit im Vergleich zu den bereits bekannten [1,3]-Dioxolo[4.5-f]benzodioxol-Fluoreszenzfarbstoffen (kurz DBD). Hinzu kommen eine hohe Bleichstabilität sowie Fähigkeit zur 2-Photonenabsorption. Die Fähigkeit zur 2-Photonenabsorption ermöglicht ein tieferes Eindringen in Gewebeschichten, was für biologische Anwendungen äußerst vorteilhaft ist. Da die 2-Photonenabsorption sehr selten bei Farbstoffen auftritt, ist dies ein weiterer großer Vorteil der hier vorliegenden S⁴-DBD-Farbstoffe. Schon aufgrund dieser Eigenschaften sind die erfindungsgemäßen S⁴-DBD-Farbstoffe eine äußerst potente Weiterentwicklung der DBD-Farbstoffe. Potentielle Anwendungsbereiche umfassen beispielsweise Fluoreszenzsonden, Assays, Mikroskopie- und Diagnostik-Kits. In den Lebenswissenschaften und der Medizin haben optische Methoden eine lange Tradition. Dazu gehören unter anderem die Fluoreszenzdoskopskopie sowie die Fluoreszenzmikroskopie, in der die neuartigen Farbstoffe eine Anwendung finden können.

[0012] Insbesondere für biologische Anwendungen ist es wünschenswert, Farbstoffe mit einer großen Anregungs- und Emissionswellenlänge zur Verfügung zu haben. Die erfindungsgemäßen Farbstoffe besitzen solche Eigenschaften.

[0013] Besonders bevorzugt sind Fluoreszenzfarbstoffe, bei denen R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt für (i) C₁-C₂₀ Alkyl steht oder (ii) die Reste R¹ und R² und die Reste R³ und R⁴ verbrückt sind und für C₃-C₁₀ Cycloalkyl stehen. Insbesondere steht R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt für C₁-C₅ Alkyl.

[0014] Die Reste R¹ bis R⁴ sind vorzugsweise gleich (identisch) gewählt, insbesondere in Kombination mit vorgenannter Ausführungsform.

[0015] Weiterhin ist bevorzugt, wenn R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander ausgewählt ist aus der Gruppe: Nitril und

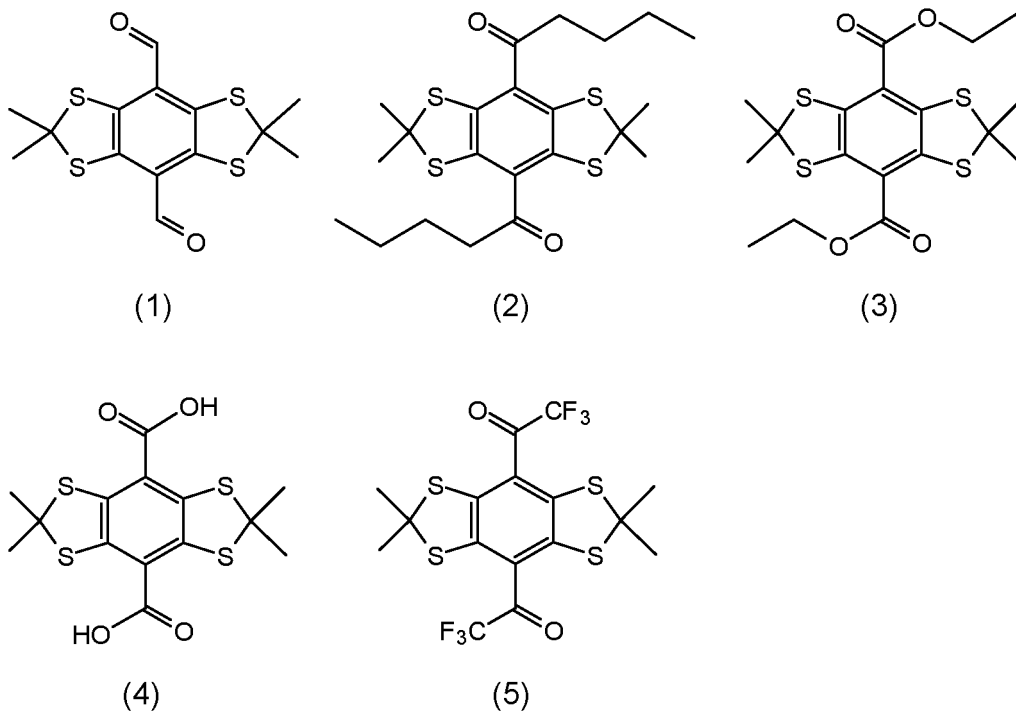


mit X = O; und

R⁷ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryloxy. Insbesondere ist R⁷ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₆ Alkyl und substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₆ Alkoxy.

[0016] Die Reste R⁵ und R⁶ im Fluoreszenzfarbstoff gemäß Formel B sind vorzugsweise gleich (identisch) gewählt, insbesondere in Kombination mit vorgenannter Ausführungsform.

[0017] Besonders bevorzugte Fluoreszenzfarbstoffe umfassen Verbindungen gemäß einer der Formeln (1) bis (5):



[0018] Schließlich wird ein Konjugat umfassend einen erfindungsgemäßen Fluoreszenzfarbstoff nach der vorstehenden Beschreibung und ein an den Fluoreszenzfarbstoff gekoppeltes Biomolekül oder eine an diesen gekoppelte Zelle offenbart. Typischerweise kann das Biomolekül ausgewählt sein aus der Gruppe der Proteine, Peptide, Nukleinsäuren, Lipide und Kohlenhydrate.

[0019] Weitere bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung lassen sich der nachfolgenden Beschreibung entnehmen.

Figurenliste

[0020] Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen und dazugehöriger Zeichnungen näher erläutert. Die Figuren zeigen:

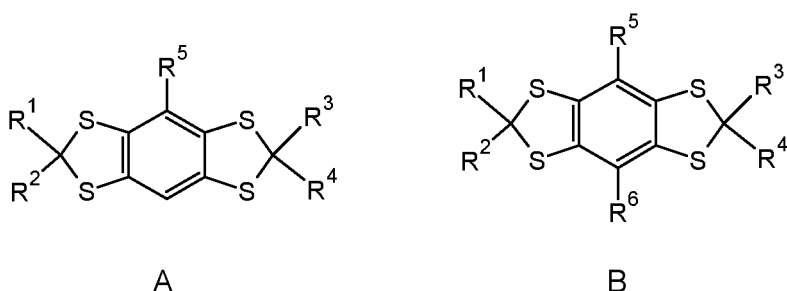
Fig. 1 NMR-Spektren einer Versuchsreihe zum Beleg der hydrolytischen Stabilität eines erfindungsgemäßen Farbstoffs;

