

Die Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers

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

von
Alexander Grandjean

Saarbrücken

2022

Tag des Kolloquiums:	4. November 2022
Dekan/in:	Prof. Dr. Ludger Santen
Berichterstatter:	Prof. Dr. Gregor Jung Prof. Dr. Christopher W.M. Kay Prof. Dr. Stefan Lochbrunner
Vorsitz:	Prof. Dr. Lars Kaestner
Akad. Mitarbeiter:	Dr. Kristina Brix

*“There is a way out of every box,
a solution to every puzzle,
it's just a matter of finding it.”*

Capt. Jean-Luc Picard

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Gregor Jung bedanken, der mir ermöglichte diese Doktorarbeit in seinem Arbeitskreis anzufertigen, stets ein offenes Ohr bei Problemen oder Vorschlägen hatte und auf dessen Unterstützung ich immer zählen konnte. Danke für die hervorragende Betreuung, das Vertrauen und die ein oder andere inspirierende Motivationsrede, falls es einmal irgendwo hakte.

Besonderer Dank geht auch an Dr. J. Luis Pérez Lustres, ohne den diese Arbeit nicht in dieser Weise möglich gewesen wäre. Danke für deine Unterstützung, die angenehme Zusammenarbeit, den Kaffee und die Bereitschaft den ein oder anderen längeren Messtag zusammen zu verbringen. Dank gilt dabei auch Prof. Dr. Marcus Motzkus und Prof. Dr. Karsten Heyne, die diese Kooperation ermöglichten.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Christopher Kay für das Interesse an meiner wissenschaftlichen Arbeit und die Begutachtung der Doktorarbeit. Ich danke Rudolph Richter und den Mitarbeitern der Werkstatt der Physikalischen Chemie für ihre Unterstützung.

Meinen aktuellen wie auch ehemaligen Kollegen im Arbeitskreis gilt ebenso Dank. Durch euch wurden die letzten Jahre unvergesslich, die Konferenzen, Betriebsausflüge oder Weihnachtsfeiern immer zu einem Erlebnis und der Alltag im Labor umso besser. Vielen Dank, dass ich durch euch zusammen mit Freunden arbeiten konnte. Besonderer Dank geht dabei an Daniel, Johannes und Matthias für die wissenschaftliche Zusammenarbeit bzw. die Bereitschaft diese Arbeit Korrektur zu lesen.

Nicht unerwähnt dürfen meine ehemaligen Kommilitonen und Freunde bleiben. Danke Caro, Lukas, Thomas, Yannic und Yvonne für eure Unterstützung in den letzten Jahren, ob während des Studiums, der Doktorarbeit oder abseits davon (z.B. beim Elefantenwaschen, dem Flug zum Minmus oder dem Besuch in Carcosa). Auch an Andreas, Andy, Celina, Christian, Kati, Joachim, Matthias, Rebecca, Sebastian und Sven: Danke für alles, auch ihr habt einen nicht unerheblichen Anteil hieran!

Größter Dank geht an meine Familie: meine Eltern Martin und Ingrid, meinem Bruder Michael, meiner Nichte Fee, sowie Marion, Roland und natürlich auch an den Rest des Clans ... ihr seid „leider“ einfach zu viele, aber seid euch sicher: ich danke euch und bin froh, dass es euch gibt!

Zuletzt möchte ich meiner Freundin Sara danken, was sich hier nur schwer in einem kurzen Abschnitt fassen lässt: Danke für deine bedingungslose Unterstützung, das Aufbauen in schwierigeren Phasen, dein Glaube an mich und das Erinnern an das was wirklich zählt.

Anmerkung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Aufsicht von Prof. Dr. Gregor Jung von Februar 2017 bis März 2022 am Lehrstuhl für Biophysikalische Chemie der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Universität des Saarlandes erstellt.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in folgenden Artikeln veröffentlicht:

D. Maus, A. Grandjean, G. Jung, Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid. *J. Phys. Chem. A* **2018**, *122*, 9025–9030.

A. Grandjean, J. L. Pérez Lustres, S. Muth, D. Maus, G. Jung, Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer. *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, *12*, 1683–1689.

A. Grandjean, J. L. Pérez Lustres, G. Jung, Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns. *ChemPhotoChem* **2021**, *5*, 1094–1105.

J. A. Menges, A. Grandjean, A. Clasen, G. Jung, Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy. *ChemCatChem* **2020**, *12*, 2630–2637.

Auflistung der wissenschaftlichen Beiträge

Veröffentlichungen in Fachzeitschriften nach peer-review Verfahren

A. Schäfer, K. Rohe, A. Grandjean, V. Huch, Synthesis and Structure of [2]Tetrelocenophanes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 2017, 35–38.

D. Maus, A. Grandjean, G. Jung, Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid. *J. Phys. Chem. A* **2018**, 122, 9025–9030.

A. S. D. Stahlich, V. Huch, A. Grandjean, K. Rohe, K. I. Leszczyńska, D. Scheschkewitz, A. Schäfer, Permethylated Disila[2]metallocenophanes of Group 14 and 15 Elements. *Chem. – A Eur. J.* **2019**, 25, 173–176.

J. A. Menges, A. Grandjean, A. Clasen, G. Jung, Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy. *ChemCatChem* **2020**, 12, 2630–2637.

Y. Kaiser, A. Grandjean, V. Huch, M. Zimmer, G. Jung, D. Scheschkewitz, Luminescent Symmetrically and Unsymmetrically Substituted Diboranes(4). *Zeitschrift für Anorg. und Allg. Chemie* **2020**, 646, 816–827.

A. Grandjean, J. L. Pérez Lustres, S. Muth, D. Maus, G. Jung, Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer. *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, 12, 1683–1689.

A. Grandjean, J. L. Pérez Lustres, G. Jung, Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns. *ChemPhotoChem* **2021**, 5, 1094–1105.

M. Bitsch, A. K. Boehm, A. Grandjean, G. Jung, M. Gallei, Embedding Photoacids into Polymer Opal Structures: Synergistic Effects on Optical and Stimuli-Responsive Features. *Molecules* **2021**, 26, 7350.

C. Hoffmann, M. Jourdain, A. Grandjean, A. Titz, G. Jung, β -Boronic Acid Substituted Bodipy Dyes for Fluorescence Anisotropy Analysis of Carbohydrate Binding. *Anal. Chem.* **2021**, *submitted*.

N. Sülzner, B. Geissler, A. Grandjean, G. Jung, P. Nuernberger, Excited-state Proton Transfer Dynamics of a Super-Photoacid in Acetone-Water Mixtures. *ChemPhotoChem* **2022**, *submitted*.

Vorträge auf internationalen Fachkonferenzen

A. Grandjean, D. Maus, Super-Photoacids to Reveal Medium-Effects of Proton Transfer Reactions and the Search for Stronger Super-Photoacids, *Central European Conference on Photochemistry CECP*, **2018**, Bad-Hofgastein (Österreich).

A. Grandjean, Environmental Dependence of Proton Transfer Reactions, *120th General Assembly of the German Bunsen Society for Physical Chemistry*, **2021**, online.

Posterbeiträge auf internationalen Fachkonferenzen

A. Grandjean, J. Menges, D. Maus, G. Jung, “Super”photoacid-Base-Complexes to Reveal Medium-Effects of Proton Transfer Reactions, *117th General Assembly of the German Bunsen Society for Physical Chemistry*, **2017**, Kaiserslautern (Deutschland).

A. Grandjean, J. Menges, D. Maus, G. Jung, “Super”Photoacids to Reveal Medium-Effects of Proton Transfer Reactions, *Methods and Application of Fluorescence*, **2017**, Brügge (Belgien).

A. Grandjean, J. Menges, D. Maus, G. Jung, Revealing Medium-Effects of Proton Transfer Reactions, *118th General Assembly of the German Bunsen Society for Physical Chemistry*, **2018**, Hannover (Deutschland).

A. Grandjean, D. Maus, J. L. Pérez Lustres, M. Motzkus, G. Jung, Proton Transfer Reactions in an Aprotic Environment, *26. Lecture Conference on Photochemistry*, **2018**, München (Deutschland).

A. Grandjean, D. Maus, J. Beckmann, J. Menges, J. L. Pérez Lustres, M. Motzkus, G. Jung, Proton Transfer Reaction in an Aprotic Environment, *Bunsen Diskussionstagung: Probing Chemical Reactions by Single-Molecule Spectroscopy*, **2019**, Höchst im Odenwald (Deutschland).

A. Grandjean, D. Maus, J. L. Pérez Lustres, M. Motzkus, G. Jung, Proton Transfer Reaction in an Aprotic Environment, *119th General Assembly of the German Bunsen Society for Physical Chemistry*, **2019**, Jena (Deutschland).

A. Grandjean, E. Gießelmann, J. Luis Pérez Lustres, G. Jung, Photochemical Proton Transfer for Single-Molecule Microscopy, *Central European Conference on Photochemistry CECP*, **2022**, Bad-Hofgastein (Österreich), *CECP Price for the best poster of a young scientist*.

Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung	13
1. Einleitung.....	15
2. Theorie	16
2.1. Lösungsmiteleinflüsse.....	16
2.2. Protonentransfer und Photosäuren	27
3. Methoden	38
3.1. Zeitaufgelöste Spektroskopie	38
3.2. Fluoreszenzmikroskopie einzelner Moleküle	42
4. Zielsetzung und Motivation	48
5. Publikationen	51
5.1. Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid	51
5.2. Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer	83
5.3. Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns	143
5.4. Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy	177
6. Experimente auf Einzelmolekülniveau	235
6.1. Aufbau des Einzelmolekülspektrometers.....	235
6.2. Photosäure-Base-Komplex auf Einzelmolekülniveau.....	243
7. Zusammenfassung und Einordnung.....	247
8. Ausblick und offene Fragen.....	251
9. Anhang.....	252
9.1. Experimenteller Teil: Einzelmolekülaufnahmen	252
Beiträge der Koautoren	254
Abkürzungsverzeichnis.....	258
Literaturverzeichnis	261

Abstract

Understanding the underlying mechanisms of chemical reactions enables the control of biophysical and chemical processes. Proton transfer (PT) is thereby one of the most fundamental reactions. Despite extensive research, there is still a lack of understanding its environmental dependence. The used systems fail to differentiate between proton acceptor and environment. In this work, a new probe system is introduced, which fulfills this key aspect. This is realized by a photoacid complexed with a phosphine oxide. Due to the acidity increase of the photoacid upon electronic excitation, the PT can be triggered by a photon and occurs along the hydrogen bond of the complex to the phosphine oxide. It can be shown that the PT-efficiency increases with the polarity of the environment. Furthermore, time-resolved measurements in acetonitrile reveal an adiabatic solvent-controlled PT mechanism, with a long living equilibrium between complex and contact ion pair (ns-timescale). Finally, the system is transferred to the single molecule level and observed by a custom-build single molecule spectrometer.

Kurzzusammenfassung

Das Verständnis der Mechanismen hinter chemischen Reaktionen ermöglicht die gezielte Steuerung von biophysikalischen und chemischen Prozessen. Einer der fundamentalsten Reaktionen ist dabei der Protonentransfer (PT). Trotz ausführlicher Behandlung in der Literatur fehlen bis heute jedoch Studien zu dessen Umgebungsabhängigkeit. Dies scheiterte in der Vergangenheit an der Möglichkeit zwischen Protonenakzeptor und Umgebung zu differenzieren. In der vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung eines neuen Sonden-Systems gezeigt, welches genau dazu in der Lage ist. Realisiert wird dies durch die Komplexierung einer Photosäure mit einem Phosphinoxid. Die Photosäure erfährt durch elektronische Anregung eine Aziditätserhöhung, wodurch der PT zum Phosphinoxid gezielt entlang der Wasserstoffbrückenbindung des Komplexes ausgelöst werden kann. Es zeigt sich, dass die PT-Effizienz mit der Umgebungspolarität zunimmt. Des Weiteren offenbaren zeitaufgelöste Messungen in Acetonitril einen adiabatischen, solvatationskontrollierten PT-Mechanismus im elektronisch angeregten Zustand, mit einem langlebigen Gleichgewicht zwischen Komplex und Kontaktionenpaar (ns-Zeitskala). Dass dieses System auch auf das Einzelmolekülniveau übertragbar ist, wird anschließend mit Hilfe eines eigens konstruierten Einzelmolekülspektrometers demonstriert.

1. Einleitung

Lehrbücher vermitteln oft den Eindruck, die Mechanismen bereits bekannter chemischer Reaktionen seien vollständig verstanden und alle Rätsel um das Zusammenspiel der beteiligten Teilchen gelöst. Treffen diese Lehrbuchreaktionen jedoch auf die Realität, so ist jedem synthetisch arbeitenden Chemiker die Diskrepanz bekannt: Längst nicht jede Reaktion lässt sich leicht auf ein Derivat des Eduktes übertragen und selten finden chemische Reaktionen ohne die Bildung unbekannter Nebenprodukte statt. Was im Alltag eher ein Ärgernis sein mag, kann jedoch auch als Chance gesehen werden. Wird verstanden, wie Reaktionsmechanismen im Detail aussehen, unter welchen Umständen sich welche Nebenprodukte oder Intermediate bilden und wie sich bestimmte Reaktionspfade durch äußere Faktoren beeinflussen lassen, kann dies neue Syntheserouten ermöglichen. Die Weiterentwicklung spektroskopischer Methoden ermöglichte in den letzten Jahrzehnten immer detailliertere Einsichten in die verschiedensten Reaktionsmechanismen. So konnten neue Intermediate^[1–3], alternative Reaktionspfade^[3] und Abhängigkeiten einzelner Schritte von der Umgebung^[4–9] aufgedeckt werden. Insbesondere Einzelmolekülstudien eröffnen die Chance alternative Prozesse zu entdecken, die in herkömmlichen Ensembleuntersuchungen unbemerkt bleiben.^[10] Während in einer Ensemblemessung stets über eine große Anzahl von Molekülen gemittelt wird, ist in der Einzelmoleküldetektion der individuelle Reaktionspfad eines einzelnen Teilchens beobachtbar. Beispielweise wird so die Untersuchung der Heterogenität einer einzelnen Probe auf molekularer Ebene zugänglich.^[5,11] Ein zweites wichtiges Werkzeug zur Untersuchung von Reaktionsmechanismen sind die zeitaufgelösten Spektroskopiemethoden, die in den letzten Jahrzehnten ebenfalls deutlich zum Verständnis von chemischen Reaktionen^[12–16], elektronischen Übergängen^[17–19] oder Solvationsdynamiken^[20–25] beigetragen haben. Dabei ermöglicht die immer besser werdende Zeitauflösung dieser Methoden mittlerweile Prozesse bereits auf der Femtosekunden- oder sogar Attosekunden-Zeitskala zu beobachten.^[26–30] Diesen Untersuchungen geht jedoch die Verfügbarkeit eines Systems voraus, anhand dessen die entsprechende chemische Reaktion bzw. der entsprechende physikochemische Prozess verfolgt werden kann. Kern dieser Arbeit ist daher die Entwicklung eines solchen Systems, mit welchem die Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers, eine der fundamentalsten Reaktionen in Natur und Technik, untersucht werden soll.^[31–37] Die damit einhergehende Kontrolle des pH-Wertes ist essenziell für Enzymaktivitäten und chemische Reaktionen in der Industrie. Ein leistungsstarkes Werkzeug zur Untersuchung des Protonentransfers ist dabei die Klasse der sogenannten Photosäuren.^[38–41] Diese erfahren nach einer elektronischen Anregung, d. h. nach Absorption eines Photons, eine Erhöhung ihrer Azidität um mehrere Größenordnungen und ermöglichen gezielt durch ein Photon bzw. einen Laserpuls den Protonentransfer auszulösen.

2. Theorie

2.1. Lösungsmiteleinflüsse

Die Umgebung einer chemischen Reaktion wird in den meisten Fällen durch das Lösungsmittel definiert. Reaktionen in fester Phase oder Gasphase spielen in der synthetischen Chemie oder der Biochemie hingegen nur eine untergeordnete Rolle. Der Begriff Solvation beschreibt dabei die Umhüllung eines Teilchens durch Lösungsmittelmoleküle. Die zeitliche Entwicklung der Lösungsmittelreaktion auf eine Veränderung des gelösten Moleküls wird Solvationsdynamik genannt. Solche Veränderungen können beispielsweise durch chemische Reaktionen, elektronische Anregung oder Ladungstransfer-Reaktionen hervorgerufen werden.^[9,21,42] Dabei wird ersichtlich, dass die Eigenschaften des umgebenden Lösungsmittels auch wiederum Einfluss auf die jeweiligen Prozesse haben können. So ist beispielsweise in der organischen Synthese die Wahl des Lösungsmittels essenziell für Reaktionsabläufe nach S_N1 bzw. S_N2 : Polare protische Lösungsmittel stabilisieren geladene Übergangszustände bzw. Abgangsgruppen besser und favorisieren den S_N1 Reaktionsweg, der solche geladenen Zustände und Abgangsgruppen beinhaltet.^[43–45] Somit wird durch die Wahl der Umgebung Kontrolle über die chemische Reaktion erlangt. Allgemein können diese Einflüsse in spezifische und unspezifische intermolekulare Wechselwirkungen zwischen gelöstem Stoff und Solvens eingeteilt werden. Unspezifische Wechselwirkungen beschreiben ungerichtete Kräfte wie Dipol-, Induktions- und Dispersionswechselwirkungen, wohingegen spezifische Wechselwirkungen gerichtete Kräfte wie Wasserstoffbrückenbindungen oder Ladungstransferwechselwirkungen beschreiben.

Im Folgenden sollen die unspezifischen Wechselwirkungen zwischen polaren Lösungsmittelmolekülen und einer polaren molekularen Sonde näher betrachtet werden. In einer solchen molekularen Sonde können gezielt die angesprochenen Veränderungen zur Untersuchung von Solvation und Solvationsdynamik herbeigeführt werden. Hier haben sich Fluoreszenzfarbstoffe in der Vergangenheit als nützliches Werkzeuge erwiesen.^[21,42,46–52] Durch optische Anregung wird die Verteilung der Elektronendichte innerhalb des Moleküls verändert. Maß für die Änderung ist die Differenz $\Delta\mu$ der permanenten Dipolmomente des elektronischen Grundzustands $\vec{\mu}_G$ und des elektronisch angeregten Zustands $\vec{\mu}_E$:

$$\Delta\mu = |\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G| \quad (1)$$

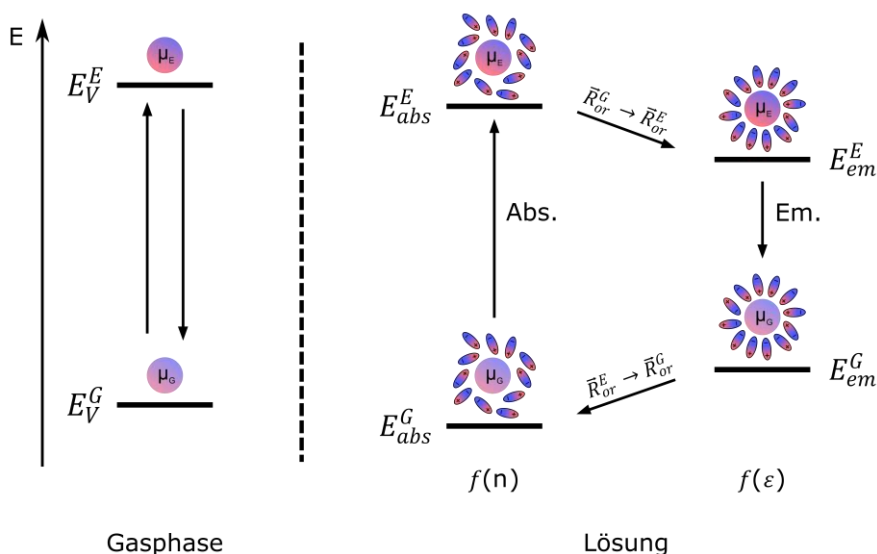


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Lösungsmittelrelaxation eines Fluoreszenzfarbstoffes mit positiver Solvatochromie ($|\vec{\mu}_E| > |\vec{\mu}_G|$). Links ist der Übergang zwischen elektronischem Grundzustand (G) und angeregtem Zustand (E) in der Gasphase (V) gezeigt, in der keinerlei Lösungsmittelrelaxation die Zustände stabilisiert. Rechts dagegen sind die Übergänge in Lösung gezeigt, in der die Energieniveaus jeweils durch die Lösungsmittelstabilisierung ($\vec{R}_{or}^G \rightarrow \vec{R}_{or}^E$ bzw. $\vec{R}_{or}^E \rightarrow \vec{R}_{or}^G$) abgesenkt werden. \vec{R}_{or}^G und \vec{R}_{or}^E beschreiben die Orientierung der Lösungsmittelmoleküle im Grundzustand bzw. angeregten Zustand (siehe dazu das folgende Unterkapitel).

Das umgebende Lösungsmittel reagiert auf diese Änderung durch elektronische Bewegungen und molekulare Umorientierungen, was auch als Lösungsmittelrelaxation bezeichnet wird. Dies ruft eine energetische Absenkung des angeregten Zustandes hervor. Ist die Fluoreszenzlebensdauer länger als die Relaxation, was in der Regel der Fall ist, wird durch das stationäre Fluoreszenzspektrum der relaxierte elektronisch angeregte Zustand ausgelesen. Zu beachten ist jedoch, dass die Emission wieder mit einer Änderung des permanenten Dipolmomentes einhergeht und daher in einen nicht-relaxierten Grundzustand erfolgt. Erst anschließend erfolgt wiederum eine Lösungsmittelrelaxation zurück zum Ausgangspunkt (Abbildung 1). Die jeweilige Stabilisierung der Energieniveaus ist abhängig von der Polarisierbarkeit des Lösungsmittels. Dies bedeutet, dass Absorptions- und Fluoreszenzspektrum, sowie deren auch Stokes-Verschiebung genannter Unterschied in der spektralen Lage, lösungsmittelabhängig sind. Dieses Phänomen wird als Solvatochromie bezeichnet: Die Abhängigkeit der Farberscheinung vom Lösungsmittel. In den überwiegenden Fällen erfährt ein Farbstoff durch elektronische Anregung eine Erhöhung des permanenten Dipolmomentes, was im Falle einer Polaritätserhöhung des Lösungsmittels eine bathochrome Verschiebung der Spektren zur Folge hat. Es sind jedoch auch konträre Systeme bekannt, deren Lösungsmittelabhängigkeit als negative Solvatochromie bezeichnet wird.^[53–56]

Lippert-Mataga-Gleichung

Eine der etabliertesten Methoden zur Analyse von Solvatochromie ist die Verwendung der Lippert-Mataga-Gleichung.^[57–60] Diese Gleichung ermöglicht die Änderung $\Delta\mu$ des permanenten Dipolmoments eines Farbstoffes während der elektronischen Anregung zu bestimmen.^[57–61] Dazu werden die Stokes-Verschiebungen des Farbstoffes in verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt. In der zugrundeliegenden Theorie wird von einem punktförmigen Dipol in einem sphärischen Hohlraum ausgegangen, welcher von einem dielektrischen Kontinuum umgeben ist. Das dielektrische Kontinuum wird durch die Dielektrizitätskonstante ϵ , auch dielektrische Leitfähigkeit oder Permittivität genannt, beschrieben.¹ Die folgende Herleitung der Lippert-Mataga-Gleichung folgt den Beschreibungen von Lakowicz^[61] und Büna^[62], ist jedoch beispielsweise von Rau^[63] oder in der Originalliteratur^[57–60] noch ausführlicher zu finden.

Die Energie des Dipols im Kontinuum kann nach Onsager beschrieben werden mit:^[64]

$$E_{Dipol} = -\vec{\mu} \cdot \vec{R} \quad (2)$$

$$\text{mit } \vec{R} = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu} \cdot f \quad (3)$$

\vec{R} ist das Reaktionsfeld, welches vom polarisierten Medium zurück auf den Dipol wirkt und diesen dadurch stabilisiert. Beschrieben wird \vec{R} durch das permanente Dipolmoment $\vec{\mu}$ des betrachteten Dipols, den Radius des sphärischen Hohlraums a und die Polarisierbarkeit des Lösungsmittels f (Gleichung (3)). Letzteres setzt sich sowohl aus der Mobilität der Elektronen als auch aus der molekularen Bewegung der Lösungsmittelmoleküle zusammen und ist gegeben durch:²

$$f(\epsilon) = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} \quad (4)$$

Die Umverteilung der Elektronen in den Lösungsmittelmolekülen, d. h. die Bildung von induzierten Dipolen, erfolgt nach dem Franck-Condon Prinzip bereits instantan mit dem Anregungs- bzw. Emissionsübergang und kann allein durch den Brechungsindex n beschrieben werden. Dadurch, dass der Prozess auf einer sehr schnellen Zeitskala abläuft, wird die Komponente auch hochfrequente Polarisierbarkeit genannt.^[60,61,65] Soll dagegen nur die

¹ In einem Plattenkondensator erfährt bei Anlegung einer elektrischen Spannung ein Dielektrikum eine dielektrische Verschiebung, die proportional zum elektrischen Feld ist. Die Proportionalitätskonstante zwischen dieser dielektrischen Verschiebung und dem elektrischen Feld ist die Dielektrizitätskonstante ϵ .^[63]

² Durch Gleichung (4) wird ersichtlich, dass die molekulare Gesamtpolarisierbarkeit $f(\epsilon)$ bei steigender Dielektrizitätskonstante ϵ eine Sättigung erfährt. Eine gleichbleibende Erhöhung von ϵ resultiert daher in einer immer kleineren Erhöhung von $f(\epsilon)$.

Komponente der Molekülbewegungen des Lösungsmittels beschrieben werden, kann dies durch die Differenz der molekularen Gesamtpolarisierbarkeit $f(\varepsilon)$ und der hochfrequenten Polarisierbarkeit $f(n)$ erfolgen. Dies wird als die Orientierungspolarisierbarkeit Δf bezeichnet.^[61,66]

$$\text{Elektronische Umverteilung:} \quad f(n) = \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (5)$$

$$\text{Reorientierung der Moleküle:} \quad \Delta f = f(\varepsilon) - f(n) \quad (6)$$

Das Reaktionsfeld um den Dipol kann für den Fall eines Fluoreszenzfarbstoffes jeweils für den elektronischen Grundzustand (G) und den elektronisch angeregten Zustand (E) formuliert werden. Diese können wiederum in die Anteile der elektronischen Umverteilung \vec{R}_{el} und der molekularen Reorientierung \vec{R}_{or} aufgeteilt werden:

$$\vec{R}_{el}^G = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu}_G \cdot f(n) \quad (7)$$

$$\vec{R}_{el}^E = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu}_E \cdot f(n) \quad (8)$$

$$\vec{R}_{or}^G = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu}_G \cdot \Delta f \quad (9)$$

$$\vec{R}_{or}^E = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu}_E \cdot \Delta f \quad (10)$$

Dadurch ergibt sich für die Energieniveaus für die Absorption in Abbildung 1:^[67]

$$E_{abs}^E = E_V^E - \vec{\mu}_E \vec{R}_{or}^G - \vec{\mu}_E \vec{R}_{el}^E \quad (11)$$

$$E_{abs}^G = E_V^G - \vec{\mu}_G \vec{R}_{or}^G - \vec{\mu}_G \vec{R}_{el}^G \quad (12)$$

Beziehungsweise analog für die Emission:

$$E_{em}^E = E_V^E - \vec{\mu}_E \vec{R}_{or}^E - \vec{\mu}_E \vec{R}_{el}^E \quad (13)$$

$$E_{em}^G = E_V^G - \vec{\mu}_G \vec{R}_{or}^E - \vec{\mu}_G \vec{R}_{el}^G \quad (14)$$

Anzumerken sei, dass die Energieniveaus E_{abs}^E bzw. E_{em}^G den noch nicht relaxierten Zustand der Lösemittelorientierung beschreiben, weswegen hier noch die Reaktionsfelder \vec{R}_{or}^G bzw. \vec{R}_{or}^E des Anfangszustandes wirken.

Die Energien der 0-0-Übergänge von Absorption bzw. Fluoreszenz werden aus den Differenzen von Gleichung (11) und (12) bzw. (13) und (14) erhalten:

$$\Delta E_{abs} = E_{abs}^E - E_{abs}^G = (E_V^E - E_V^G) - (\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G) \vec{R}_{or}^G - \vec{\mu}_E \vec{R}_{el}^E + \vec{\mu}_G \vec{R}_{el}^G \quad (15)$$

$$\Delta E_{em} = E_{em}^E - E_{em}^G = (E_V^E - E_V^G) - (\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G) \vec{R}_{or}^E - \vec{\mu}_E \vec{R}_{el}^E + \vec{\mu}_G \vec{R}_{el}^G \quad (16)$$

Die Stokes-Verschiebung $\Delta\tilde{\nu}$ zwischen Absorptions- und Fluoreszenzspektrum ist damit:

$$hc\Delta\tilde{\nu} = \Delta E_{abs} - \Delta E_{em} = (\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G)(\vec{R}_{or}^E - \vec{R}_{or}^G) + const \quad (17)$$

Dabei wird eine Konstante eingeführt, welche die Stokes-Verschiebung durch vibronische Relaxation ohne Lösungsmiteleinflüsse widerspiegelt. Durch Substitution der Reaktionsfelder aus den Gleichungen (7) bis (10) und deren Transformation in die Wellenzahlskala ergibt sich die Lippert-Mataga-Gleichung der bekannten Form:^[57–61]

$$\Delta\tilde{\nu} = \tilde{\nu}_{abs} - \tilde{\nu}_{em} = \frac{1}{hc} \cdot \frac{2|\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G|^2}{4\pi\epsilon_0 \cdot a^3} \cdot \Delta f + const \quad (18)$$

Durch eine Auftragung der Orientierungspolarisation Δf verschiedener Lösungsmittel gegen die jeweilige Stokes-Verschiebung $\Delta\tilde{\nu}$ in diesen Lösungsmitteln ist damit eine Bestimmung der Änderung des permanenten Dipolmoments $\Delta\mu = |\vec{\mu}_E - \vec{\mu}_G|$ des Farbstoffmoleküls möglich. Werden die Änderungen zwischen zwei sehr ähnlichen Spezies verglichen, können damit Unterschiede in der Ladungsverteilung diskutiert werden. Dies wird beispielsweise später in Kapitel 5.2 angewandt, um die Verschiebung des positiv geladenen Protons innerhalb des behandelten Sonden-Systems zu bestimmen.

Um die Vereinfachungen zu adressieren, die in der Theorie der Lippert-Mataga-Gleichung gemacht werden, wurden seit ihrer Entwicklung vielfältige alternative Theorien zur Bestimmung der Reaktionsfelder aufgestellt.^[58,66,68–70] Hauptangriffspunkte sind die Annahmen, dass die permanenten Dipolmomente von Grundzustand und angeregtem Zustand parallel sind oder sich das Farbstoffmolekül in einer sphärischen Kavität befindet, auch wenn dessen Ausdehnung oftmals nicht kugelförmig ist. Für das in dieser Arbeit thematisierte System

können diese Annahmen jedoch getroffen bzw. die dadurch entstehenden Fehler leicht kompensiert werden (siehe Kapitel 5.2). So kann durch semi-empirische Methoden das Volumen der Kavität α^3 direkt berechnet und die Parallelität der permanenten Dipolmomente hier durchaus als gegeben angenommen werden.^[71] Auf eine detaillierte Behandlung der komplexeren Reaktionsfelder wird daher verzichtet. Es sei jedoch erwähnt, dass spezifische Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Solvens und molekularer Sonde, die Analyse durch Lippert-Mataga beeinträchtigen und die Auftragung von einer idealen Geraden abweichen lassen.

Solvatationsdynamik und Relaxationsprozesse

Die Theorie von Lippert-Mataga betrachtet die Umorientierung von Elektronen und Molekülen als Antwort auf eine Veränderung des gelösten Moleküls. Dabei wird jedoch immer nur der Anfangs- bzw. Endzustand beschrieben. Die Solvationskoordinate $z(t)$ ist allerdings eine zeitabhängige Koordinate. Nach Marcus^[67] kann das permanente Dipolmoment des Farbstoffes, mit welchem die momentane Lösungsmittelkonfiguration zum Zeitpunkt t im Gleichgewicht stünde, beschrieben werden durch:

$$\vec{\mu}(t) = [1 - z(t)] \cdot \vec{\mu}_G + z(t) \cdot \vec{\mu}_E \quad (19)$$

Ist das permanente Dipolmoment eine zeitabhängige Größe gilt dies folglich auch für die Reaktionsfelder:

$$\vec{R}(t) = \frac{2}{a^3} \cdot \vec{\mu}(t) \cdot f \quad (20)$$

Damit ist die energetische Lage der Energieniveaus ebenfalls abhängig vom Zeitpunkt der Beobachtung t . Die klassisch beobachtbare Größe für die Solvationskoordinate ist daher die zeitabhängige spektrale Verschiebung eines Spektrums (vgl. Abbildung 1). Durch die Entwicklung von ultrakurzen Laserpulsen auf der Femtosekunden- bis Pikosekunden-Zeitskala wurden zeitaufgelöste Beobachtungen der Solvationsdynamik via transients Absorption (siehe Kapitel 3.1 bzw. 5.3) oder Fluoreszenz Up-Conversion experimentell möglich.^[21–25] Wie bereits erwähnt, erfolgen zwar die elektronischen Bewegungen bereits instantan mit der Anregung bzw. Emission, jedoch kann auf diesem Wege die Umorientierung der Lösungsmittelmoleküle analysiert werden.

Maroncelli beschrieb bereits 1991, durch Simulationen gestützt, ein zweistufiges Modell der Lösungsmittelumorientierung, d. h. der nicht-instantanen molekularen Solvationsdynamik, anhand von Acetonitril.^[20] Das Modell konnte auch in weiteren Studien experimentell bestätigt werden und gilt heutzutage als das etablierte Standardmodell.^[21–25] Dabei wird von zwei voneinander getrennten Prozessen ausgegangen: einer schnellen initialen Komponente und einer sich anschließenden langsameren Komponente (Abbildung 2).

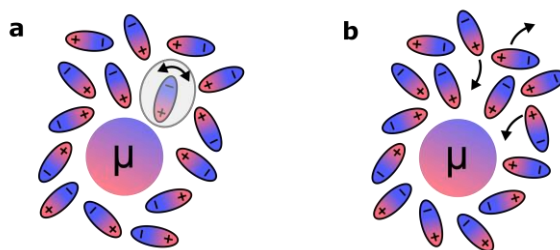


Abbildung 2: Relaxationsprozesse des Lösungsmittels. (a) schnelle initiale Komponente: kleine Bewegungen der Lösungsmittelmoleküle innerhalb des molekularen Käfigs (grau). (b) langsamere diffusive Komponente: Umstrukturierungen der Solvationshülle bzw. des molekularen Käfigs.