Fig. 2 Versuchsergebnisse zum Beleg der Photostabilität verschiedener erfindungsgemäßer Farbstoffe; und

Fig. 3 Emissionsspektren zum Beleg der 2-Photonenanregung.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

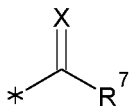
[0021] Die erfindungsgemäßen Fluoreszenzfarbstoffe umfassen Verbindungen der allgemeinen Formeln A oder B



mit

R^1 , R^2 , R^3 und R^4 unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, wobei die Reste R^1 und R^2 und/oder die Reste R^3 und R^4 verbrückt substituiertes oder unsubstituiertes C_3 - C_{10} Cycloalkyl bilden können;

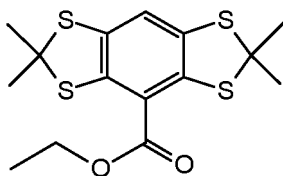
R^5 und R^6 unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Nitril und



mit $X = O$, S oder NR^8 ;

R^7 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryloxy; und

R^8 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C_1 - C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6 - C_{30} Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, ausgenommen eine Verbindung der Formel C:



(C)

[0022] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter C_1 - C_{20} Alkyl ein linearer oder verzweigter Alkylrest verstanden sein, der die allgemeine Formel C_nH_{2n+i} aufweist, wobei $n = 1$ bis 20 bedeutet. C_1 - C_5 Alkyl umfasst beispielsweise Methyl, Ethyl, n-Propyl, 1-Methylethyl, n-Butyl, 1-Methylpropyl, 2-Methylpropyl, 1,1-Dimethylethyl, n-Pentyl, 1-Methylbutyl, 2-Methylbutyl, 3-Methylbutyl, 1,1-Dimethylpropyl, 1,2-Dimethylpropyl, 2,2-Dimethylpropyl und 1-Ethylpropyl. Beispiele für Alkylreste mit $n \geq 6$ umfassen n-Hexan, n-Heptan, n-Octan, n-Nonan, n-Decan, 1-Methylpentyl, 1-Methylhexyl, 1-Methylheptyl, 1-Methyloctyl, 1-Methylnonyl, 1-Methyldecanyl, 1-Ethylbutyl, 1-Ethylpentyl, 1-Ethylhexyl, 1-Ethylheptyl, 1-Ethylloctyl, 1-Ethylnonyl, 1-Ethyldecanyl, 2-Methylpentyl, 2-Methylhexyl, 2-Methylheptyl, 2-Methyloctyl, 2-Methylnonyl, 2-Methyldecanyl, 2-Ethylpropyl, 2-Ethylbutyl, 2-Ethylpentyl, 2-Ethylhexyl, 2-Ethylheptyl, 2-Ethylloctyl, 2-Ethylnonyl, 2-Ethyldecanyl, 1,1-Dimethylbutyl, 1,1-Dimethylpentyl, 1,1-Dimethylhexyl, 1,1-Dimethylheptyl, 1,1-Dimethyloctyl, 1,1-Dimethylnonyl, 1,1-Dimethyldecanyl, 1,2-Dimethylbutyl, 1,2-Dimethylpentyl, 1,2-Dimethylhexyl, 1,2-Dimethylheptyl, 1,2-Dimethyloctyl, 1,2-Dimethylnonyl, 1,2-Dimethyldecanyl, 2-Ethyl-1-methylbutyl, 2-Ethyl-1-methylpentyl, 2-Ethyl-1-methylhexyl, 2-Ethyl-1-methylheptyl, 2-Ethyl-1-methyloctyl, 2-Ethyl-1-methylnonyl, 2-Ethyl-1-methyldecanyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1-Ethyl-2-methylbutyl, 1-Ethyl-2-methylpentyl, 1-Ethyl-2-methylhexyl, 1-Ethyl-2-methylheptyl, 1-Ethyl-2-methyloctyl, 1-Ethyl-2-methylnonyl und 1-Ethyl-2-methyldecanyl.

[0023] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter C_3 - C_{10} Cycloalkyl ein monocyclischer Cycloalkylrest mit 3 bis 10 Kohlenstoffatomen verstanden sein. Beispiele umfassen Cycloalkyl Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl. Die Cycloalkylreste können ihrerseits einfach oder mehrfach mit C_1 - C_5 Alkylresten der oben wiedergegebenen Bedeutung substituiert sein. Beispiele für derartig substituierte Cycloalkylreste umfassen 1-Methyl-1-Cyclopropyl, 1-Methyl-1-Cyclobutyl, 1-Methyl-1-Cyclopentyl, 1-Methyl-1-Cyclohexyl, 1-Methyl-1-Cycloheptyl, 2-Methyl-1-Cyclopropyl, 2-Methyl-1-Cyclobutyl, 2-Methyl-1-Cyclopentyl, 2-Methyl-1-Cyclohexyl, 2-Methyl-1-Cycloheptyl, 3-Methyl-1-Cyclobutyl, 3-Methyl-1-Cyclopentyl, 3-Methyl-1-Cyclohexyl, 3-Methyl-1-Cycloheptyl, 4-Methyl-1-Cyclohexyl, 4-Methyl-1-Cycloheptyl, 1,2-Dimethyl-1-Cyclopropyl, 2,2-Dimethyl-1-Cyclopropyl, 2,3-Dimethyl-1-Cyclopropyl, 1,2-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 1,3-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 2,2-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 2,3-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 2,4-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 3,3-Dimethyl-1-Cyclobutyl, 1,2-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 1,3-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 2,2-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 2,3-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 2,4-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 2,5-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 3,3-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 3,4-Dimethyl-1-Cyclopentyl, 1,2-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 1,3-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 1,4-Dimethyl-1-Cyclohe-