Die schnelle Komponente (Abbildung 2a) erfolgt auf der Femtosekunden-Zeitskala, trägt jedoch bis zu 80 % der gesamten Relaxation bei. Zurückzuführen ist dies auf initiale, voneinander unabhängige Bewegungen der einzelnen Lösungsmittelmoleküle. Diese finden lediglich innerhalb des jeweiligen Molekülkäfigs aus umgebenden Teilchen statt und können wiederum unterteilt werden: Zunächst erfolgen Rotationen in der Größenordnung von ca. 10-20°, welche durch einen schnellen gaußförmigen Abfall des Solvationssignals beschrieben werden. Anschließend werden oszillatorische Modulationen des Signals beobachtet, welche durch Librationsbewegungen und den daraus resultierenden Stößen mit der Käfigwand herrühren. Für Zeitaufösungen, wie sie in dieser Arbeit erreicht werden, kann der Gesamtverlauf des Signals jedoch auch ausreichend gut durch eine exponentielle Funktion angenähert werden (siehe Kapitel 5.3). Es soll erwähnt sein, dass während der beschriebenen ultraschnellen Dynamik zwar innerhalb der ersten Solvationshülle auch diffusive Prozesse auftreten können, diese jedoch nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Anders hingegen ist die Natur der langsameren Komponente (Abbildung 2b). Diese hat einen hauptsächlich diffusiven Charakter und ist in der Regel auf einer Zeitskala von wenigen Pikosekunden zu finden. Hierbei handelt es sich um Reorganisationsprozesse der zuvor beschriebenen Molekülkäfige. Die dabei beteiligten Rotationen und translatorischen Bewegungen besitzen eine größere Amplitude und sind als aktivierte Prozesse langsamer als die zuvor beschriebenen initialen Bewegungen. Diffusionsbewegungen aus oder in die

Solvatationshülle finden ebenfalls statt, wobei der Hauptanteil der langsameren Relaxation von der Umstrukturierung der ersten Solvationshülle resultiert.^[20,21,72]

Abschließend sollen vorhandene Abhängigkeiten diskutiert werden. So ist die Stärke der Wechselwirkung zwischen Lösungsmittelmolekül und gelöstem Molekül ein einflussreicher Faktor für die Solvationszeiten. Je stärker die Wechselwirkungen, desto kleinere Fluktuationen bzw. Rotationen sind möglich, wodurch die initiale Komponente schneller wird.^[20] Sinkt dagegen die Temperatur bzw. steigt die Viskosität des Lösungsmittels, so wird die Reorganisation behindert und somit langsamer.^[7] Spezifische Wechselwirkungen wurden bislang in diesem Kapitel nicht beachtet, gestalten die Solvation jedoch deutlich komplexer und modifizieren die Solvationsdynamik eines Lösungsmittels.^[20,73,74] In Tabelle 1 sind zur Veranschaulichung die Solvationszeiten von einigen ausgewählten Lösungsmitteln aufgelistet.

Tabelle 1: Solvationszeiten τ sowie deren Amplituden a einiger ausgewählter Lösungsmittel^[21]

	a_1	a_2	a_3	a_4	τ_1 (ps)	τ_2 (ps)	τ_3 (ps)	τ_4 (ps)
Aceton	0,6	0,4			0,187	1,09		
Acetonitril	0,7	0,3			0,089	0,63		
Dichlormethan	0,5	0,5			0,144	1,02		
Benzonitril	0,4	0,5	0,1		0,356	5,27	25,0	
Dimethylsulfoxid	0,5	0,4	0,1		0,214	2,29	10,7	
Ethanol	0,1	0,2	0,2	0,5	0,030	0,39	5,03	29,6

Für manche Lösungsmittel werden experimentell mehr als zwei Solvationszeiten gefunden, was durch die Ausbildung bzw. das Spalten von Wasserstoffbrückenbindungen während der Solvationsdynamik erklärt werden kann.^[20,21] So zeigt sich beispielsweise im Falle von Ethanol oder Dimethylsulfoxid (DMSO) eine Solvationsdynamik aus drei bis vier Exponentialfunktionen bzw. Solvationszeiten. Auch Benzonitril ist noch im Vergleich zu den ersten drei Lösungsmitteln in Tabelle 1 ein starker Wasserstoffbrücken-Akzeptor^[75], was folglich ebenfalls zu Abweichungen des zuvor beschriebenen zweistufigen Modells führt. Aceton, Acetonitril oder Dichlormethan folgen dagegen dem Modell von Maroncelli, ohne weitere langsamere Komponente.

Spezifische Wechselwirkungen

Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln erläutert, führen spezifische Wechselwirkungen zwischen Lösungsmittelmolekülen und gelöstem Molekül zu Abweichungen in der Lippert-Mataga-Analyse oder der Solvatationsdynamik nach Maroncelli. Onsager schlug vor diese durch ein Schalenmodell^[76–79] zu beschreiben, welches jedoch, wie durch Papazyan *et al.* und Chandra *et al.* gezeigt, nur unzureichend die Komplexität der Prozesse widerspiegelt.^[80,81] Auch andere Versuche waren bislang wenig erfolgreich spezifische Wechselwirkungen auf Basis physikalischer Konstanten zu beschreiben.^[63,82,83] Ein alternativer Ansatz ist die Verwendung von semi-empirischen Skalen, welche auf definierten Referenzpunkten basieren. Dabei wird zwischen Einparameter-Skalen und Multiparameter-Skalen unterschieden.

Typische Vertreter für die Einparameter-Skalen sind im Rahmen von spektroskopischen Untersuchungen die Kosower Z-Skala oder die $E_T(30)$ Skala nach Reichardt. Diese basieren auf dem Absorptionsmaximum eines Referenzfarbstoffes, welches den allgemeinen Lösungsmitteleparameter Z bzw. E_T^N für das jeweilige Lösungsmittel definiert.^[84–88]

$$\text{Kosower Z-Skala:} \quad Z = h \cdot c \cdot N_A \cdot \tilde{\nu} \quad (21)$$

$$\text{Reichardts } E_T(30)\text{-Skala:} \quad E_T^N = \frac{E_T(\text{Solvens}) - E_T(\text{Tetramethylsilan})}{E_T(\text{Wasser}) - E_T(\text{Tetramethylsilan})} \quad (22)$$

$$\text{mit } E_T = h \cdot c \cdot N_A \cdot \tilde{\nu} \quad (23)$$

Beide Skalen beschreiben die Polarität des Lösungsmittels. Der Unterschied der beiden Skalen beruht auf dem verwendeten Referenzfarbstoff. Die $E_T(30)$ -Skala beispielsweise verwendet 2,6-Diphenyl-4-(2,4,6-triphenyl-1-pyridinio)phenolat (auch Betain 30 genannt), welches im Gegensatz zum Referenzfarbstoff von Kosower im sichtbaren spektralen Bereich detektierbar ist. Des Weiteren ist dessen Solvatochromie deutlich ausgeprägter, weswegen die $E_T(30)$ -Skala eine höhere Sensitivität aufweist. Durch das fünffach tert-Butyl-substituierte Derivat und die dadurch veränderte Löslichkeit sind ebenfalls apolare Lösungsmittel zugänglich.^[88] Einflüsse von Wasserstoffbrückenbindungen können zwar erfasst werden, deren analytische Auswertung ist jedoch aufgrund des einzelnen Parameters, der sowohl die unspezifischen als auch spezifischen Wechselwirkungen beschreibt, praktisch nicht möglich.^[89]

Zur Beschreibung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Referenzfarbstoff und Lösungsmittel werden Multiparameter-Skalen benötigt. Die zwei Hauptvertreter sind die Kamlet-Taft-Skala und die Catalán-Skala.^[75,90–96]

$$\text{Kamlet-Taft-Skala:} \quad Y = Y_0 + a \cdot \alpha + b \cdot \beta + p \cdot \pi^* \quad (24)$$

$$\text{Catalán-Skala:} \quad Y = Y_0 + a' \cdot SA + b' \cdot SB + c \cdot SP + d \cdot SdP \quad (25)$$

Beide Skalen beschreiben eine lösungsmittelabhängige physikalisch-chemische Größe Y in Abhängigkeit der einzelnen Lösungsmittelparameter. In der Spektroskopie ist dies gemeinhin die Lage des Absorptions- oder Fluoreszenzspektrums. Y_0 steht für den Wert der physikalischen Messgröße in der Gasphase. α bzw. SA ist die Fähigkeit des Lösungsmittels als Donor für eine Wasserstoffbrückenbindung zu dienen, während β bzw. SB entsprechend für die Fähigkeit als Akzeptor einer Wasserstoffbrückenbindung zu fungieren steht. Somit sind α/SA bzw. β/SB empirische Werte für den aziden bzw. basischen Charakter des Lösungsmittels. Der Parameter π^* beinhaltet dagegen die Polarisierbarkeit und Dipolarität des Solvens und adressiert somit die nicht-spezifischen Wechselwirkungen. In der Catalán-Skala werden diese beiden Eigenschaften nochmals unterteilt in die Parameter SP für die Polarisierbarkeit und SdP für die Dipolarität des Lösungsmittels. Den Parametern sind definierte Werte für bestimmte spektrale Lagen eines Referenzfarbstoffes zugeordnet. So ist beispielsweise π^* für die Lage des Referenzspektrums in Cyclohexan als 0 und in Dimethylsulfoxid als 1 definiert. Als Referenz werden hier zweifach substituierte Benzolderivate verwendet.^[97] In einer Solvatochromie-Studie eines Farbstoffes können die Multiparameter-Skalen zunächst durch geschickte Auswahl der Lösungsmittel oder Verwendung eines Farbstoffderivates vereinfacht werden. So wird immer nur ein Parameter verändert und dadurch die Bestimmung des jeweiligen Vorfaktors (a/a' , b/b' , c , d und p) möglich. Diese beschreiben den Beitrag des jeweiligen Parametereinflusses an der Solvatochromie des Farbstoffes. Ist einer bestimmt, wird unter passenden Bedingungen mit einem weiteren fortgefahren. Die Vorfaktoren können dann zur Charakterisierung des Farbstoffes herangezogen werden. Im Zusammenhang mit Photosäuren und Protonentransfer-Reaktionen wurde in der Vergangenheit insbesondere die Kamlet-Taft-Skala erfolgreich angewandt.^[71] Angemerkt sei, dass diese Skalen lediglich auf Lösungsmittel anwendbar sind, in denen der jeweilige Referenzfarbstoff löslich bzw. chemisch stabil ist. Stark azide Lösungsmittel, wie beispielsweise konzentrierte Schwefelsäure (siehe Kapitel 5.1), entziehen sich daher einer solchen Beschreibung oft.

Nicht-polare Solvation

Zur Vollständigkeit sollen zuletzt die unspezifischen Wechselwirkungen von unpolaren Lösungsmitteln bzw. unpolaren molekularen Sonden kurz erläutert werden. In diesen Fällen ist der Dipolcharakter jeweils verschwindend gering, was als Extremfall der bereits beschriebenen polaren Solvation angesehen werden kann. Ist von einer unpolaren molekularen Sonde auszugehen, welche von einem ebenfalls unpolaren Lösungsmittel umgeben ist, tragen lediglich London-Dispersionskräfte zur Solvation bei. In Abhängigkeit von $f(n)$ führen diese zu kleinen bathochromen Verschiebungen der Absorptions- bzw. Fluoreszenzspektren.^[68,69] Für unpolare Farbstoffmoleküle in polaren Lösungsmitteln ist die Situation identisch, da keine signifikante Neuorientierung der Lösungsmittelmoleküle erfolgt. Im Falle von polaren molekularen Sonden in unpolaren Lösungsmitteln erfolgt dagegen die Solvation sowohl durch London-Dispersionskräfte als auch durch Dipol-induzierte Dipole. Analog zur bereits beschriebenen polaren Solvation folgt dadurch für $|\vec{\mu}_E| > |\vec{\mu}_G|$ eine bathochrome und für $|\vec{\mu}_E| < |\vec{\mu}_G|$ eine hypsochrome Verschiebung der Spektren in Abhängigkeit von $f(n)$ und $\vec{\mu}$.^[54]

2.2. Protonentransfer und Photosäuren

Die Untersuchung des Mechanismus von Protonentransferreaktionen ist eng verknüpft mit der Entwicklung und Verwendung von sogenannten Photosäuren. Photosäuren sind Moleküle, deren Azidität im elektronisch angeregten Zustand, d. h. durch Absorption eines Photons, zunimmt. Dies wird als Photoazidität bezeichnet. Gemeinsames Strukturmotiv der Photosäuren ist eine funktionelle Gruppe mit azidem Proton an einem aromatischen Grundgerüst. Typische Vertreter sind Phenole, Pyrenole oder Naphthole, aber auch Ammoniumpyrene und Ammoniumnaphthaline (Abbildung 3). Im Folgenden werden allgemeine Konzepte des Protonentransfers und der Photoazidität stellvertretend für alle Photosäureklassen anhand von Hydroxy-Photosäuren behandelt und somit die Säureform mit ROH und die korrespondierende Basenform mit RO⁻ abgekürzt.

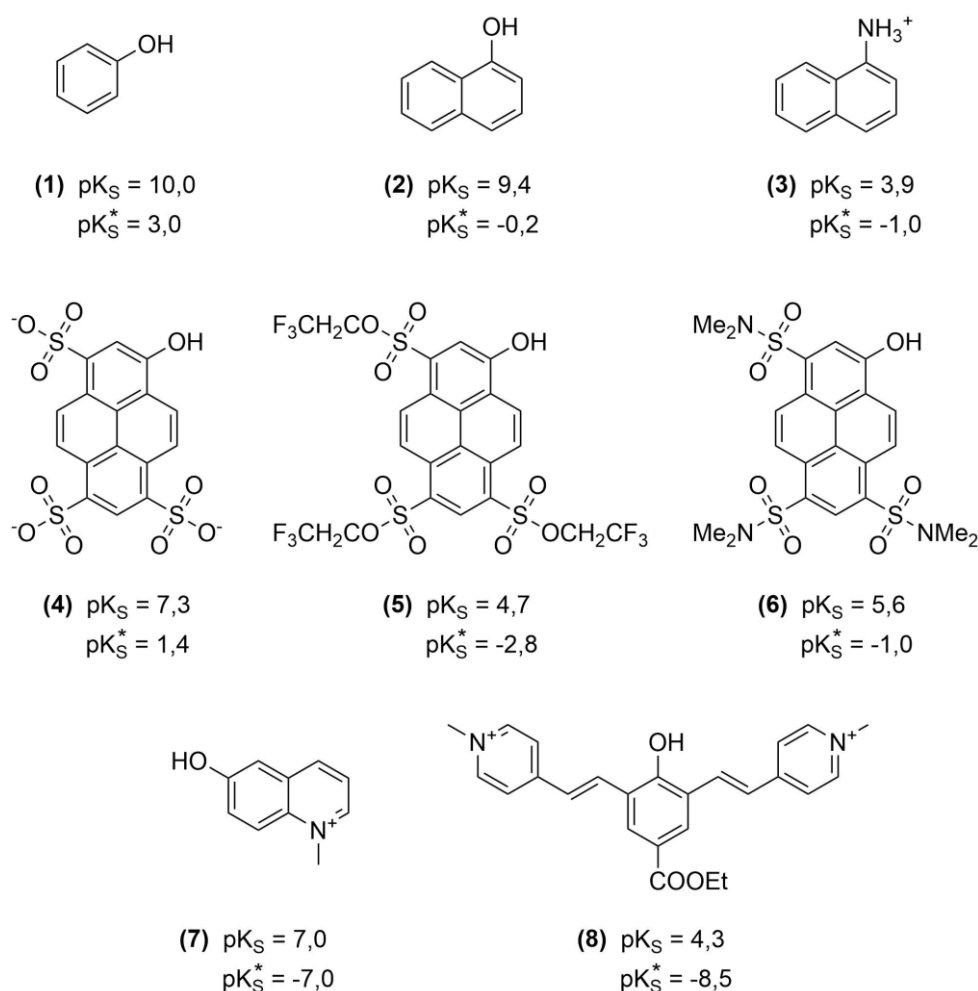


Abbildung 3: Typische Vertreter von Photosäuren und deren pK_S -Werte: (1) Phenol^[98,99], (2) 1-Naphthol^[100,101], (3) 1-Naphthylammonium^[102], (4) 8-Hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat (Pyranin, HPTS)^[103], (5) Tris(2,2,2-trifluoroethyl)-8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat^[104], (6) 8-Hydroxy-*N,N,N',N',N'',N'''*-hexamethylpyren-1,3,6-trisulfonamid (HPTA)^[104], (7) *N*-Methyl-6-hydroxyquinolinium (NM6HQ⁺)^[105,106], (8) Chinoncyanin 9 (QCy9)^[107].

Förster-Zyklus

Im Jahr 1931 wurde von Weber^[108] erstmals das aus der Photoazidität resultierende Phänomen des *excited-state proton transfer* (ESPT) beobachtet, welches die markante Eigenschaft aller Photosäuren ist. Während die Fluoreszenzspektren von 4-Naphthylamin-1-sulfonat eine pH-Abhängigkeit zeigten, blieben die Absorptionsspektren gleich. Es dauerte jedoch fast weitere 20 Jahre bis diese Beobachtung durch Förster, in dem heute als Förster-Zyklus^[38,39] bekannten Modell, auch erklärt werden konnte (Abbildung 4).