xyl, 1,5-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 1,6-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 2,2-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 2,3-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 2,4-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 2,5-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 2,6-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 3,3-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 3,4-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 3,5-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 3,6-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 4,4-Dimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,2-Trimethyl-1-Cyclopropyl, 1,2,3-Trimethyl-1-Cyclopropyl, 1,2,2-Trimethyl-1-Cyclobutyl, 1,3,3-Trimethyl-1-Cyclobutyl, 1,2,3-Trimethyl-1-Cyclobutyl, 2,2,3-Trimethyl-1-Cyclobutyl, 2,2,4-Trimethyl-1-Cyclobutyl, 1,2,2-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,3-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,3,3-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,3,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,3,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,2,3-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,2,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,2,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,3,3-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,3,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,3,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,3,3-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,4,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,4,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 2,5,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 3,3,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 3,3,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 3,4,5-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 3,4,4-Trimethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,2-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,3-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,3,3-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,3,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,3,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,3,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,4,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,3-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,3,3-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,3,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,3,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,3,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,4,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,4,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,4,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,5,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,5,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 2,6,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,3,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,3,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,3,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,4,4-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,4,5-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,4,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 3,5,6-Trimethyl-1-Cyclohexyl, 1,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclopropyl, 2,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclopropyl, 1,2,2,3-Tetramethyl-1-Cyclopropyl, 1,2,2,3-Tetramethyl-1-Cyclobutyl, 1,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclobutyl, 2,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclobutyl, 2,3,3,4-Tetramethyl-1-Cyclobutyl, 1,2,2,3-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,2,4-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,2,5-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,3,4-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,3,5-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 1,2,5,5-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 2,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclopentyl, 2,2,3,3-Tetramethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,4,4-Tetramethyl-1-Cyclohexyl, 2,2,5,5-Tetramethyl-1-Cyclohexyl, 3,3,4,4-Tetramethyl-1-Cyclohexyl, 3,3,5,5-Tetramethyl-1-Cyclohexyl, 1-Ethyl-1-Cyclopropyl, 1-Ethyl-1-Cyclobutyl, 1-Ethyl-1-Cyclopentyl, 1-Ethyl-1-Cyclohexyl, 1-Ethyl-1-Cycloheptyl, 2-Ethyl-1-Cyclopropyl, 2-Ethyl-1-Cyclobutyl, 2-Ethyl-1-Cyclopentyl, 2-Ethyl-1-Cyclohexyl, 2-Ethyl-1-Cycloheptyl, 3-Ethyl-1-Cyclobutyl, 3-Ethyl-1-Cyclopentyl, 3-Ethyl-1-Cyclohexyl, 3-Ethyl-1-Cycloheptyl, 4-Ethyl-1-Cyclohexyl und 4-Ethyl-1-Cycloheptyl.

[0024] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter C₆-C₆₀ Aryl ein aromatischer Rest mit 6 bis 60 Kohlenstoffatomen verstanden. Beispiele umfassen Phenyl, Pentalenyl, Indenyl, Naphthyl, Biphenyl, Fluorenyl, Phenanthrenyl, Pyrenyl, Perylenyl und Pentacenyl. Die Arylreste können ihrerseits einfach oder mehrfach mit C₁-C₅ Alkylresten der oben wiedergegebenen Bedeutung substituiert sein. Beispiele für derartig substituierte Arylreste umfassen Toly, Xylyl, Pseudocumyl und Mesityl.

[0025] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter C₁-C₂₀ Alkoxy eine funktionelle Gruppe verstanden, die auf einer mit einem Sauerstoffatom verbundenen linearen oder verzweigten Alkylgruppe der oben wiedergegebenen Bedeutung beruht. Beispiele umfassen Methoxy und Ethoxy.

[0026] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter C₆-C₃₀ Aryloxy eine funktionelle Gruppe verstanden, bei der ein Arylrest der oben wiedergegebenen Bedeutung über ein Sauerstoffatom gebunden ist. Ein Beispiel ist Phenoxy.

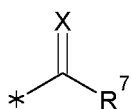
[0027] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird unter Arylalkyl eine funktionelle Gruppe verstanden, bei der ein Arylrest der oben wiedergegebenen Bedeutung über eine C₁-C₂₀ Alkylengruppe gebunden ist. Beispiele umfassen Benzyl und Phenethyl.

[0028] Der Ausdruck „substituiert“, wie er hierin insbesondere in Bezug auf Alkyl, Cycloalkyl, und Aryl verwendet wird, bezieht sich darauf, dass in diesen Gruppen ein, mehrere oder alle Wasserstoffatome durch Halogenatome, insbesondere Fluor, Chlor und Brom, ersetzt sind. Bei Alkyl und Cycloalkyl können ferner ein oder mehrere Methylengruppen durch Sauerstoff ersetzt sein, wobei jedoch nicht zwei Sauerstoffatome nebeneinander stehen dürfen. Beispielsweise führt die Substitution der zweiten und fünften Methylengruppen in Hep-tanyl durch Sauerstoff zu einem Rest der Formel -CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₃.

[0029] Besonders bevorzugt sind Fluoreszenzfarbstoffe, bei denen R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt für (i) C₁-C₂₀ Alkyl steht oder (ii) die Reste R¹ und R² und die Reste R³ und R⁴ verbrückt sind und für C₃-C₁₀ Cycloalkyl stehen. Insbesondere steht R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt für C₁-C₅ Alkyl.

[0030] Die Reste R¹ bis R⁴ sind vorzugsweise gleich (identisch) gewählt, insbesondere in Kombination mit vorgenannter Ausführungsform.

[0031] Weiterhin ist bevorzugt, wenn R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander ausgewählt ist aus der Gruppe: Nitril und



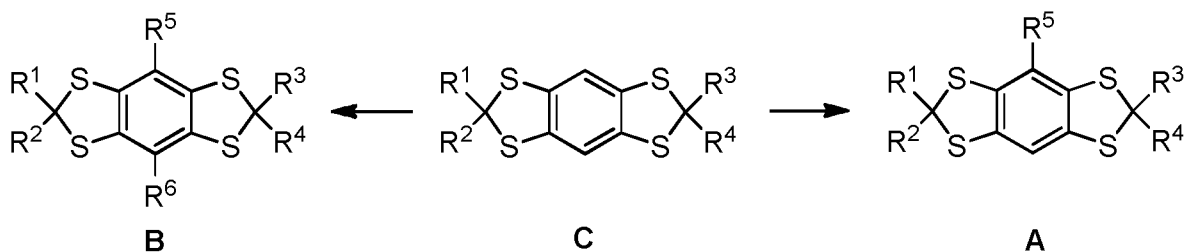
mit X = O; und

R⁷ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryloxy. Insbesondere ist R⁷ ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₆ Alkyl und substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₆ Alkoxy.

[0032] Die Reste R⁵ und R⁶ im Fluoreszenzfarbstoff gemäß Formel B sind vorzugsweise gleich (identisch) gewählt, insbesondere in Kombination mit vorgenannter Ausführungsform.

Allgemeine Synthesevorschrift

[0033] Die Verbindungen der allgemeinen Formeln A und B lassen sich prinzipiell gemäß dem nachfolgenden Syntheschema herstellen:

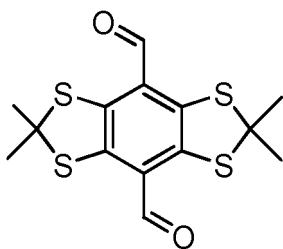


[0034] Die verbesserte Zugänglichkeit der S⁴-DBD-Farbstoffe im Vergleich zu den DBD-Farbstoffe ergibt sich aus der generell höheren Ausbeuten und der leichteren Zugänglichkeit des Ausgangsstoffs 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol (C).

[0035] Nachfolgend wird der synthetische Zugang zu ausgewählten S⁴-DBD-Fluoreszenzfarbstoffen der Formeln (1) bis (5) beschrieben.

Beispiel 1

2,2,6,6-Tetramethyl-2H,6H-benzo[1,2-d:4,5-d']bis[1,3]dithiol-4,8-dicarbaldehyd



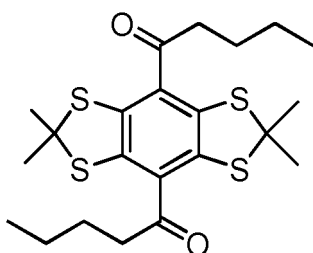
[0036] Zu einer eisgekühlten Suspension aus 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) (1 g, 3.49 mmol), N¹,N¹,N²,N²-tetramethylethan-1,2-diamin (1.16 ml, 7.68 mmol) und trockenem n-Hexan (15 ml) unter inerten Bedingungen wurde Tertbutyllithium-Lösung in Pentan (5.24 ml, 8.38 mmol) zugetropft. Die Mischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und nochmals auf ca. 0 °C gekühlt. N,N-Dimethylformamid (655 µl, 8.38

mmol) wurde zugetropft und die resultierende Suspension wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Wasser wurde zugeben und die wässrige Phase wurde 3 Mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Zur Reinigung wurde das Rohprodukt mit Petrolether für 30 Minuten aufgekocht und anschließend auf ca. 0°C gekühlt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Petrolether gewaschen. Nach dem Trocknen im Vakuum erhielt man 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)-4,8-dicarbaldehyd (661 mg, 55 %) als rotschwarzen Feststoff.

[0037] Smp.: $>240^\circ\text{C}$ (Zersetzung); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): 1.93 (s, 12 H), 10.19 (s, 2 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): 31.9, 65.6, 126.9, 141.8, 188.8; HRMS (EI): berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_4$ $[\text{M}]^+$: 341.9877, gefunden: 341.9882; IR (cm^{-1}): 3327, 2954, 2841, 1669, 1448, 1361, 1225, 1165, 1153, 856.

Beispiel 2

1,1'-(2,2,6,6-Tetramethyl-2H,6H-benzo[1,2-d:4,5-d']bis[1,3]dithiol-4,8-diyl)di(pentan-1-on)

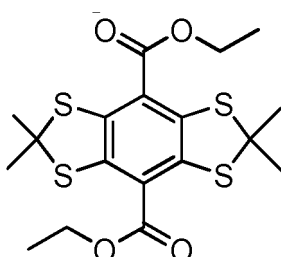


[0038] Zu einer eisgekühlten Suspension aus 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) (300 mg, 1.1 mmol), $\text{N}^1, \text{N}^1, \text{N}^2, \text{N}^2$ -tetramethylethan-1,2-diamin (316 μl , 2.1 mmol) und trockenem n-Hexan (15 ml) unter inerten Bedingungen wurde Tertbutyllithium-Lösung in Pentan (2.79 ml, 4.19 mmol) zugetropft. Die Mischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und auf etwa -20°C gekühlt. Trockenem CO_2 -Gas wurde 30 min eingeleitet, anschließend wurde noch 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Suspension wurde n-Butyllithium-Lösung in Pentan (7 ml, 10.47 mmol) getropft und für 14 h bei 45°C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser hinzugefügt und die wässrige Phase 3 Mal mit Dichlormethan extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO_4 und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, wurde säulenchromatographisch mit Kieselgel gereinigt (PE/EE;25:1). Man erhielt 1,1'-(2,2,6,6-tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)-4,8-diyl)bis(pentan-1-on) (124 mg, 26 %) als orangen Feststoff.

[0039] Smp.: $85-90^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 6 H), 1.40 (sext, $J = 7.4$ Hz, 4 H), 1.71 (quint, $J = 7.4$ Hz, 4 H), 1.85 (s, 1 H), 2.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 4 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): 14.3, 22.8, 27.0, 31.5, 42.3, 64.6, 131.6, 136.9, 203.0; HRMS (EI): berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{S}_4$ $[\text{M}]^+$: 454.1129, gefunden: 454.1115; IR (cm^{-1}): 2958, 1657, 1454, 1369, 1215, 1172, 1034, 991, 787, 708.

Beispiel 3

Diethyl-2,2,6,6-tetramethyl-2H,6H-benzo[1,2-d:4,5-d']bis[1,3]dithiol-4,8-dicarboxylat



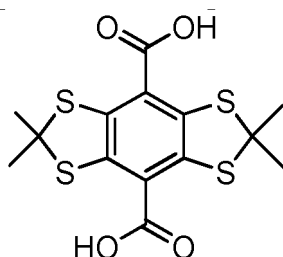
[0040] Zu einer eisgekühlten Suspension aus 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) (200 mg, 698 μmol), $\text{N}^1, \text{N}^1, \text{N}^2, \text{N}^2$ -tetramethylethan-1,2-diamin (421 μl , 2.79 mmol) und trockenem n-Hexan (6 ml) unter inerten Bedingungen wurde Tertbutyllithium-Lösung in Pentan (1.86 ml, 2.79 mmol) zugetropft. Die Mischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann auf -70°C gekühlt. Ethylchloroformiat (400 μl , 4.19 mmol) wurde zugetropft und die Mischung wurde über Nacht auf Raumtemperatur gebracht. Wasser wurde zugeben und die wässrige Phase wurde 3 mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wur-

den über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Kieselgel (PE/EE;20:1). Man erhielt Diethyl-2,2,6,6-tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)-4,8-dicarboxylat (189 mg, 63 %) als gelben Feststoff.

[0041] Smp.: 178-180 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , ppm): 1.46 (t, $J = 7.1$ Hz, 6 H), 1.81 (s, 12 H), 4.44 (q, $J = 7.1$ Hz, 4 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): 14.2, 31.1, 61.0, 62.5, 122.7, 140, 165.8; HRMS (EI) : berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{S}_4$ [M]⁺: 430.0401, gefunden: 430.0403; IR (cm^{-1}): 2975, 1693, 1449, 1343, 1241, 1218, 1095, 1013, 861, 784.