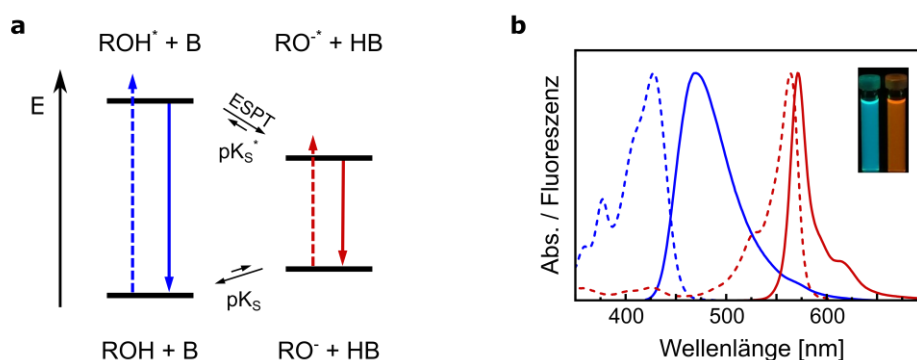


Abbildung 4: (a) Energieschema des Förster-Zyklus und (b) entsprechende Absorptions- (gestrichelt) und Fluoreszenzspektren (durchgezogen) der verschiedenen Spezies von Photosäure 5 in Acetonitril, mit entsprechenden Fotografien der Lösungen unter UV-Bestrahlung (365 nm).

Durch elektronische Anregung der Säureform ändert sich die Azidität des Moleküls und somit das Säure-Base-Gleichgewicht im Vergleich zum Grundzustand. Bei Anwesenheit eines geeigneten Protonenakzeptors erfolgt ein Protonentransfer im angeregten Zustand (ESPT) und hinterlässt die elektronisch angeregte Basenform der Photosäure. Die Effektivität dieses ESPT Prozesses, d. h. die Lage des Säure-Base-Gleichgewichtes, hängt von der Stärke der jeweiligen Photosäure bzw. dem Protonenakzeptor ab. Im Falle starker Photosäuren wie 8-Hydroxy-*N,N,N',N',N'',N''*-hexamethylpyren-1,3,6-trisulfonamid (HPTA), *N*-Methyl-6-hydroxychinolinium (NM6HQ⁺), 5-Cyano-1-naphthol oder Chinoncyanin 9 (QCy9) kann die Ratenkonstante des ESPT in Wasser 10^{11} bis 10^{13} s^{-1} erreichen.^[109,110] Die darauffolgende spontane Emission der Basenform ist zur Säureform hin bathochrom verschoben, was im intramolekularen Ladungstransfer begründet liegt, welcher im folgenden Abschnitt näher erläutert wird. Wieder im elektronischen Grundzustand angekommen ändert sich das Säure-Base-Gleichgewicht erneut und die Basenform wird in der Regel reprotoniert. Durch die Erkenntnisse von Förster entwickelte sich in den darauffolgenden Jahrzehnten die Klasse der Photosäuren zum wichtigsten Modellsystem für Untersuchungen von Protonentransferreaktionen.

Die Differenz ΔpK_S zwischen den pK_S -Werten des Grundzustandes und des angeregten Zustandes kann mit Hilfe von Gleichung (26) und den Energien für die 0-0-Übergänge $h\nu_{RO^-}$ und $h\nu_{ROH}$ berechnet werden:^[39,111–113]

$$\Delta pK_S = \frac{h\nu_{RO^-} - h\nu_{ROH}}{k_b T \cdot \ln(10)} \quad (26)$$

Die stärksten Photosäuren erreichen eine Differenz von bis zu 14 Größenordnungen, wie beispielsweise im Falle von NM6HQ⁺ mit $pK_S = 7.0$ und $pK_S^* = -7.0$ oder QCy9 mit $pK_S = 4.3$ und $pK_S^* = -8.5$.^[106,114–116] Durch verschieden starke elektronenziehende Substituenten, beschrieben durch den Hammett-Koeffizienten^[117], kann die Stärke der Photoazidität beeinflusst werden.^[104] Sinkt der pK_S -Wert im angeregten Zustand (pK_S^*) unter null, wird von einer Super-Photosäure gesprochen.

Hintergrund der Photoazidität

Der Grund für die erhöhte Azidität im elektronisch angeregten Zustand ist auch 70 Jahre nach Förster noch Gegenstand aktueller Forschung. Bereits 1952 postulierte Weller^[111] einen intramolekularen Ladungstransfer (engl. *intramolecular charge transfer*, ICT) als Ursache der Photoazidität. Bei denen von ihm untersuchten Naphthol-Derivaten ging er, sowohl für die elektronisch angeregte neutrale Form (ROH^*) als auch für die elektronisch angeregte anionische Form (RO^*), von einem $n\text{-}\pi^*$ -Übergang^[118] aus. Dieser, so angenommen, würde die Abspaltung des Protons erleichtern. Die Elektronendichte im Molekül wird durch die elektronische Anregung umverteilt und vom Hydroxyl-Sauerstoff in den aromatischen Ring transferiert. Im Falle von ROH^* wird die O-H-Bindung geschwächt, wohingegen für RO^* von einer Begünstigung des C=O-Doppelbindungscharakters ausgegangen werden kann. Letzteres führt zu einer ausgeprägten energetischen Stabilisierung der konjugierten Base, was die hohe bathochrome Verschiebung zur Folge hat. Diese Positivierung des Sauerstoffs konnte durch differenzielle Solvatochromie, semiempirische Rechnungen und *ab-initio* Rechnungen bestätigt werden.^[40,119,120] Hierbei scheinen sich Naphthol- und Pyrenol-Derivate jedoch voneinander zu unterscheiden. Im Falle von Naphthol-Derivaten ist der ICT auf der Produktseite, d. h. auf der Seite des Anions, ausgeprägter als auf Seiten der neutralen Form ROH^* . In Pyrenol-Derivaten hingegen wurde beobachtet, dass das Anion RO^- während der Anregung kaum eine Änderung des permanenten Dipolmoments, und somit kaum eine Änderung der Elektronendichte erfährt.^[71] Dies spricht für einen hauptsächlich auf der Eduktseite liegenden ICT. Je nach Art der Photosäure ist die Ausprägung des ICT also entweder vor oder nach dem ESPT stärker, was nochmals durch Arbeiten von Fayer^[121,122] *et al.* bestätigt werden konnte.

Somit ergeben sich zwei im Detail leicht unterschiedliche Gründe für die Photoazidität, deren jeweilige Gültigkeit abhängig von der betrachteten Photosäure ist. Durch die teilweise unterschiedlichen Beobachtungen je nach verwendeter Photosäure hat sich bis heute kein allgemeingültiges Bild ergeben. An dieser Stelle sei auf die Übersicht von Kumpulainen *et al.* verwiesen, welche die verschiedenen Arbeiten zu diesem Thema ausführlich behandelt.^[41]

Mechanismus des Protonentransfers

Im Falle des oben behandelten Förster-Zyklus wird der Protonentransfer im klassischen Modell der Brønsted-Lowry-Theorie^[123–127] beschrieben. Hier findet der Übertrag des Protons von einem Protonendonator (Säure, ROH) direkt auf einen Protonenakzeptor (Base, B) statt. Eigen^[128] und Weller^[111,129–131] ergänzten das Modell durch den reaktiven Komplex (CPX) und das wasserstoffbrückengebundene Ionenpaar (engl. *hydrogen-bonded ion pair*, HBIP), welche die Zwischenschritte des Protonentransfers darstellen. Mittels Ultrakurzzeitspektroskopie konnten diese Intermediate bereits in zahlreichen Publikationen nachgewiesen werden.^[132–136] Huppert und Pines untersuchten 1986 mittels zeitaufgelöster Spektroskopie die Dissoziationsdynamik des gebildeten Ionenpaars (HBIP) und beobachteten eine langsame nicht-exponentielle Kinetik des Fluoreszenzzerfalls von HPTS in Wasser.^[137,138] Sie vermuteten, dass die geminante Rekombination diesen Effekt auf die Zerfallskurve hat. Zwei Jahre später konnten sie zusammen mit Agmon^[103] die nicht-exponentielle Kinetik auflösen: Die Diffusionsbewegung für den größer werdenden Abstand der Ionen wurde mit Hilfe der numerischen Lösung der Debye-Smoluchowski-Gleichung (DSE)^[139,140] berechnet und folgte darin einem $t^{-3/2}$ -Zerfallsgesetz.^[141] Die geminante Rekombination spielte in der Tat eine wichtige Rolle, was auf das vierfach negativ geladene HPTS zurückzuführen ist. Die hohe Ladung sorgt für eine starke Coulomb-Anziehung zwischen den Ionen, wodurch die vollständige Dissoziation erschwert wird. Huppert^[142,143] *et al.* beschrieben 2005 daraufhin ein verfeinertes Modell, in dem die nicht-exponentielle Kinetik mittels eines zusätzlichen Intermediates erklärt wurde: das solvensseparierte Ionenpaar (engl. *solvent-separated ion pair*,SSIP). In dieser Spezies sind die Ionen durch einige wenige Lösungsmittelmoleküle voneinander getrennt, spüren jedoch noch die gegenseitige Anziehung der Coulombkraft. Danach dissoziieren die Ionen weiter, bis sie als sogenanntes vollständig getrenntes Ionenpaar (engl. *fully separated ion pair*, FSIP) keinerlei Coulomb-Wechselwirkungen mehr untereinander spüren.

Unter Berücksichtigung all dieser Studien hat sich heutzutage ein vierstufiges Modell für den Protonentransfermechanismus, auch Eigen-Weller-Modell genannt, etabliert (Abbildung 5). Das einzelne Säuremolekül ROH bildet mit dem Protonenakzeptor B zunächst den reaktiven Komplex CPX. Daraufhin erfolgt der elementare Protonentransferschritt unter Bildung des

wasserstoffgebundenen Ionenpaars HBIP. Die Dissoziation erfolgt in zwei Schritten über das solvensseparierte Ionenpaar SSIP und das vollständig getrennte Ionenpaar FSIP.

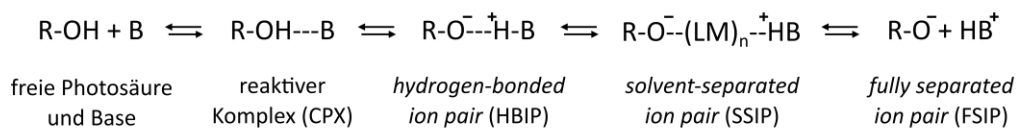


Abbildung 5: Eigen-Weller-Modell für den vierstufigen Protonentransfermechanismus.

In den letzten Jahren wurde dieses Bild noch ergänzt. Durch Ultrakurzzeitspektroskopie konnte gezeigt werden, dass die Dynamik des elementaren Protonentransferschrittes der Solvationsdynamik des Lösungsmittels folgt und somit solvationskontrolliert abläuft.^[6–9] Dies wird auch in der vorliegenden Arbeit nochmals bestätigt werden (siehe Kapitel 5.3). Solntsev^[7] *et al.* konnten die daraus resultierende Temperaturabhängigkeit nachweisen: Je höher die Temperatur, desto schneller ist die Solvationsdynamik und damit die Ratenkonstante des ESPT, bis diese schließlich nur noch von der Aktivierungsenergie abhängt.

Es sei erwähnt, dass in der Literatur teilweise auch Übergänge zwischen den elektronisch angeregten Zuständen $^1\text{L}_a$ und $^1\text{L}_b$ als bestimmender Schritt für den Protonentransfer diskutiert werden. Diese Zustände sind durch die Platt-Notation^[144] definiert, in der die Indizes a und b die Lage der Übergangsdipolmomente beschreiben, welche in der Regel entlang der kurzen ($^1\text{L}_b$) oder langen ($^1\text{L}_a$) Symmetrieachse des Moleküls verlaufen. Mit Einschränkungen können diese oft dem ersten oder zweiten elektronisch angeregten Zustand (S_1 , S_2) zugeordnet werden. Die Relevanz von Übergängen zwischen solchen Zuständen muss für den Protonentransfer jedoch differenziert betrachtet werden: Für 1-Naphthol legten beispielsweise Pines^[145] *et al.* einen lösungsmittelabhängigen $^1\text{L}_b \rightarrow ^1\text{L}_a$ -Übergang nach der Anregung nahe, dem dann erst der elementare Protonentransferschritt folgt. Während Tran-Thi^[146–148] *et al.* dies auch für HPTS vorschlugen, zeigten Nibbering^[149] *et al.* hingegen, dass für HPTS die Anregung bereits in einen Zustand mit gemischtem $^1\text{L}_a/^1\text{L}_b$ -Charakter zu erfolgen scheint. Daraus erfolgt dann der Protonentransfer ohne weiteren Zwischenschritt. Die Annahme, dass für neutrale Pyrenol-Derivate kein weiterer Übergang zwischen $^1\text{L}_a$ und $^1\text{L}_b$ stattfindet, wird durch die Studien von Pines^[150] *et al.* und Jung^[71,113] *et al.* gestützt. Für die Pyrenol-Systeme der hier vorliegenden Arbeit können dadurch solche Übergänge als nicht relevant angesehen werden. Auf eine detailliertere Ausführung wird daher verzichtet. Generell zeigt sich aber, dass ein einheitliches Bild schwierig ist, da auch Abhängigkeiten der beschriebenen Übergänge vom jeweiligen Protonenakzeptor beobachtet wurden.^[151] Für eine Übersicht über Arbeiten, welche sich mit solchen möglichen $^1\text{L}_b \rightarrow ^1\text{L}_a$ -Übergängen befassen, soll auf die Literatur verwiesen werden.^[41,152–154]

Protonenakzeptoren

Grundvoraussetzung für den ESPT ist die Anwesenheit eines geeigneten Protonenakzeptors. Die meisten Studien verwenden dafür Wasser, welches durch Wasserstoffbrückenbindungen und den Grotthuß-Mechanismus das freiwerdende Proton besonders gut stabilisiert und die Ladungstrennung vereinfacht.^[38,39,103,133,142,143] Solvatisiert liegt das Proton dann beispielsweise als Eigen-Ion (H_9O_4^+)^[128] oder Zundel-Ion (H_5O_2^+)^[155] vor. Für zeitaufgelöste Untersuchungen des Protonentransfers stellt jedoch die daraus resultierende sehr kurze Zeitskala (ps/fs-Bereich), in der der ESPT im wässrigen Milieu abläuft, eine Herausforderung dar und ist mit einem hohen experimentellen Aufwand verbunden. Ebenso verhält es sich mit einem alternativen Konzept, dem *excited-state intramolecular proton transfer* (ESIPT).^[41,156–162] Hier dient eine basische funktionelle Gruppe der Photosäure selbst als Akzeptor und nimmt das freiwerdende Proton auf. In der Regel sind diese intramolekularen Donor-Akzeptor-Systeme bereits in einer günstigen geometrischen Lage zueinander, was den Protonentransfer zusätzlich vereinfacht. Eine Verlangsamung des ESPT, und somit eine einfachere experimentelle Beobachtung, kann beispielsweise durch die Verwendung von Alkoholen oder DMSO erzielt werden.^[9,89,163] Ein Nachteil dieser Akzeptoren sind jedoch die geringen β -Werte nach der Kamlet-Taft-Skala.^[75] Für Untersuchungen in aprotischen Lösungsmitteln, in denen der Protonenakzeptor nicht gleichzeitig auch das Lösungsmittel ist, sollte die Photosäure mit dem Akzeptor idealerweise bereits im Grundzustand komplexiert sein (siehe Kapitel 4). Dadurch wird die Anwesenheit eines Protonenakzeptors im angeregten Zustand gewährleistet. Je höher der β -Wert des Akzeptors, desto größer seine Fähigkeit eine Wasserstoffbrückenbindung einzugehen und desto stärker die Komplexierung. In der Vergangenheit wurden dafür beispielsweise Imidazole oder auch 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eingesetzt.^[164,165] Eine neue Möglichkeit bieten hier Phosphinoxide, deren Verwendung als Protonenakzeptor und Photosäure-Ligand im Folgenden beschrieben wird (siehe Kapitel 5.2 und 5.3). Diese Stoffklasse bietet im Vergleich zu Alkoholen, Imidazolen oder DMSO nochmals deutlich größere β -Werte (Tabelle 2) und wäre zusätzlich, wie DMSO, gut durch IR-spektroskopische Experimente beobachtbar.

Tabelle 2: Vergleich der β -Werte von ausgewählten Protonenakzeptoren (Kamlet-Taft-Skala)^[75]

	β -Wert
Methanol	0,62
Dimethylsulfoxid	0,76
1-Methylimidazol	0,82
Tri-n-methylphosphinoxid	1,02

Marcus-Theorie, invertierter Bereich und kinetischer Isotopeneffekt

Eine alternative Möglichkeit zur Beschreibung des Protonentransfers beruht auf der Marcus-Theorie.^[166–169] Diese beschreibt ursprünglich nichtadiabatische Elektronentransferreaktionen in Korrelation mit der freien Enthalpie ΔG , auch Gibbs-Energie genannt. Der Elektronentransfer (ET) ist ein aktivierter Prozess, dessen Ratenkonstante k_{ET} durch die Arrhenius-Gleichung gegeben ist:

$$k_{ET} = A \cdot \exp\left(-\frac{\Delta E}{k_b T}\right) \quad (27)$$

Die Potentiale von Edukt und Produkt werden jeweils durch eine Parabel entlang der Reaktionskoordinate beschrieben und können vertikal und horizontal zueinander verschoben sein (Abbildung 6). Die horizontale Verschiebung erfolgt aufgrund der unterschiedlichen Gleichgewichtslage bezüglich der Geometrie von Edukt und Produkt und wird durch die Reorganisationsenergie λ_s quantifiziert. Diese Energie setzt sich zusammen aus dem Lösungsmittelbeitrag und Beiträgen intramolekularer Moden. Die vertikale Verschiebung der Parabeln wird hingegen durch die treibende Kraft der Reaktion, d. h. durch die Gibbs-Energie ΔG , beschrieben.