Beispiel 4

2,2,6,6-Tetramethyl-2H,6H-benzo[1,2-d:4,5-d']bis[1,3]dithiol-4,8-dicarbonsäure

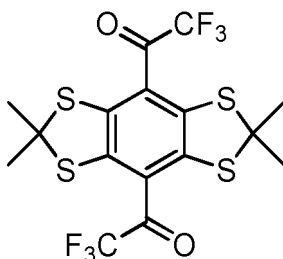


[0042] Zu einer eisgekühlten Suspension aus 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) (400 mg, 1.4 mmol), $\text{N}^1, \text{N}^1, \text{N}^2, \text{N}^2$ -tetramethylethan-1,2-diamin (464 μl , 3.1 mmol) und trockenem n-Hexan (15 ml) unter inerten Bedingungen wurde Tertbutyllithium-Lösung in Pentan (3.72 ml, 5.6 mmol) zugetropft. Die Mischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und auf etwa -70 °C gekühlt. Trockenem CO_2 -Gas wurde 30 min eingeleitet und die Suspension wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Wasser wurde zugeben und die wässrige Phase 3 Mal mit Dichlormethan gewaschen. Anschließend wurde die wässrige Phase angesäuert und der ausgefallene orange Feststoff mit Ethylacetat in Lösung gebracht. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt aus THF umkristallisiert und heiß filtriert. Man erhielt 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)-4,8-dicarbonsäure (221 mg, 42 %) als orangenen Feststoff.

[0043] Smp.: >250 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6 , ppm): 1.75 (s, 12 H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , ppm): 31.6, 61.4, 125.8, 139.7, 168.0; HRMS (EI): berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{S}_4$ [M]⁺: 373.9775, gefunden: 373.9784.

Beispiel 5

1,1'-(2,2,6,6-Tetramethyl-2H,6H-benzo[1,2-d:4,5-d']bis[1,3]dithiol-4,8-diyl)bis(trifluoroethan-1-on)

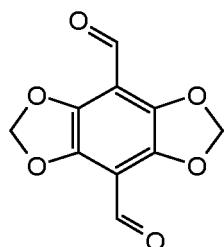


[0044] Zu einer eisgekühlten Suspension aus 2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol) (200 mg, 698 μmol), $\text{N}^1, \text{N}^1, \text{N}^2, \text{N}^2$ -tetramethylethan-1,2-diamin (211 μl , 1.40 mmol) und trockenem n-Hexan (10 ml) unter inerten Bedingungen wurde Tertbutyllithium-Lösung in Pentan (1.40 ml, 2.09 mmol) zugetropft. Die Mischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann auf 0 °C gekühlt. 2,2,2-Trifluoro-N-methoxy-N-methylacetamid (338 μl , 2.79 mmol) wurde zugetropft und die Mischung wurde über Nacht auf Raumtemperatur gebracht. Wasser und 1 M Salzsäure wurde zugeben und die wässrige Phase wurde 3 Mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Kieselgel (PE/EE;10:1→5:1). Man erhielt 1,1'-(2,2,6,6-Tetramethylbenzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dithiol)-4,8-diyl)bis(2,2,2-trifluoroethan-1-on) (73 mg, 22 %) als roten Feststoff.

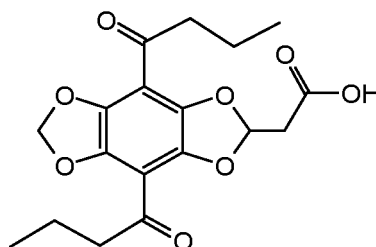
[0045] Smp.: 150-152 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, ppm): 1.92 (s, 12 H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, ppm): 30.3, 67.6, 113.4, 117.2, 125.4, 137.8, 184.1; HRMS (EI): berechnet für C₁₆H₁₂F₆O₂S₄ [M]⁺: 477.9624, gefunden: 477.9633; IR (cm⁻¹): 2940, 1704, 1455, 1368, 1218, 1157, 1054, 957, 833, 728.

Vergleichsbeispiele 6 - 9

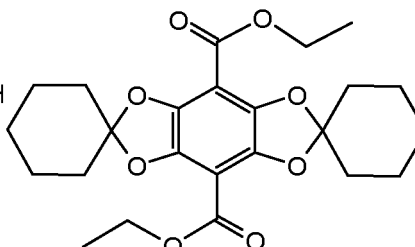
[0046] Die synthetisierten S⁴-DBD-Fluoreszenzfarbstoffe der Formeln (1) bis (5) zeigen verbesserte Fluoreszenzeigenschaften im Vergleich zur den folgenden strukturell verwandten Benzo[1,2-d:4,5-d']bis([1,3]dioxol)-Derivaten (DBD) der Formeln (6) bis (9):



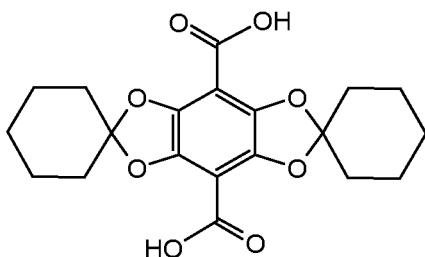
(6)



(7)



(8)



(9)

Optische Eigenschaften der Verbindungen

[0047] Die Absorptionsspektren und Emissionsspektren der Verbindungen der Formeln (1) bis (9) wurden in einem Fluoreszenzspektrometer gemessen. Aus dem jeweiligen Maximum der Absorptionsspektren und Emissionsspektren wurden die Anregungswellenlänge λ_{abs} beziehungsweise Emissionswellenlänge λ_{em} bestimmt sowie aus der Differenz dieser beiden der Stokes-Shift $\Delta\lambda$ berechnet.

[0048] Es wurde ferner die Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_F gegen geeignete Fluoreszenzstandards ermittelt sowie aus zeitabhängig gemessenen Abklingfunktionen der Fluoreszenz bei λ_{em} die Fluoreszenzlebensdauer τ_F bestimmt.

[0049] In der Tabelle 1 sind diese ermittelten Fluoreszenzeigenschaften aller Verbindungen zusammengestellt.

Tabelle 1: Optische Eigenschaften (Lösungsmittel: Acetonitril)

Fluorophor	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	$\Delta\lambda$ [nm]	τ_F [ns]	Φ_F
Formel (1)	520	643	123	3.3	
Formel (2)	409	595	186	<1	0.05
Formel (3)	422	537	115	<1	0.1
Formel (4)	379	503	124	<1	-
Formel (5)	450	725	275	<1	-
Formel (6)	477	610	133	17.7	0.32

Fluorophor	λ_{abs} [nm]	λ_{em} [nm]	$\Delta\lambda$ [nm]	T_F [ns]	Φ_F
Formel (7)	426	546	120	21.4	0.41
Formel (8)	385	495	110	12.1	0.56
Formel (9)	368	488	120	19.2	0.82

[0050] Die Vermessung der Verbindungen der Formeln (1) - (3) und (5) - (8) erfolgte in Acetonitril. Das Lösungsmittel für die Verbindung der Formel (4) war Wasser (pH > 4) und das Lösungsmittel für die Verbindung der Formel (9) war eine phosphatgepufferte Salzlösung.