Entlang der Reaktionskoordinate RK erfolgt der Elektronentransfer über die Aktivierungsenergie ΔE , welche gegeben ist durch:^[41]

$$\Delta E = \frac{(\Delta G + \lambda_s)^2}{4\lambda_s} \quad (28)$$

Für Gleichung (27) folgt daraus:

$$k_{ET} = A \cdot \exp\left(-\frac{(\Delta G + \lambda_s)^2}{4\lambda_s \cdot k_b T}\right) \quad (29)$$

Aus dem Modell ergeben sich drei unterschiedliche Bereiche (siehe dazu Gleichung (28) und Abbildung 6):

- Der normale Bereich mit $-\Delta G < \lambda_s$: Einer Zunahme der treibenden Kraft folgt eine Zunahme der Ratenkonstante k_{ET} .
- Der barrierefreie Bereich mit $-\Delta G \approx \lambda_s$: k_{ET} erreicht den maximalen Wert.
- Der invertierte Bereich mit $-\Delta G > \lambda_s$: Einer Zunahme der treibenden Kraft folgt eine Abnahme der Ratenkonstante k_{ET} .

Eine fortwährende Zunahme der treibenden Kraft hat demzufolge so lange eine Beschleunigung des Elektronentransfers zur Folge, bis ein Maximalwert erreicht wird. Danach allerdings führt

eine weitere Zunahme der treibenden Kraft wieder zu einer Verlangsamung der Reaktion, was als invertierter Bereich bezeichnet wird. Für Elektronentransferreaktionen konnte dieser invertierte Bereich bereits nachgewiesen werden.^[170]

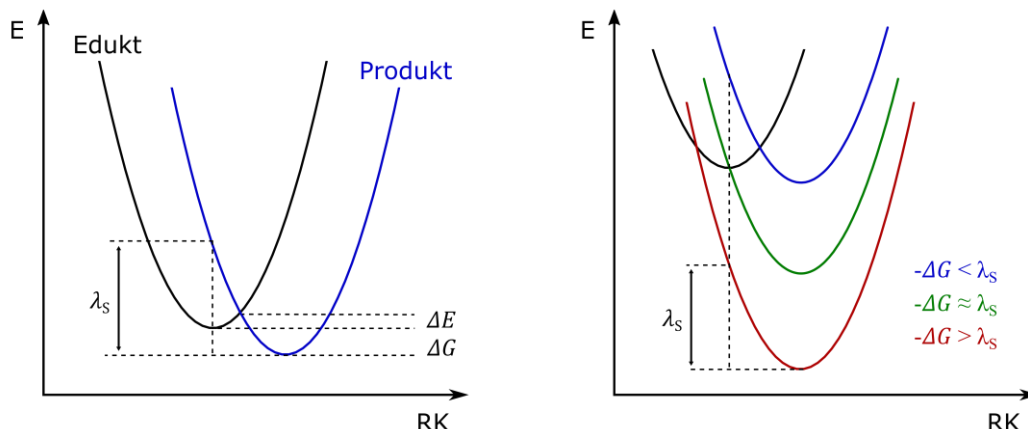


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Potentialkurven in der Marcus-Theorie. Links die Potentialkurven für Edukt und Produkt für den normalen Bereich ($-\Delta G < \lambda_s$) und rechts die Veranschaulichung des Übergangs in den barrierefreien ($-\Delta G \approx \lambda_s$) und invertierten Bereich ($-\Delta G > \lambda_s$). In Letzterem steigt trotz zunehmender treibender Kraft die Aktivierungsenergie ΔE wieder an. Die Reaktionskoordinate RK beinhaltet sowohl Lösungsmittelmoden als auch intramolekulare Moden.

Protonentransferreaktionen und Elektronentransferreaktionen sind eng miteinander verwandt, handelt es sich doch bei beiden um den Transfer einer Elementarladung. Das Modell von Marcus wurde daher in den letzten Jahrzehnten in mehreren Ansätzen auf Protonentransferreaktionen übertragen.^[171–178] Hervorzuheben sind die Arbeiten von Hynes^[179,180] *et al.*, deren strikte quantenmechanische Beschreibung des Protons nur leichte Abweichungen von der Marcus-Theorie aufzeigten. Sie demonstrierten damit, dass die Marcus-Theorie trotz ihrer Vereinfachungen als ein valides Modell für den Protonentransfer angesehen werden kann. Nach der Beschreibung von Hynes erfolgt der Protonentransfer entlang der Lösungsmittelkoordinate, in der hauptsächlich die Reorganisation des Lösungsmittels die Aktivierungsbarriere bestimmt. Zusätzlich muss jedoch auch die Protonenkoordinate q , d. h. die Lage des Protons entlang der Wasserstoffbrückenbindung, betrachtet werden. Zwei verschiedene Fälle wurden hier identifiziert: den des adiabatischen und den des nichtadiabatischen Protonentransfers.^[181–186]

In Abbildung 7 werden die entsprechenden Potentialkurven entlang der Protonenkoordinate für jeweils unterschiedliche Lösungsmittelkonfigurationen veranschaulicht. Im adiabatischen Fall verläuft der Protonentransfer entlang q barrierefrei (Abbildung 7a): Die vibrationellen Nullpunktsenergien von Edukt und Produkt liegen über der Energiebarriere für die

Lösungsmittelkonfiguration des Übergangszustandes $R_{\text{ÜZ}}$. Im nichtadiabatischen Fall handelt es sich um einen Protonentransfer, dessen Energiebarriere entlang q stets höher liegt als die Nullpunktsenergien der Schwingungen (Abbildung 7b). Dies gilt vor allem für größere Abstände zwischen den schweren Atomen einer Wasserstoffbrückenbindung. Auch ein temperaturabhängiger Übergang zwischen adiabatisch und nichtadiabatisch ablaufendem Protonentransfer konnte experimentell gezeigt werden.^[182,183] Es soll jedoch nochmals darauf hingewiesen werden, dass in beiden Fällen entlang der Lösungsmittelkoordinate eine zusätzliche bestimmende Reaktionsbarriere existiert (Abbildung 7c).

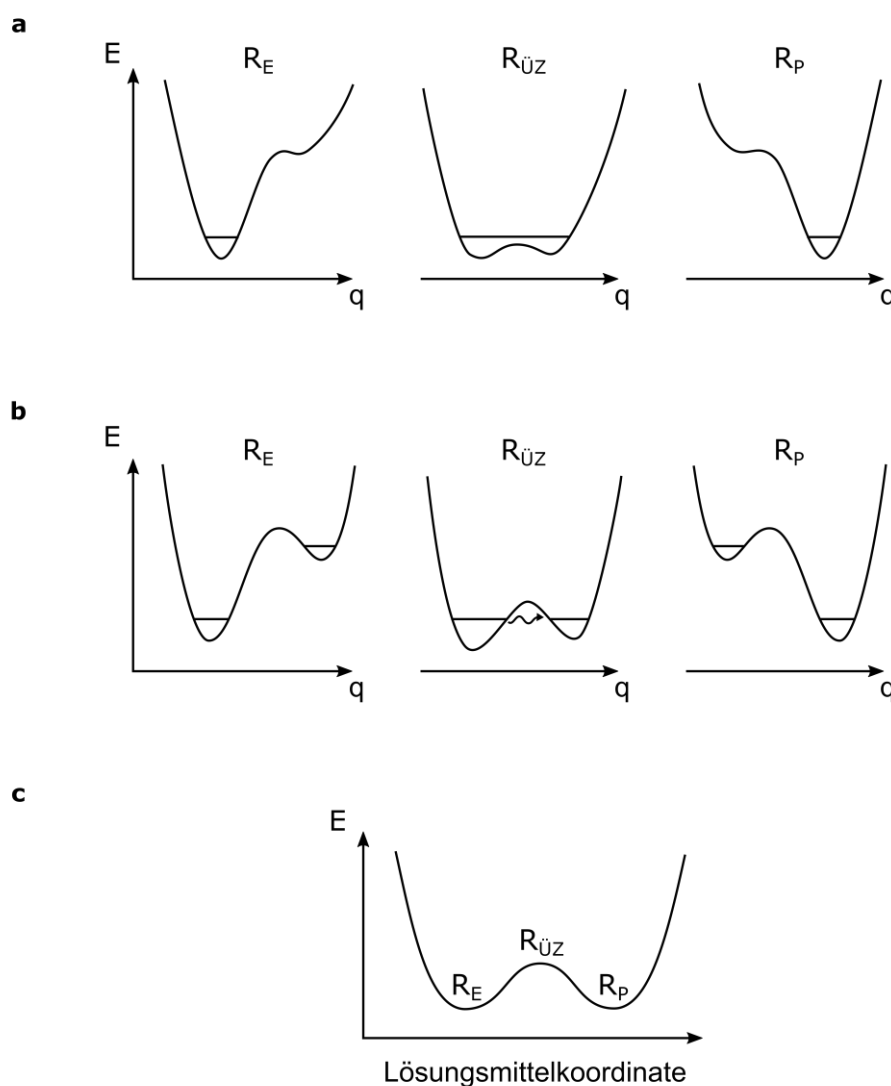


Abbildung 7: Veranschaulichung des (a) adiabatischen und (b) nichtadiabatischen Protonentransfers entlang der Protonenkoordinate q für unterschiedliche Lösungsmittelkonfigurationen R_i . Im Falle des nichtadiabatischen Prozesses ist die Übertragung des Protons lediglich durch Tunneln möglich. Für beide Prozesse existiert zusätzlich eine Energiebarriere entlang der Lösungsmittelkoordinate. Die entsprechende Potentialkurve ist in (c) aufgetragen und die jeweiligen Lösungsmittelkonfigurationen der Edukte (E), Übergangszustände (ÜZ) bzw. Produkte (P) aus (a) und (b) angegeben.

Das oben beschriebene Modell wurde auch zur Beschreibung des sogenannten kinetischen Isotopeneffekts entwickelt. Dieser beruht auf einer Besonderheit des Protonentransfers gegenüber dem Elektronentransfer: Die Möglichkeit eines H-D-Austausches durch Deuterierung, was beispielsweise später in Kapitel 5.1 Anwendung findet. Durch die Verwendung des schwereren Deuterons anstelle des Protons kommt es zu einer Absenkung der Nullpunktsschwingungsenergie um etwa einen Faktor $\sqrt{2}$.^[187–190] Eine Erhöhung der Aktivierungsenergie und damit eine Verlangsamung des Protonentransfers ist die Folge (Abbildung 8). Definiert ist der kinetische Isotopeneffekt KIE durch das Verhältnis der Ratenkonstanten k bzw. Fluoreszenzlebenszeiten τ :

$$KIE = \frac{k_{PT}^H}{k_{PT}^D} = \frac{\tau_{PT}^D}{\tau_{PT}^H} \quad (30)$$

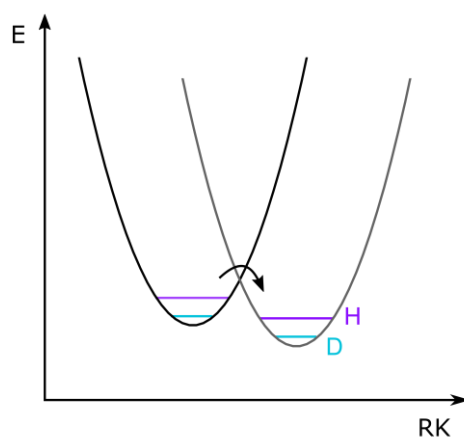


Abbildung 8: Veranschaulichung des kinetischen Isotopeneffekts (KIE) durch die jeweiligen Energieniveaus von Wasserstoff (H) und Deuterium (D). Durch die Deuterierung werden die Schwingungsnulldpunktsenergien abgesenkt und die Aktivierungsenergie erhöht.

Eine zweite Besonderheit gegenüber dem Elektronentransfer stellt die Verbindung zwischen Gibbs-Energie und Säurestärke dar:

$$\Delta G = RT \ln(10) \cdot pK_S \quad (31)$$

Für den in der Marcus-Theorie beschriebenen invertierten Bereich würde dies bedeuten, dass bei immer weiterer Erhöhung der Azidität die Ratenkonstante des Protonentransfers irgendwann ein Maximum erreicht und anschließend wieder langsamer wird (Abbildung 6). Für Protonentransferreaktionen ist dieser invertierte Bereich erst vereinzelt an Carbanionen oder Radikationenpaaren beobachtet worden.^[181,191] Für Photosäuren konnten jedoch noch keine

experimentellen Nachweise erzielt werden.^[40,89,114,115] Dies könnte daran liegen, dass die bisher stärksten bekannten Photosäuren^[105–107] allesamt Hydroxy-Photosäuren sind, für welche der Protonentransfer stets eine Ladungstrennung bedeutet. Ein alternativer Ansatz, welcher in Kapitel 5.1 verfolgt wird, ist die Verwendung von Ammonium-Photosäuren (RNH_3^+). Der Protonentransfer von einer solchen Photosäure zu einem Protonenakzeptor muss keine Ladungstrennung kompensieren. Er kann ganz im Gegenteil sogar zu einer Rekombination von Ladungen führen, ist der Akzeptor negativ geladen, und besitzt somit eine zusätzliche Triebkraft für den Protonentransfer. Daher könnten mit der Klasse der Ammonium-Photosäuren noch höhere Photoaziditäten möglich sein und so der invertierte Bereich mit Photosäuren zugänglich werden.

3. Methoden

3.1. Zeitaufgelöste Spektroskopie

In den letzten Jahrzehnten erwies sich die zeitaufgelöste Spektroskopie als entscheidendes Werkzeug zur Erfassung der Dynamiken von chemischen Reaktionen und Solvatationsprozessen.^[22,40,41,192] Methoden mit zeitlichem Auflösungsvermögen von wenigen Piko- bis Femtosekunden sind heutzutage weitestgehend etabliert und bereits kommerziell erhältlich. Dazu gehören vielseitige Verfahren beruhend auf UV/VIS-, IR- oder Raman-Spektroskopie. Hier soll jedoch nur kurz auf das grundlegende Messprinzip der in dieser Arbeit verwendeten Methoden eingegangen werden. Für weiterführende Literatur sei auf die angegebenen Referenzen verwiesen.^[61,193–197]

Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen - TCSPC

Das Messprinzip des zeitkorrelierten Einzelphotonenzählens (engl. *time correlated single photon counting*, TCSPC) wurde erstmals von Bollinger und Thomas^[198] 1961 vorgestellt und beruht auf einem einfachen Start-Stopp-Experiment (Abbildung 9a). Ein Laserpuls löst das Start-Signal des Experiments aus und regt den zu untersuchenden Fluorophor an. Dieser emittiert mit einer Verzögerung ein Photon, welches vom Detektor erfasst wird und als Stopp-Signal dient. Die gemessene Zeitdifferenz wird als Ereignis in einem Histogramm festgehalten. Dieses Histogramm ist in Zeitkanäle unterteilt, welche in der Regel eine Breite von wenigen ps besitzen. Üblicherweise werden für TCSPC-Experimente Pulsfrequenzen von 10-80 MHz verwendet, wodurch dieses Start-Stopp-Experiment mehrere Millionen Mal in der Sekunde durchgeführt wird. Die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Pulsen diktiert dabei auch das maximale Beobachtungsfenster.