[0051] Diese Ergebnisse belegen die Verschiebung der Anregungswellenlänge λ_{abs} und Emissionswellenlänge λ_{em} der S⁴-DBD-Fluoreszenzfarbstoffe der Formeln (1) bis (5) hin zu längeren Wellenlängen gegenüber den bekannten DBD-Fluoreszenzfarbstoffen der Formeln (6) bis (9).

[0052] Ein wichtiges Anwendungsfeld von Fluoreszenzfarbstoffen liegt in den Biowissenschaften, wo sie helfen, molekulare Zusammenhänge zellulärer Prozesse zu verstehen. Eine sehr wichtige Rolle spielen dabei bildgebende Verfahren, insbesondere an lebenden Zellen und Geweben. Hierbei ist allerdings die Eindringtiefe des Lichts limitierend, da Zellen noch eine Vielzahl anderer kurzwellig absorbierender oder streuender Komponenten enthalten. Je länger die Anregungs- und Emissionswellenlänge ist, umso tiefer kann das Licht in eine biologische Probe eindringen. Daher ist die Rotverschiebung bei den erfindungsgemäßen S⁴-DBD-Farbstoffen ein erheblicher Vorteil für solche Anwendungen.

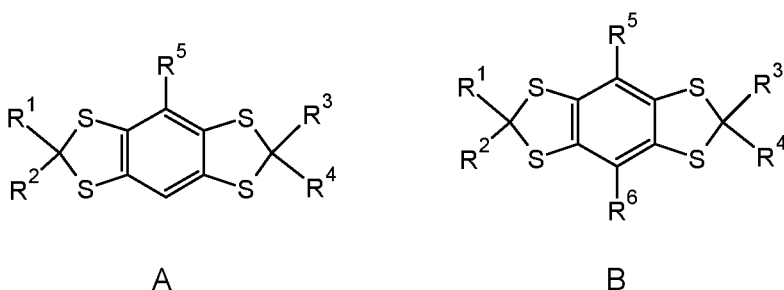
[0053] Die erfindungsgemäßen S⁴-DBD-Farbstoffe weisen eine verbesserte hydrolytische Stabilität auf. So wurde eine Messlösung des Farbstoffs aus Beispiel 1 in Dichlormethan/ 37%ige HCl (5:1) bei 40 °C für ein NMR-Experiment angesetzt. Die NMR-Spektren zu Beginn bzw. nach 2 und 7 Tagen zeigten keine signifikanten Veränderungen und belegen die außerordentliche hydrolytische Stabilität (**Fig. 1**: unteres Spektrum = unmittelbar nach Ansetzen der Probe; mittleres Spektrum = nach 48 h; oberes Spektrum = nach 160 h).

[0054] Die erfindungsgemäßen S⁴-DBD-Farbstoffe weisen ferner eine verbesserte Photostabilität auf. Hierzu wurden die verschiedenen S⁴-DBD-Farbstoffe der Beispiele 1 - 3 und 5 über mehrere Minuten mit sehr energiereichem Licht (500W Quecksilberdampf Lampe; Acetonitril) bestrahlt und der Abbau verfolgt. Es konnte gezeigt werden, dass nur ein sehr langsamer Abbau der Ausgangskonzentration erfolgt und zwar unabhängig von der Anwesenheit von Sauerstoff (**Fig. 2**: Quadrat = Farbstoff aus Beispiel 1; Dreieck mit Spitze nach rechts = Farbstoff aus Beispiel 3; Dreieck mit Spitze nach oben = Farbstoff aus Beispiel 2; Dreieck mit Spitze nach unten = Farbstoff aus Beispiel 5; Raute = Farbstoff aus Beispiel 1 unter O₂-freien Messbedingungen).

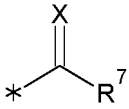
[0055] Der **Fig. 3** sind Emissionsspektren des Farbstoffs aus Beispiel 2 (rechtes Spektrum) und des Farbstoffs des Beispiels 3 (linkes Spektrum) nach 2-Photonenanregung bei 830 nm zu entnehmen.

Patentansprüche

1. Fluoreszenzfarbstoffe gemäß der Verbindungen der allgemeinen Formeln A oder B



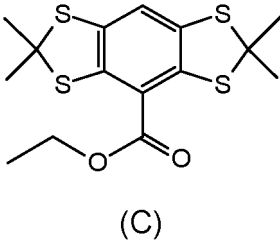
mit R¹, R², R³ und R⁴ unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C₁-C₂₀ Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C₆-C₃₀ Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, wobei die Reste R¹ und R² und/oder die Reste R³ und R⁴ verbrückt substituiertes oder unsubstituiertes C₃-C₁₀ Cycloalkyl bilden können; R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe: Nitril und



mit $X = Q, S$ oder NR^8 ;

R^7 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6-C_{30} Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_{20} Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C_6-C_{30} Aryloxy; und

R^8 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6-C_{30} Aryl und substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, ausgenommen eine Verbindung der Formel C:

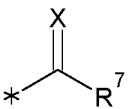


2. Fluoreszenzfarbstoffe nach Anspruch 1, wobei R^1, R^2, R^3 und R^4 unabhängig voneinander ausgewählt für (i) C_1-C_{20} Alkyl steht oder (ii) die Reste R^1 und R^2 und die Reste R^3 und R^4 verbrückt sind und für C_3-C_{10} Cycloalkyl stehen.

3. Fluoreszenzfarbstoffe nach Anspruch 2, wobei R^1, R^2, R^3 und R^4 unabhängig voneinander ausgewählt für C_1-C_5 Alkyl steht.

4. Fluoreszenzfarbstoffe nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Reste R^1 bis R^4 gleich gewählt sind.

5. Fluoreszenzfarbstoffe nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei R^5 und R^6 unabhängig voneinander ausgewählt ist aus der Gruppe: Nitril und



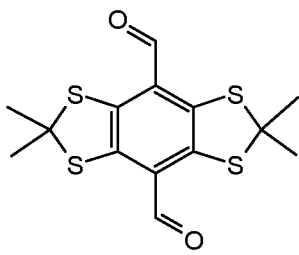
mit $X = O$; und

R^7 ausgewählt aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_{20} Alkyl, substituiertes oder unsubstituiertes C_6-C_{30} Aryl, substituiertes oder unsubstituiertes Alkylaryl, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_{20} Alkoxy und substituiertes oder unsubstituiertes C_6-C_{30} Aryloxy.