Ist eine statistisch signifikante Anzahl von Ereignissen aufgenommen, kann das Histogramm durch die Signalfunktion $S(t)$ beschrieben werden, aus der die Zerfallszeiten der Fluoreszenz $\tau_{Fl,i}$ ermittelt werden können. Diese Signalfunktion ist eine Faltung der in der Regel (multi-)exponentiellen Fluoreszenzkinetik $I_{Fl}(t)$ und der instrumentellen Antwortfunktion $IRF(t)$:^[199,200]

$$S(t) = \int_0^t IRF(t') I_{Fl}(t - t') dt' \quad (32)$$

$$\text{mit } I_{Fl}(t) = \sum_i A_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_{Fl,i}}\right) \quad (33)$$

A_i steht für die Amplitude der Spezies i und dessen Anteil am Gesamtzerfall ($\sum_i A_i = 1$). Die Anpassung der Signalfunktion an die experimentellen Daten erfolgt durch einen Rekonvolutionsfit mit der durch eine Referenzmessung erhaltenen IRF (siehe Kapitel 5.1). Eine Alternative stellt das *Tailfitting* dar, bei dem nur die Zeitkanäle betrachtet werden, in denen die IRF nicht mehr zur Signalfunktion beiträgt.^[201]

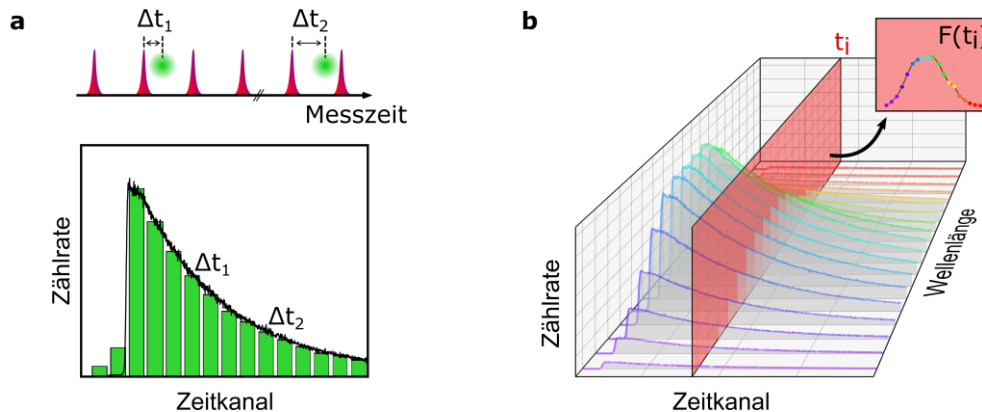


Abbildung 9: Veranschaulichung (a) des Messprinzips von TCSPC und (b) der daraus möglichen Rekonstruktion der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren. Jedes detektierte Fluoreszenzphoton wird mit der jeweiligen Zeitdifferenzen Δt zwischen Laserpuls und Ankunft des Photons am Detektor in ein Histogramm eingetragen. Dieses Histogramm entspricht der Faltung der Fluoreszenzkinetik mit der instrumentellen Antwortfunktion. Durch die Variation der Detektionswellenlänge kann ein Datensatz an TCSPC Kurven gewonnen werden, um die zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren $F(t_i)$ zu rekonstruieren. Diese entsprechen der jeweiligen Schnittebene entlang einem Zeitkanal t_i in der in (b) gezeigten dreidimensionalen Auftragung von Zählrate, Zeitkanal und Detektionswellenlänge.

Durch Messung der TCSPC Kurven bei verschiedenen Detektionswellenlängen ist es möglich, die zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren einer Probe zu rekonstruieren. Grundvoraussetzung ist eine gleiche Messdauer für alle Kurven, wodurch die Zählraten untereinander vergleichbar bleiben. Ist dies der Fall, entspricht in einer dreidimensionalen Auftragung von Zählrate, Zeitkanal und Detektionswellenlänge (Abbildung 9b) die Schnittebene entlang eines Zeitkanals t_i jeweils dem Fluoreszenzspektrum der Probe zu diesem Zeitpunkt t_i . Dadurch sind spektrale Veränderungen der Fluoreszenz zeitaufgelöst beobachtbar und eine spektral aufgelöste Untersuchung der Dynamiken möglich (siehe Kapitel 5.3).^[202–206]

Die Zeitauflösung von TCSPC Experimenten ist meist limitiert durch die Breite des verwendeten Laserpulses oder der Verarbeitungszeit der Elektronik und liegt typischerweise im Bereich von 10-200 ps.^[193] Eine höhere Zeitauflösung kann hingegen durch ultrakurzzeit-spektroskopische Methoden wie Fluoreszenz Up-Conversion oder transiente Absorption erreicht werden.

Transiente Absorption – TA

Bei der transienten Absorption (TA) handelt es sich um ein Pump-Probe-Experiment mit Hilfe zweier Laserpulse (Abbildung 10a). Die Probe wird durch einen monochromatischen Laserpuls (engl. *pump pulse*) angeregt, was den zu untersuchenden photochemischen bzw. photophysikalischen Prozess auslöst. Mit einer Zeitdifferenz Δt zum ersten Puls folgt zur Messung der Absorption ein zweiter, schwächerer Abfrage-Puls (engl. *probe pulse*). In TA-Anlagen mit Mehrkanaldetektion (CCD-Detektor) weist der zweite Laserpuls für gewöhnlich die spektrale Breite eines Weißlichtkontinuums auf. Dadurch wird eine simultane Detektion aller Wellenlängen ermöglicht (Breitband). In den angegebenen Differenzspektren wird die transiente Absorption (ΔA) aufgetragen, welche aus dem Absorptionsspektrum der angeregten Probe (A^*) und dem Absorptionsspektrum der nicht-angeregten Probe (A) berechnet wird:

$$\Delta A(\lambda, \Delta t) = A^*(\lambda, \Delta t) - A(\lambda, \Delta t) \quad (34)$$

Zusätzlich wird nach jeder Messung die Verzögerungszeit Δt variiert, wodurch die zeitliche Evolution der Spektren später rekonstruiert werden kann.^[207]

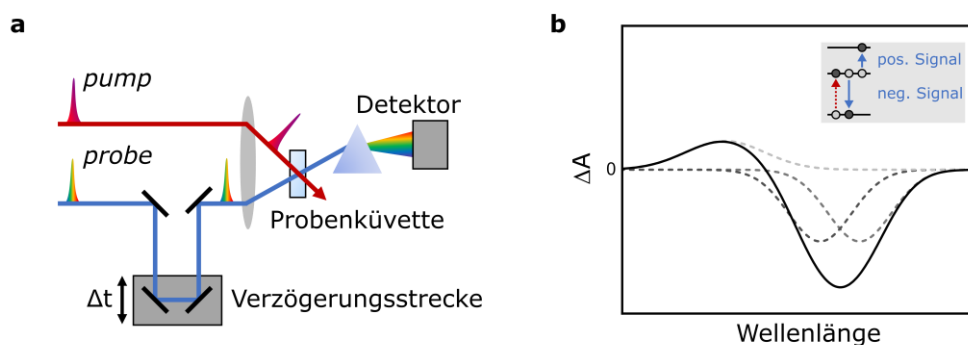


Abbildung 10: (a) Veranschaulichung des Messprinzips der transienten Absorption: Ein monochromatischer Anregungspuls (pump) regt die zu untersuchende Probe an, während durch ein Abfragepuls (probe) mit Weißlichtkontinuum die Absorption der Probe nach einer Verzögerungszeit Δt gemessen wird. (b) schematische Darstellung eines Beispiel-Differenzspektrums und dessen Zusammensetzung aus negativen und positiven Beiträgen (siehe Text). Die transiente Absorption ΔA entspricht der Differenz zwischen der Absorption von angeregter Probe zum Zeitpunkt Δt und nicht-angeregter Probe.

Allgemein kann ein Differenzspektrum Beiträge verschiedenster Prozesse aufweisen, welche im Folgenden näher erläutert werden sollen (Abbildung 10b).^[208] Der erste Prozess ist das sogenannte Grundzustandsbleichen (engl. *ground-state bleaching*). Da durch den ersten Laserpuls ein Teil der Chromophore angeregt wird, wird deren Anzahl im Grundzustand verringert. Daher ist die Grundzustandsabsorption der angeregten Probe geringer als die Absorption der nicht-angeregten Probe. Dies hat im Differenzspektrum ein negatives Signal in

Form der Absorptionsbande zur Folge. Der zweite Beitrag erfolgt durch stimulierte Emission (SE). Diese wird durch den Abfrage-Puls ausgelöst und führt zu einem geringeren Absorptionssignal für die angeregte Probe, was folglich zu einem negativen Signal im Differenzspektrum führt. Die stimulierte Emission ist vergleichbar mit der spontanen Emission der jeweiligen Spezies¹ und damit im Vergleich zum Grundzustandsbleichen rotverschoben.^[209] Die dritte Möglichkeit ist die der Absorption im angeregten Zustand (engl. *excited-state absorption*, ESA). Durch den Abfrage-Puls erfolgt die zusätzliche Anregung des Chromophors aus S_1 in einen höheren angeregten Zustand (S_2, S_3, \dots). Das Absorptionssignal für die angeregte Probe nimmt dadurch zu, wodurch ein positives Signal im Differenzspektrum folgt. Zuletzt können zum Differenzspektrum Prozesse beitragen, die unter dem Begriff „Produktabsorption“ zusammengefasst werden können. Dabei handelt es sich beispielsweise um die Absorptionsbanden von Triplett-Zuständen, Isomeren oder ladungstrennten Zuständen. Allgemein sind es die Produkte, die erst durch die elektronische Anregung der Probe entstehen. Sie führen ebenfalls zu einem größeren Absorptionssignal der angeregten Probe und damit zu einem positiven Signal im Differenzspektrum.

Die Vorteile der transienten Absorption liegen in der hohen Zeitauflösung von bis zu wenigen Femtosekunden, dem großen dynamischen Bereich und der Detektion von sowohl emittierenden als auch nicht-emittierenden Spezies. Letztere wären im Falle von Fluoreszenzmethoden lediglich als temporäre Dunkelzustände bemerkbar, sind hier allerdings durch ihre Absorptionsbanden direkt beobachtbar. Durch den großen dynamischen Bereich sind Prozesse von der Femtosekunden-Zeitskala bis zur Mikrosekunden-Zeitskala messbar. In der Vergangenheit konnten durch transiente Absorptionsmessungen beispielsweise sehr erfolgreich Solvationsprozesse^[22,210], chemische Reaktionen^[9,142,211], Konformationsänderungen^[212,213], Photosynthese-Systeme^[214,215] oder Elektronentransferreaktionen^[216,217] untersucht werden. Im Folgenden wird die Technik zur zeitaufgelösten Untersuchung des Protonentransfers verwendet (siehe Kapitel 5.3).

¹ Zum Vergleich mit der stimulierten Emission wird dabei das Fluoreszenzsignal der spontanen Emission mit λ^4 multipliziert.^[209]

3.2. Fluoreszenzmikroskopie einzelner Moleküle

Allgemein kann die Fluoreszenzmikroskopie aufgeteilt werden in die rasternden und die abbildenden Techniken. Zu Ersteren gehören beispielsweise die konfokalen Techniken, in denen der Anregungsstrahl direkt in die Probe fokussiert wird, während eine dem Detektor vorangestellte Lochblende das Beobachtungsvolumen auf nur wenige Femtoliter begrenzt. In diesen Methoden ist das Untergrundsignal daher sehr gering. Durch Abrastern der Probe wird dann das jeweilige Mikroskopiebild aufgebaut, was auch dreidimensionale Aufnahmen ermöglicht. Die abbildende Mikroskopie beschreibt dagegen Methoden, in denen der gesamte zu beobachtende Bereich der Probe simultan detektiert wird. Zu dieser Kategorie gehört die in dieser Arbeit verwendete interne Totalreflektionsfluoreszenzmikroskopie (engl. *total internal reflection fluorescence microscopy*, TIRF-Mikroskopie). Der Vorteil liegt in der geringeren Intensität im Fokus, was eine längere Lebensdauer der Fluorophore zur Folge hat und dadurch einen einfachen Zugang zur Detektion einzelner Moleküle bietet.^[218–221] Im folgenden Kapitel wird daher zunächst allgemein auf die Einzelmoleküldetektion eingegangen, bevor anschließend das Messprinzip der TIRF-Mikroskopie erläutert wird. Abschließend wird das Funktionsprinzip eines auf TIRF basierenden Einzelmolekülspektrometers erläutert.

Einzelmoleküldetektion

1989 gelangen Moerner^[222] *et al.* erstmalig die optische Detektion einzelner Moleküle in kondensierter Phase und eröffneten damit das Feld der optischen Einzelmoleküldetektion.^[223–228] Zusammen mit Hell und Betzig wurde Moerner für die darauffolgende Entwicklung der hochauflösenden Einzelmolekül-Fluoreszenzmikroskopie 2014 mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt.^[222,229–234] Zur Detektion einzelner Moleküle ist jedoch keineswegs zwingend eine Auflösung unterhalb des Abbe-Limits^[235] notwendig, wie sie in den Arbeiten von Hell, Betzig und Moerner erreicht wurde. Zur Unterscheidung zweier Moleküle muss lediglich ein Mindestabstand größer als etwa die halbe Wellenlänge gegeben sein. Alternativ, wie in einigen hochauflösenden Methoden angewandt, ist ebenfalls eine zeitliche Differenz der Detektion möglich.^[230,236,237] Im Falle der Reaktionsverfolgung einzelner Moleküle mittels Fluoreszenzmikroskopie kann Ersteres recht simpel durch eine geringe Konzentration der Fluorophore erreicht werden – auch wenn die Homogenität der Verteilung ein kritischer Parameter sein kann.^[238]

Zur Identifizierung einzelner Moleküle werden jeweils deren Intensitätsverläufe über die Zeit betrachtet. Handelt es sich um einen einfachen Chromophor, der unter Anregung lediglich

Photozyklen zwischen S_0 und S_1 durchläuft, ergibt sich ein konstantes Signal¹ bis zum abrupten, diskontinuierlichen Abfall durch Bleichen (Abbildung 11a). Dieses digitale, stufenförmige Verhalten der Intensität kann als Einzelmolekülnachweis herangezogen werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei oder mehr Moleküle simultan bleichen, wird als verschwindend gering erachtet.^[239–241] Im Falle von mehreren Molekülen geht der digitale Abfall zuerst in einen mehrstufigen Zerfall und schließlich in eine Exponentialfunktion über (Abbildung 11d). Sind neben dem einfachen Photozyklus zwischen zwei Zuständen dagegen noch weitere Übergänge möglich, kann es auch zur abrupten Intensitätsänderung bis hin zum vollständigen vorübergehenden Signalverlust kommen (Abbildung 11c und b).^[221,239,241–243] Ersteres kann durch Übergänge in andere emittierende Zustände ausgelöst werden und letzteres durch Übergänge in Dunkelzustände. Zu beachten ist, dass diese Phänomene abhängig von der verwendeten Detektionswellenlänge sind. Bleichprozesse werden dabei oft vom Blinken des Moleküls begleitet, was Gegenstand aktueller Forschung ist.^[243–245]

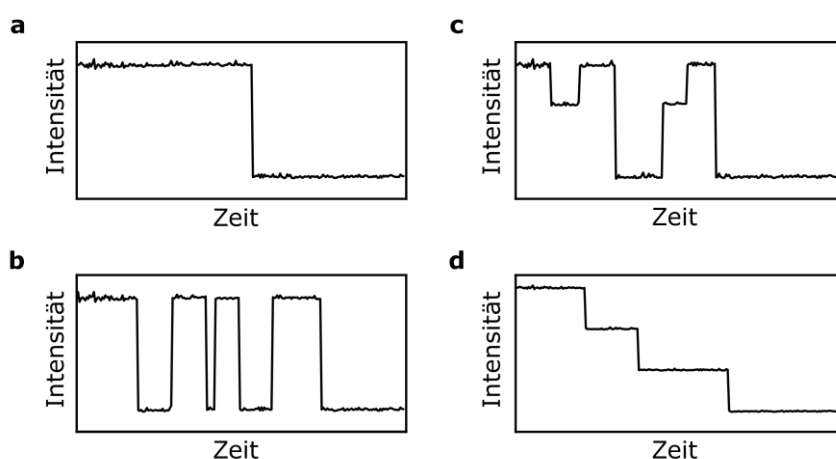


Abbildung 11: Beispielhafte Intensitätsverläufe einzelner Moleküle für (a) ein einfaches digitales Bleichverhalten, (b) ein blinkendes Molekül (Dunkelzustände) und (c) zusätzliche Übergänge in einen anderen emittierenden Zustand mit geringerer Intensität. In (d) ist dagegen der stufenartige Intensitätsverlauf im Falle von mehreren Molekülen gezeigt, welche nacheinander bleichen.

¹ Die einzelnen elektronischen Übergänge zwischen S_0 und S_1 liegen weit unter der Zeitauflösung des Experiments und können nicht aufgelöst werden.

Funktionsprinzip der TIRF Mikroskopie

Die TIRF Mikroskopie geht zurück auf Arbeiten von Hirschfeld^[246], Tweet^[247] und Carniglia^[248] in den 1960er und 70er Jahren und beruht auf der totalen Reflektion eines Anregungslaserstrahls an der Grenzfläche zur Probe. Totale Reflektion tritt dann an einer Grenzfläche auf, wenn der Einfallswinkel θ eines Lichtstrahls größer als der kritische Winkel θ_c ist (Abbildung 12):

$$\theta_c = \sin^{-1}\left(\frac{n_2}{n_1}\right) \quad (35)$$

n_1 ist der Brechungsindex des Mediums, durch welches der Anregungsstrahl die Grenzfläche erreicht und n_2 der Brechungsindex des Probenmediums. Auch wenn das Licht vollständig reflektiert wird, so durchdringt dennoch ein elektrisches Feld die Grenzfläche. Dieses wird auch evaneszentes Feld genannt und breitet sich parallel zur Grenzfläche aus. Die Intensität des Feldes $E(z)$ nimmt exponentiell mit der Distanz zur Grenzfläche z ab und ist gegeben durch:

$$E(z) = E(0) \cdot \exp\left(-\frac{z}{d}\right) \quad (36)$$

Dadurch, dass das evaneszente Feld die Frequenz des Anregungslichts beibehält, ist es in der Lage Farbstoffmoleküle in der Probe anzuregen. Die Anregung erfolgt jedoch aufgrund der geringen Eindringtiefe von typischerweise ~ 150 nm lediglich nahe der Grenzfläche, wodurch die TIRF Mikroskopie als sehr untergrundarme Methode gilt. Die Eindringtiefe d ist abhängig von den Brechungsindizes, dem Einfallswinkel θ und der verwendeten Wellenlänge λ und lässt sich für $\theta > \theta_c$ berechnen mit:

$$d = \frac{\lambda}{2\pi} \sqrt{n_1^2 \cdot \sin^2(\theta) - n_2^2} \quad (37)$$

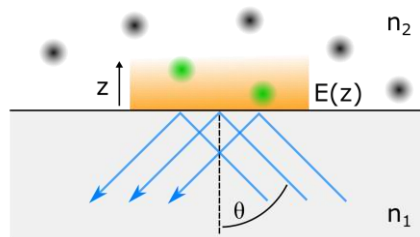


Abbildung 12: Veranschaulichung der totalen Reflexion eines Laserstrahls (blau) an einer Grenzfläche mit unterschiedlichen Brechungsindizes ($n_1 > n_2$). Ist der Einfallswinkel θ größer als der kritische Winkel θ_c (Gleichung (35)) wird der Laserstrahl an der Grenzfläche total reflektiert und es bildet sich das evaneszente Feld $E(z)$, welches in der Lage ist die Farbstoffmoleküle in der Probe anzuregen (grün). Die Intensität des Feldes nimmt dabei mit dem Abstand z senkrecht zur Grenzfläche exponentiell ab.