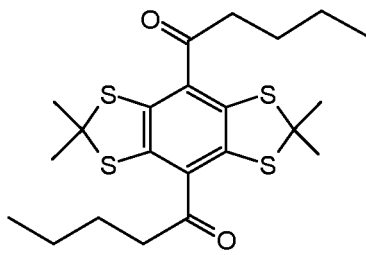
6. Fluoreszenzfarbstoffe nach Anspruch 5, wobei R^7 ausgewählt ist aus der Gruppe: Wasserstoff, Hydroxy, substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_6 Alkyl und substituiertes oder unsubstituiertes C_1-C_6 Alkoxy.

7. Fluoreszenzfarbstoffe nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Reste R^5 und R^6 im Fluoreszenzfarbstoff gemäß Formel B gleich gewählt sind.

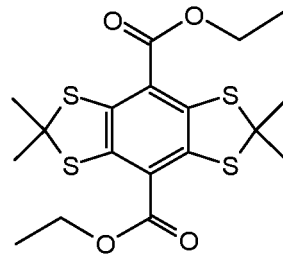
8. Fluoreszenzfarbstoffe nach Anspruch 1, wobei die Fluoreszenzfarbstoffe Verbindungen nach einer der Formeln (1) bis (5) sind:



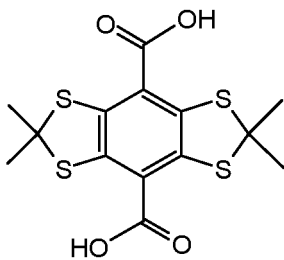
(1)



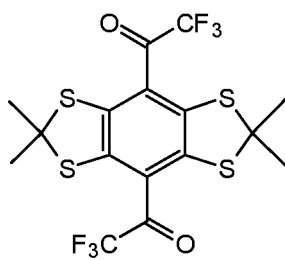
(2)



(3)



(4)



(5)