Zwei unterschiedliche Arten des Aufbaus sind in der TIRF-Mikroskopie üblich. Wird der Anregungslaser durch das Objektiv eingekoppelt, so handelt es sich um eine epifluoreszente Technik, welche *objective-type* TIRF-Mikroskopie genannt wird (Abbildung 13a). Der Laserstrahl wird dabei zunächst auf die rückseitige Fokalebene des Objektivs fokussiert. Nach dem Objektiv trifft der Laser dann auf die Grenzfläche zwischen Objektträger und Probe, wird von dort total reflektiert, wieder vom Objektiv eingefangen und anschließend durch einen dichroitischen Spiegel vom Detektionsstrahlengang getrennt. Das alternative *prism-type* TIRF-Mikroskop nutzt hingegen ein dem Objektiv gegenüberliegendes Prisma zur Einkopplung des Lasers (Abbildung 13b). Der Anregungslaser durchläuft besagtes Prisma, welches auf einem zusätzlichen Objektträger mit gleichem Brechungsindex sitzt, und wird dann an der Grenzfläche zur Probe total reflektiert. Die Fluoreszenz wird durch die Probe hindurch mit Hilfe des gegenüberliegenden Objektivs detektiert. Durch die Autofluoreszenz einzelner Bauteile ist in der Regel bei gleicher Signalstärke das Signal-zu-Rauschen-Verhältnis für *objective-type* TIRF etwas geringer. Jedoch ist für die gleiche Anregungsintensität das Gesamtsignal in dieser Technik für gewöhnlich höher. Anders ausgedrückt können im *objective-type* TIRF niedrigere Anregungsintensitäten verwendet werden. Dies ist dadurch bedingt, dass die Fluoreszenz von Molekülen an einer Grenzfläche überwiegend in das optisch dichtere Material, d. h. hier in Richtung des Objektträgers, erfolgt. Im Falle von *objective-type* TIRF ist dies ebenfalls in Richtung Detektion, wodurch eine größere Anzahl an Photonen durch das Objektiv eingesammelt wird.^[218–221]

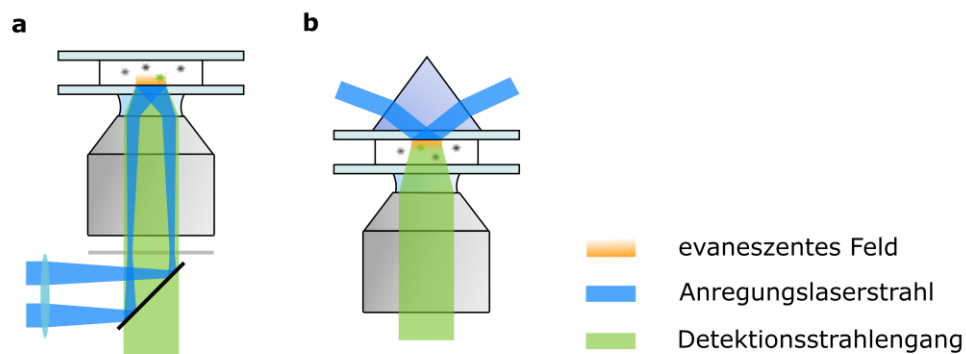


Abbildung 13: (a) *objective-type* TIRF Mikroskopie: Der Laser wird durch einen dichroitischen Spiegel auf die rückseitige Fokalebene (grau) des Objektivs fokussiert und an der Grenzfläche zwischen unterem Objektträger und Probe total reflektiert. (b) *prism-type* TIRF Mikroskopie: Der Anregungslaserstrahl wird durch ein dem Objektiv gegenüberliegendes Prisma eingekoppelt.

TIRF Mikroskopie als Einzelmolekülspektrometer

In den überwiegenden Fällen der Reaktionsverfolgung mittels Einzelmolekülmikroskopie bzw. -spektroskopie werden Breitbandfilter zur Detektion verwendet.^[249–251] Zwar sind teilweise auch Mehrkanaldetektionen^[238] möglich, doch die spektrale Information des Emissionslichtes geht auch hier größtenteils verloren. Wird dagegen der Emissionsstrahlengang durch ein dispergierendes Element spektral zerlegt, so sind Aufnahmen von ganzen Einzelmolekülspektren realisierbar. Dabei werden die detektierten Photonen nochmals nach ihrer Wellenlänge aufgeteilt, was zu Einbußen im Signal-zu-Rauschen-Verhältnis führt. Dennoch konnten solche Einzelmolekülspektren bereits mehrfach in der Vergangenheit aufgenommen und analysiert werden.^[242,243,252–255] Ein dadurch entdecktes Phänomen ist die spektrale Diffusion: eine zeitliche Verschiebung des Spektrums entlang der Wellenlänge. Der zugrundeliegende Mechanismus ist noch nicht eindeutig geklärt, doch eine in der Literatur diskutierte Erklärung beruht auf molekularen Bewegungen der Umgebung, welche metastabile Zustände hervorrufen.^[225,256–260] Auch Abhängigkeiten der Einzelmolekülspektren von der jeweiligen lokalen Umgebung sind bereits beobachtet worden, jedoch ebenfalls noch Gegenstand aktueller Forschung. Generell kann davon ausgegangen werden, dass sich die individuellen Kavitäten, in denen jeweils das Farbstoffmolekül eingebettet ist, voneinander unterscheiden. Diese Heterogenität sollte sich ebenfalls auf die individuellen Einzelmolekülspektren eines Fluorophors auswirken (siehe Kapitel 2.1).^[261]

Eine Kombination aus TIRF-Mikroskop und Einzelmolekülspektrometer wurde vor kurzem von Bongiovanni^[262] *et al.* präsentiert. Dabei handelt es sich um die sogenannte *spectral-resolved* PAINT (engl. *point accumulation for imaging in nanoscale topography*^[263]) bzw. sPAINT Methode. Die spektrale Auflösung wird hier durch ein dem Detektorchip vorangestelltes Transmissionsgitter realisiert (Abbildung 14).

Detektiert wird in dieser Methode sowohl die nullte auch als erste Ordnung des durch das Gitter transmittierten Detektionsstrahlengangs. Dadurch entstehen auf dem Kamerachip zwei unterschiedliche Bereiche: ein Bereich mit räumlicher Auflösung (nullte Ordnung) und ein Bereich mit zusätzlicher spektraler Auflösung (erste Ordnung). In Letzterem erscheinen die spektral aufgetrennten Photonen eines Bildpunktes entlang einer horizontalen Linie, welche die Wellenlängenachse repräsentiert. Der Abstand Δx , zwischen der räumlichen Position (Abbildung 14b, links) und dem dazu jeweils horizontal verschobenen und spektral aufgelösten Signal (Abbildung 14b, rechts), ist proportional zur Wellenlänge und kann mit Hilfe von Referenzmessungen fluoreszenzmarkierter Nanopartikel in die Wellenlängenskala umgerechnet werden (siehe Kapitel 6.1).

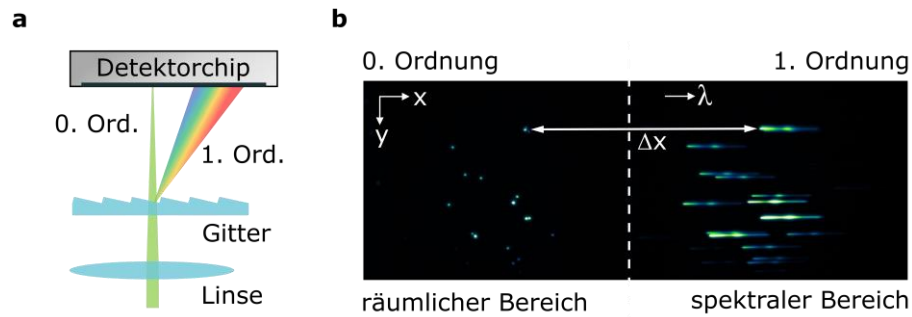


Abbildung 14: (a) Schematischer Aufbau des Einzelmolekülspektrometers mit einem dem Detektorchip vorangeschaltetem Transmissionsgitter. Dieses teilt den Detektionsstrahlengang in die verschiedenen Beugungsordnungen auf, von denen die nullte und erste Ordnung simultan auf dem Detektorchip erfasst werden. Lediglich in der ersten Ordnung ist das Licht spektral aufgelöst. (b) Zeigt beispielhaft eine Mikroskopieaufnahme fluoreszenzmarkierter Nanopartikel unter Verwendung des Transmissionsgitters.

Zusammenfassend kann so, unter Verwendung eines Transmissionsgitters, aus dem horizontalen Schnitt durch ein TIRF Mikroskopiebild das Fluoreszenzspektrum einzelner Moleküle gewonnen werden (siehe Kapitel 6). Ein großer Vorteil gegenüber konfokalen Techniken ist die mögliche simultane Detektion der Emissionsspektren mehrerer einzelner Moleküle.

4. Zielsetzung und Motivation

Die Mehrheit der Studien über den Protonentransfermechanismus beschäftigt sich mit der Übertragung eines Protons zu einem Lösungsmittelmolekül (engl. *proton transfer to solvent*, PTTS).^[103,136,142,143,264,265] Zwar adressieren auch einige Arbeiten den Protonentransfer zu Acetat in gepufferten wässrigen Lösungen, jedoch konkurrieren hier Wasser- und Acetatmoleküle stark um die Aufnahme des Protons.^[132,135,266] Die Analyse wird dadurch deutlich erschwert. In keinem dieser Systeme existiert daher eine klare Abgrenzung zwischen der Umgebung, in der der Protonentransfer stattfindet, und dem Protonenakzeptor selbst. Wird die Umgebung, d. h. das Lösungsmittel, ausgetauscht, bedeutet dies in diesen Systemen auch eine Änderung des Akzeptors. Eine systematische Untersuchung der Abhängigkeit des Protonentransfers von dem umgebenden Milieu ist hier nicht möglich.

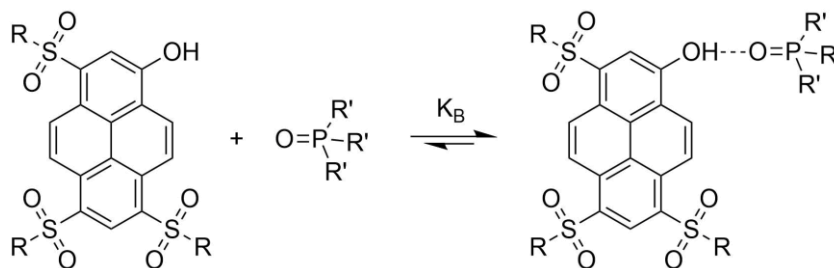


Abbildung 15: Beispiel eines Photosäure-Base-Komplexes.

Erst in der jüngeren Vergangenheit wurden erste Systeme entwickelt, die dies ansatzweise gestatten.^[164,165,267–269] Das Konzept dazu beinhaltet eine Photosäure, welche durch eine Wasserstoffbrückenbindung bereits im Grundzustand mit dem Protonenakzeptor einen stabilen Komplex bildet (Abbildung 15). Eine solche molekulare Sonde kann in verschiedene Umgebungen bzw. Lösungsmittel eingebracht werden, ohne dass ein Austausch des Protonenakzeptors stattfindet. Die Anforderungen an Photosäure und Ligand (bzw. Protonenakzeptor) sind jedoch mannigfaltig: Auf der einen Seite soll durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Hydroxylgruppe der Photosäure und der Akzeptorfunktion des Liganden ein möglichst stabiler Komplex gebildet werden. Auf der anderen Seite müssen die pK_S - bzw. pK_B -Werte von Photosäure und Ligand aufeinander abgestimmt sein. Erst durch die Aziditätserhöhung der Photosäure bei elektronischer Anregung soll das Proton auf den Liganden übertragen werden. Der pK_S -Wert des protonierten Liganden muss daher zwischen pK_S^* und pK_S der Photosäure liegen. Gelingt dies, kann der Protonentransfer innerhalb des reaktiven Komplexes durch ein Photon gezielt ausgelöst werden. Des Weiteren sollten sowohl Photosäure als auch Ligand in einem breiten Spektrum von

Lösungsmitteln gut löslich sein, um bei einer systematischen Untersuchung der Umgebungsabhängigkeit einen möglichst großen Bereich abdecken zu können. Zusätzlich ist eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute und Photostabilität der Photosäure vorteilhaft, um die Handhabung und Analyse zu erleichtern. Im Idealfall sind die Komplexe auch nach dem elementaren Protonentransferschritt, d. h. als Kontaktionenpaar, noch stabil, so dass die Dissoziation der Ionen nur eine untergeordnete Rolle spielt. Dadurch wird das Eigen-Weller-Modell auf zwei Spezies reduziert, was die Analyse stark vereinfacht (siehe Kapitel 2.2).

In der Summe sollten schließlich all diese Eigenschaften den Einsatz solcher Komplexe als molekulare Sonden ermöglichen. Die Umgebung, d. h. das Lösungsmittel, kann geändert werden, ohne den Protonenakzeptor zu ändern. Dadurch kann mittels Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie systematisch die Abhängigkeit des elementaren Protonentransferschritts von der Umgebung untersucht werden.

Bisherige Systeme weisen bislang entweder unzureichende Stabilitäten der Komplexe, ungenügende Löslichkeiten in apolaren Lösungsmitteln, mehrere mögliche Bindungsstellen für den Liganden, niedrige Fluoreszenzquantenausbeuten oder geringe Photostabilitäten auf.^[164,165,267–269]

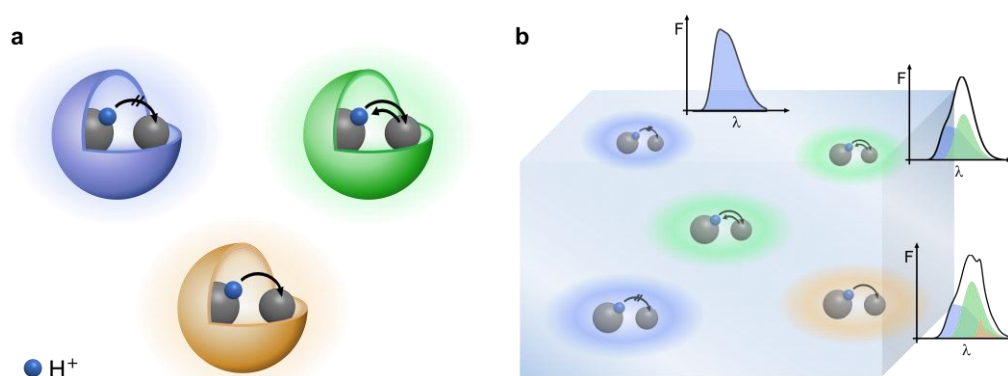


Abbildung 16: Schematische Darstellung der Fragestellung. (a) Wie unterscheidet sich die Protonentransfereffizienz und die gebildeten Spezies in unterschiedlichen Lösungsmitteln? Die Hohlkugeln stellen die unterschiedlichen Lösungsmittelkavitäten dar, welche die molekularen Sonden umgeben und durch unspezifische Wechselwirkungen Einfluss auf den Protonentransfer ausüben. (b) Mit einem geeigneten System könnten die Fluoreszenzspektren auf Einzelmolekülniveau aufgenommen und damit Rückschlüsse auf die individuelle molekulare Umgebung einer festen Matrix gezogen werden.