Es folgen 3 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

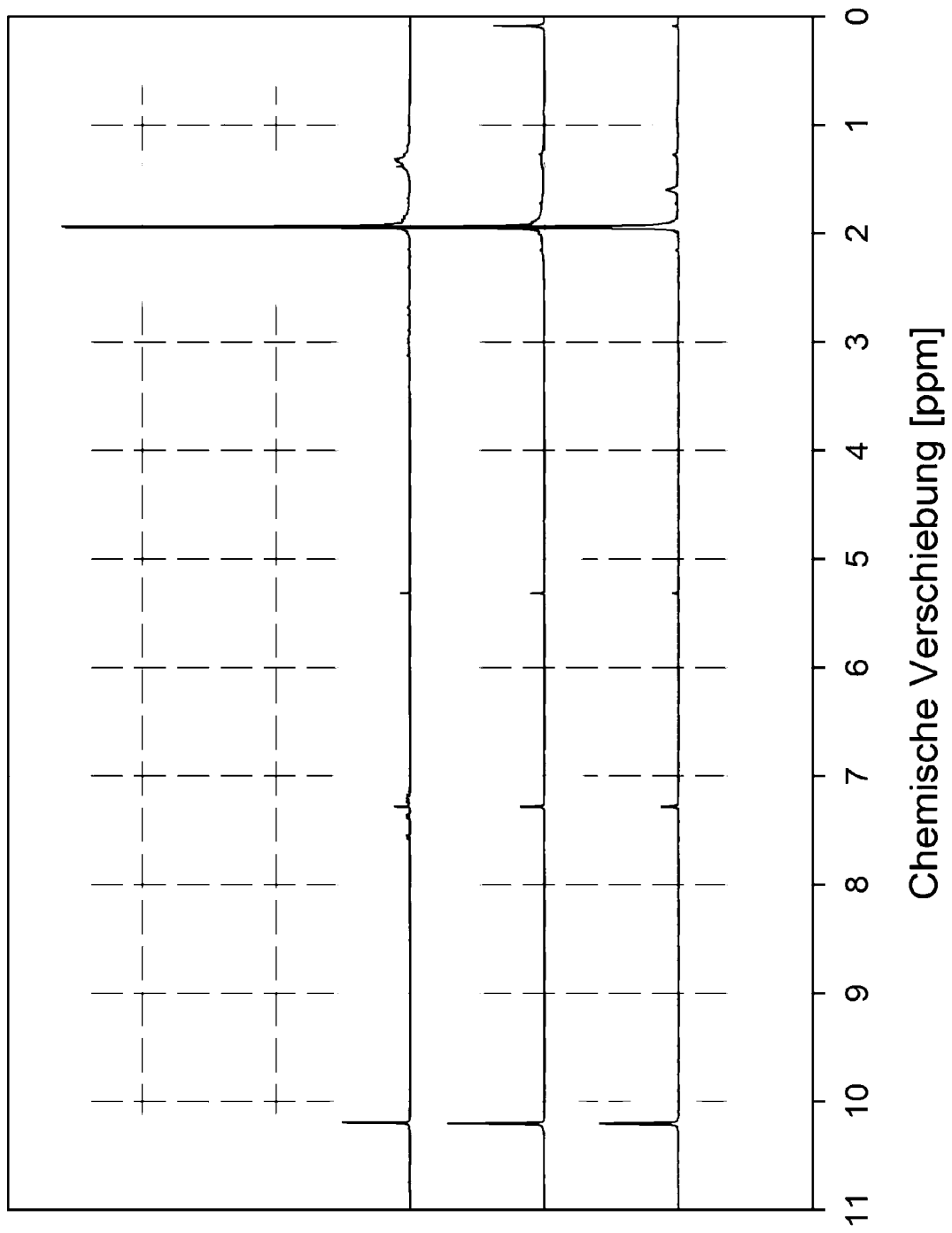


Fig. 1

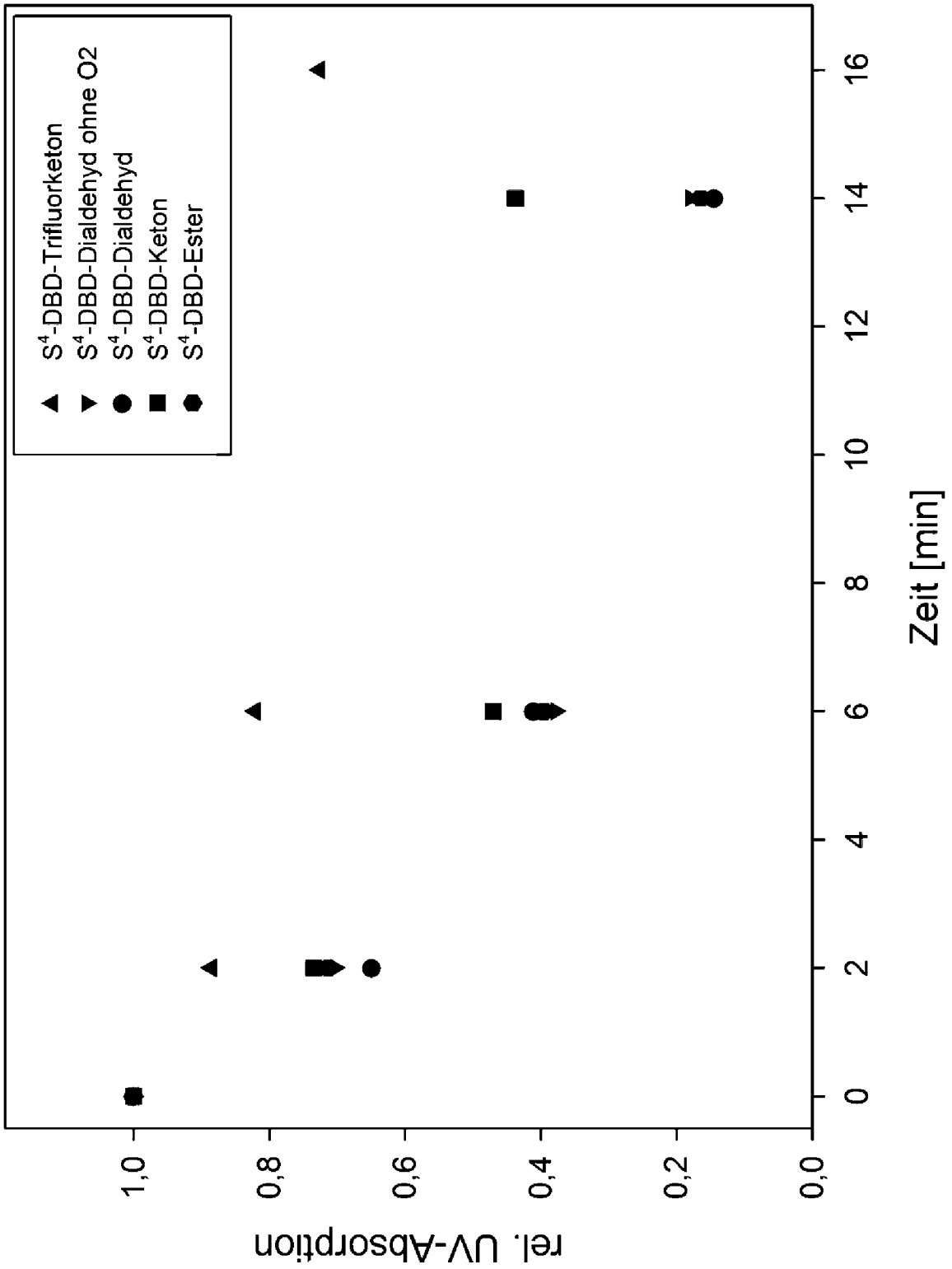


Fig. 2

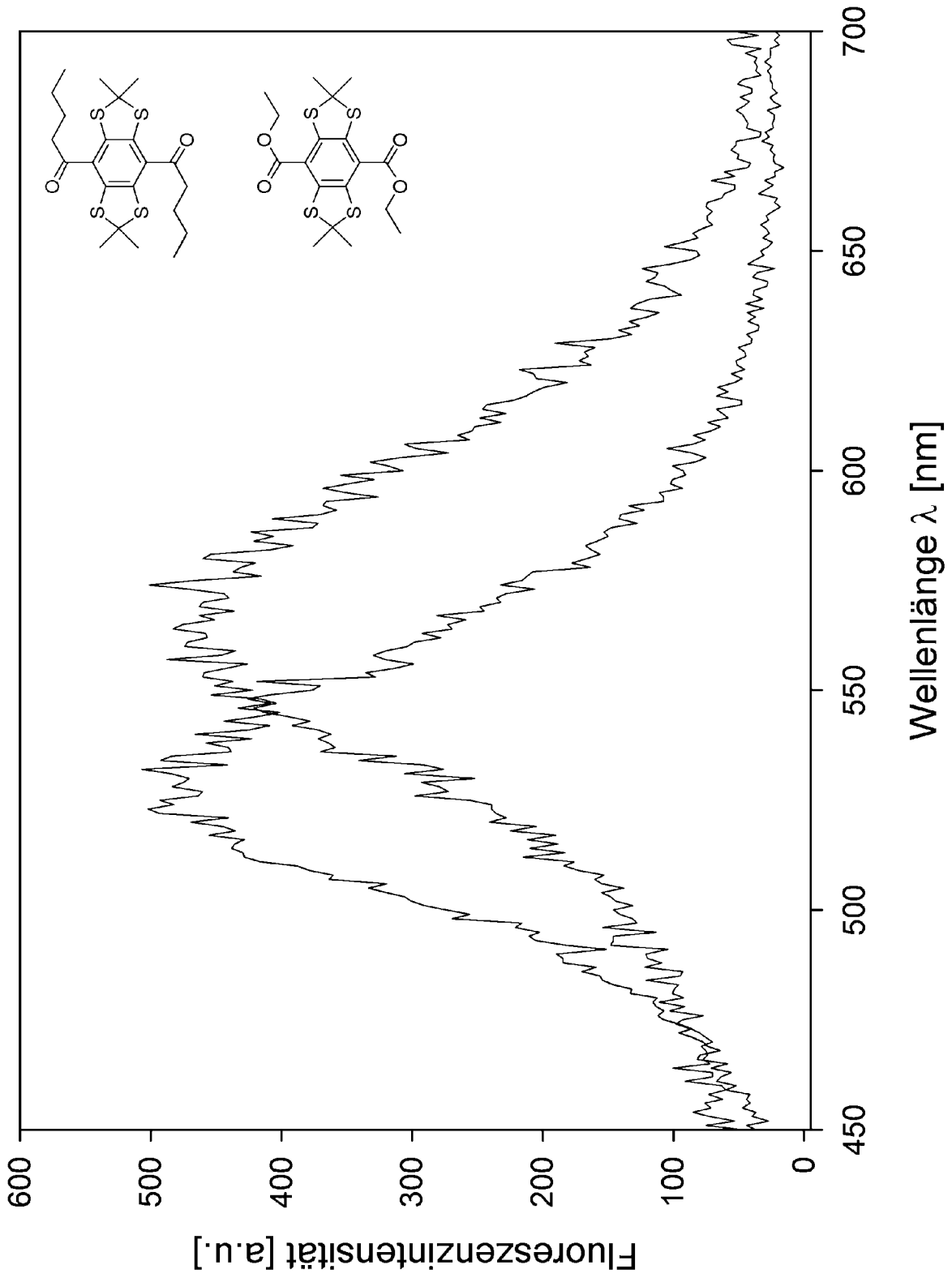


Fig. 3