Kern dieser Arbeit ist daher die Entwicklung solcher stabilen Photosäure-Base-Komplexe, welche die Untersuchung des Protonentransfers in einer breiten Palette unterschiedlicher Lösungsmittel ermöglichen. Dadurch sollen Rückschlüsse auf die allgemeine Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers zugänglich werden: Wie kann das Säure-Base-

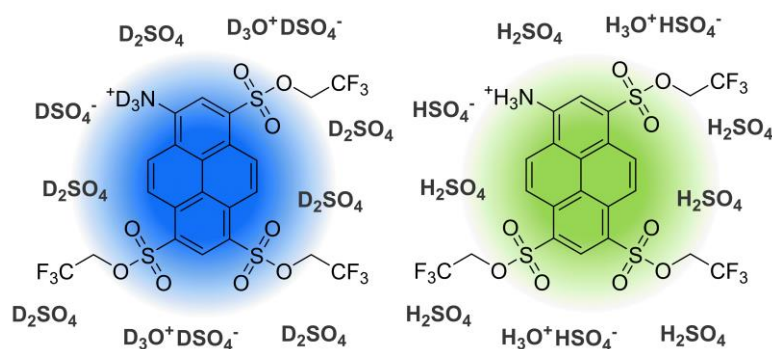
Gleichgewicht durch das umgebende Kontinuum beeinflusst werden? Was ist der entscheidende Parameter der Umgebung? Welche Gesetzmäßigkeiten verbergen sich dahinter? Wenn diese Fragen beantwortet werden, könnten die Erkenntnisse auf andere Reaktionsmechanismen, die einen Protonentransfer beinhalten, angewandt werden. Des Weiteren könnten solche Komplexe selbst wiederum als Sonde fungieren und den entsprechenden Parameter ihrer Umgebung messen. Die Vision dabei ist das System auf das Einzelmolekülniveau zu übertragen. Es ist zu erwarten, dass in fester amorpher Matrix jedes Molekül einer ganz individuellen molekularen Umgebung unterworfen ist. Es stellt sich die Frage, ob diese molekularen Käfige mit einer solchen Sonde auf Einzelmolekülniveau ausgelesen werden können. Würde sich die Heterogenität der Matrix durch ein unterschiedliches Ausmaß des Protonentransfers für individuelle Komplexe der gleichen Probe messen lassen, würde dies eine Sonde mit der räumlichen Auflösung einzelner Moleküle darstellen (Abbildung 16).

Im Folgenden werden zunächst die veröffentlichten Publikationen vorgestellt. Der erste Artikel zeigt die Synthese und Charakterisierung einer neuen auf Ammoniumpyren basierenden Photosäure. Durch ihre hohe chemische Stabilität und äußerst starke Photoazidität eröffnet diese die Möglichkeit den Protonentransfer in extrem aziden Umgebungen bzw. zu nur schwach basischen Akzeptoren zu untersuchen. Sie ist damit ein wichtiger Baustein zur ganzheitlichen Betrachtung der Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers und könnte darüber hinaus den Nachweis des invertierten Bereichs nach Marcus ermöglichen. Danach folgen die beiden Kernpublikationen dieser Dissertation: Einerseits die Entwicklung einer neuen Klasse von Photosäure-Base-Komplexen und andererseits deren zeitaufgelöste Untersuchung in Acetonitril. Erstere beinhaltet neben einer ausführlichen Charakterisierung auch die systematische Untersuchung der Umgebungsabhängigkeit in einem breiten Spektrum von aprotischen Lösungsmitteln. Die letzte der vier vorgestellten Publikationen bildet den Übergang zum Einzelmolekülniveau. Sie zeigt das Potential der verwendeten Photosäurederivate, Reaktionen auf dem Einzelmolekülniveau zu beobachten und Rückschlüsse auf deren Mechanismus zu erlangen. Das Zusammenführen dieser Einzelmolekülstudien mit dem zuvor vorgestellten Protonentransfersystem erfolgt durch die Konstruktion eines Einzelmolekülspektrometers basierend auf einem TIRF-Mikroskop. Dies ist, zusammen mit den ersten Einzelmolekülspektren der molekularen Sonde, in einem zusätzlichen Kapitel gezeigt und bildet den Abschluss dieser Dissertationsschrift.

5. Publikationen

5.1. Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid

Daniel Maus, Alexander Grandjean, Gregor Jung,
J. Phys. Chem. A **2018**, 122, 9025-9030.



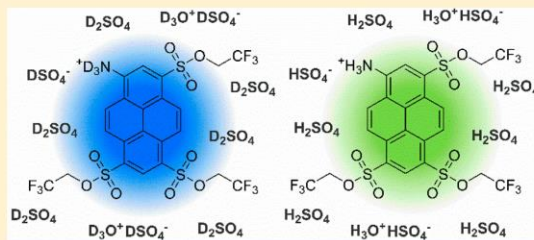
Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid

Daniel Maus, Alexander Grandjean, and Gregor Jung*

Biophysical Chemistry, Saarland University, Campus B2 2, 66123 Saarbrücken, Germany

Supporting Information

ABSTRACT: Photoacids are the most convenient way to deliver protons on demand. So far, their photoacidity allows for studying excited-state proton transfer (ESPT) only to protic or strongly basic solvent molecules. The strongest superphotoacids known so far exhibit excited-state lifetimes of their conjugate base on the order of 100 ps before recapturing the proton again. Here, we describe how we developed a new aminopyrene-based superphotoacid with an excited-state lifetime of its conjugate base of several nanoseconds. It will be shown by fluorescence titration and via Förster cycle that the excited-state acidity is as high as concentrated sulfuric acid and thus exceeding any previous photoacidity by several orders of magnitude. Its outstanding chemical stability and fluorescent properties make it suitable for time-resolved proton-transfer studies in concentrated mineral acids and organic solvents of low basicity.



INTRODUCTION

Theodor Förster already interpreted the pH-sensitive dual-emissive behavior of some aromatic fluorophores as photoacidity, which is an increase in acidity by several orders of magnitude after electronic excitation.^{1,2} Time-resolved studies on proton transfer exploit short laser pulses to trigger the release of a proton from these so-called photoacids, and the kinetics may be subsequently probed by fluorescence spectroscopy.^{3–9} The excited-state acidity (pK_a^*) of photoacids is the key parameter for such an experiment as it determines which molecules can act as proton acceptor. For example, the use of pyranine (HPTS) as photoacid is limited to water-based systems as its pK_a drops from 7.3 to only 1.3 upon excitation.^{3,10} By means of superphotoacids ($pK_a^* < 0$) excited-state proton transfer (ESPT) also takes place in some organic solvents like alcohols and DMSO.^{8,9,11,12} It has been shown in naphthols and pyrenols that the acidity of photoacids can be increased by introducing electron-withdrawing substituents.^{11,13–15} As a result of lowering the electron density of the acidic group, the superphotoacids 5,8-dicyano-2-naphthol ($pK_a^* = -4.5$)¹⁴ and tris(1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-yl)-8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate ($pK_a^* = -3.9$)¹¹ have been developed. Introducing positive charges into a photoacid causes a stabilization of the negatively charged conjugate base, leading to even stronger photoacids like *N*-methyl-6-hydroxyquinolinium (NM6HQ⁺)^{16–18} with a pK_a^* of -4.0 as well as the quinone cyanines QCy7 ($pK_a^* = -5.7$)¹⁹ and QCy9 ($pK_a^* = -8.5$),^{20,21} which are the strongest published superphotoacids so far. For an up-to-date overview of the topic of photoacidity see for instance a recent review²² and a special issue.²³ However, to extend the proton transfer

studies to other solvents (e.g., acetone and acetonitrile) or mineral acids, stronger photoacids are needed. Therefore, reaching $pK_a^* \approx -10$ can be considered as a milestone. This value corresponds to the Hammett acidity function^{24–26} of concentrated H₂SO₄ (96%, $H_0 \approx -10$),²⁶ which already serves as a benchmark in ground-state acidities:^{27,28} Stronger ground-state acids, including the well-known magic acid, are called superacids.²⁷

Another important parameter is a sufficiently long excited-state lifetime of the conjugate base to allow complete diffusional separation into the free ions. However, this parameter strongly depends on the solvent and may play a minor role, for example, in neat water. Although the excited conjugate base of QCy9 has a relatively short fluorescence decay time of about 90 ps, the high ESPT rate ($k_{\text{ESPT}} \approx 1 \times 10^{13} \text{ s}^{-1}$) of the photoacid provides the fully separated ions in water within just a few picoseconds.²¹ Nevertheless, it has been shown in the past that once mixtures of mineral acids or organic solvents with water are used instead of neat water, the rate constant for ESPT significantly reduces with a decrease in the amount of water molecules.^{21,29–31} Interestingly, a deviation from this behavior has been described recently. The photoacid 2-naphthol-8-sulfonate showed an unexpected increase in the ESPT rate in the acetonitrile-rich regime of CH₃CN/H₂O mixtures. The authors explained this observation by the presence of a water bridge between the 2-OH and the basic 8-sulfonate, enhancing the ESPT process.³¹ However,

Received: October 12, 2018

Revised: October 24, 2018

Published: October 25, 2018



ACS Publications

© 2018 American Chemical Society

9025

DOI: 10.1021/acs.jpca.8b09974
J. Phys. Chem. A 2018, 122, 9025–9030

we assume that in concentrated sulfuric acid and dry, low basic organic solvents the ESPT rate becomes rather small due to the absence of free water as acceptor. Additionally, in concentrated H_2SO_4 , we assume a large amount of protons available to enhance the reprotonation reaction in the excited state, which eventually increases the importance of a longer fluorescence lifetime of the conjugated base.

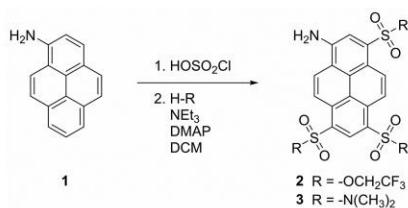
Pyrene-derived photoacids perfectly match the requirements for the development of new superphotoacids because of their variable derivatization, high chemical stability, and long fluorescence lifetimes around 5–6 ns.^{11,32} Here we modified the less noticed, but highly photoacidic,^{33,34} aminopyrenes by electron-withdrawing side groups. In these systems, the photoacidic species ($-\text{NH}_3^{+*}$) must first be generated by protonation in the ground state before ESPT can occur to form an amino species ($-\text{NH}_2^*$), its conjugate base.^{2,5,33} It will be shown by optical titration and via Förster cycle that $\text{p}K_a^*$ values close to -10 are obtained, thus exceeding any previous photoacidity by several orders of magnitude.

METHODS

General. All chemicals were obtained from commercial suppliers and were used without further purification. Absorption spectra were recorded with a double-beam Jasco V-650 spectrophotometer. A Jasco FP-6500 spectrofluorometer was used for recording the fluorescence emission spectra. The fluorescence quantum yields were measured in scan mode (5 nm increments around the absorption maximum) on a Hamamatsu Absolute PL quantum yield spectrometer C11347. All quantum yields were averaged from the values at the absorption maximum and the two above and below it (five values total). All samples for fluorescence related measurements were prepared with an optical density of about 0.1 at the absorption maximum of the dye unless otherwise noted.

Synthesis. The two-step synthesis of the new photoacid tris(2,2,2-trifluoroethyl)-8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonate (**2**) and its *N*-derivative 8-aminopyrene-*N,N,N',N'',N''',N''''*-hexamethyl-1,3,6-trisulfonamide (**3**) (Scheme 1) followed a modified combination of two published routines.^{11,35}

Scheme 1. Synthesis of the Aminopyrene Derivatives 2 and 3



1-Aminopyrene (**1**) (>98%, TCI Germany) in chlorosulfonic acid provided at first the nonfluorescent trisulfonate. The isolated dark red solid was then converted via a nucleophilic substitution with either 2,2,2-trifluoroethanol or dimethylamine into either **2** or **3**. The compounds were obtained as orange solids in 55% (on gram scale) (**2**) and 61% (**3**) overall yield. The products were identified by ^1H , ^{13}C , and ^{19}F (for **2**) NMR spectroscopy and mass spectrometry. Further details of the synthesis and the characterization can be found in the Supporting Information.

Absorption Titration. According to the literature,^{24,36} H_0/pH values were adjusted between -5.02 and 0.39 by dilution of perchloric acid (70%, Acros Organics) with water. Commercial buffers (Carl Roth) were used for $\text{pH} = 2$ (citric acid/ HCl/NaCl), $\text{pH} = 3$ and $\text{pH} = 4$ (citric acid/ NaOH/NaCl), and $\text{pH} = 5$ and $\text{pH} = 6$ (citric acid/ NaOH). A small aliquot of a stock solution of **2** or **3** in the concentrated acid was added to each solution. The amount of aliquot added was taken into account when preparing the specific H_0/pH values.

Fluorescence Titration. According to the literature,^{25,26} H_0 values were adjusted from -12.62 to -6.10 either by diluting a concentrated sulfuric acid (96%, Carl Roth) with water or by adding commercial oleum (20–30% free SO_3 , Acros Organics) to concentrated sulfuric acid (96%, Carl Roth). Small aliquots of a stock solution of **2** in concentrated sulfuric acid were added. Those amounts were taken into account when preparing the specific H_0 values.

Time-Related Single-Photon Counting (TCSPC). As light sources for the TCSPC measurement were used a pulsed laser diode (LDH-D-C-375, PicoQuant, $\lambda_{\text{exc}} = 375$ nm, 20 MHz, pulse width <100 ps) in combination with a laser diode controller (PDL 800-D, PicoQuant) and another pulsed laser diode (LDH-P-C-470, PicoQuant, $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm, 20 MHz, pulse width <100 ps) in combination with a laser diode controller (PDL 808 MC SEPIA, PicoQuant). A photon counting detector (PDM series, Micro Photon Devices) and a photon counting device (PicoHarp 300, PicoQuant) were used for detection. The collected data were analyzed using the SymPhoTime software (PicoQuant). A diluted colloidal silica solution (LUDOX TM-50, Sigma-Aldrich) and an aqueous solution of erythrosine B (quenched with KI) were used for recording the instrumental response function (IRF), which had an overall FWHM ≈ 300 ps ($\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}477$ nm) and FWHM ≈ 100 ps ($\lambda_{\text{det}} = 540\text{--}600$ nm).

RESULTS AND DISCUSSION

The ground-state $\text{p}K_a$'s of compounds **2** and **3** (see Supporting Information) were derived from an absorption titration. The Hammett acidity function was used as extension to the pH scale in which the H_0 values can be adjusted by a dilution series of either sulfuric or perchloric acid.^{24–26} The latter one was used here because of its lower viscosity and heat development by dilution with water.^{37,38} Figure 1a shows the absorption spectra of **2** including the H_0/pH -dependent interconversion of the two species with two isosbestic points at $\lambda = 333$ nm and $\lambda = 398$ nm.

As one would expect, the NH_3^+ species, indicated by the structured band around $\lambda_{\text{max}} = 379$ nm, is more likely present at higher acidities. The broad absorbance of the NH_2 band ($\lambda_{\text{max}} \approx 487$ nm) appears only at comparatively lower acidities. The absorption band of the amine shows a small variation of its maximum, which might be caused by the use of different buffer systems and the tendency to form aggregates at lower acidities ($\text{pH} > 0$). The absorbance values A at λ_{max} of the two species were taken at each H_0/pH from the raw spectra to calculate the molar fraction ratio R for each species separately via eq 1. A_{min} and A_{max} represent the minimum and maximum absorbance obtained in the titration.

$$R = \frac{A - A_{\text{min}}}{A_{\text{max}} - A_{\text{min}}} \quad (1)$$

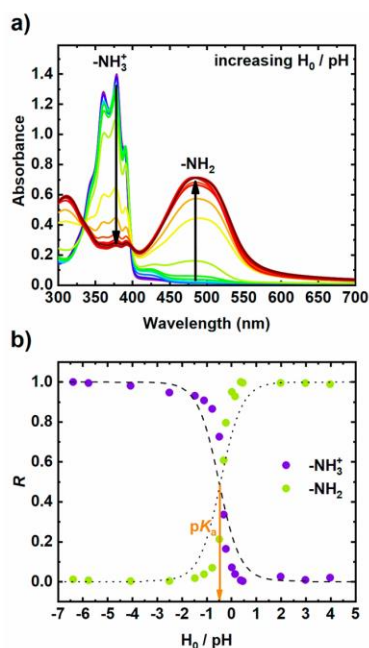


Figure 1. Raw absorption titration spectra of **2** in perchloric acid/buffers (a) and the resulting titration curve (b) of -NH_2 (green dots, dotted curve) and -NH_3^+ (purple dots, dashed curve) according to eqs 2a and 2b.

These R values were plotted (Figure 1b) against the H_0/pH and fitted by the dashed/dotted curves according to eqs 2a and 2b. For the sake of simplicity, only the pH appears in the two equations, which, however, has to be replaced with H_0 in the high acidic range.

$$R(\text{NH}_3^+) = \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}} \quad (2a)$$

$$R(\text{NH}_2) = 1 - \frac{1}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}} \quad (2b)$$

The molar fraction ratio curves intersect at their inflection point at $R = 0.5$, giving a $\text{p}K_a$ value of -0.5 ± 0.1 for **2**. Thus, in the ground state **2** is about 10^5 times more acidic than its hydroxyl analogue ($\text{p}K_a^* = 4.7$),¹¹ confirming the same tendency as observed within the pair of phenol ($\text{p}K_a = 9.9$) and anilinium ($\text{p}K_a = 4.6$).³⁹

In any case, excitation of -NH_3^+ of **2** at $\text{pH}/H_0 > -7.75$ (Figure 2a) leads to a strong yellowish fluorescence emission at $\lambda_{\text{em}} = 547$ nm (Figure 2b). Only in HClO_4 (70%, $H_0 = -7.75$)³⁶ a faint bluish emission at $\lambda_{\text{em}} = 399$ nm was noticed for **2**. Interestingly, the protonated sulfonamide derivative **3** ($\text{p}K_a = 1.2 \pm 0.1$, see Supporting Information) lacks any significant fluorescence and therefore does not serve as photoacid, although its conjugate base shows a bright yellowish emission as well. The reason for this is still the subject of further investigations.

Several methods exist for the determination of $\text{p}K_a^*$.^{11,19,40} The most convenient and most often used way is the calculation of the $\text{p}K_a$ drop ($\Delta\text{p}K_a$) via the Förster cycle (noted as $\text{p}K_a^*(\text{Förster})$):^{2,11,19,20}

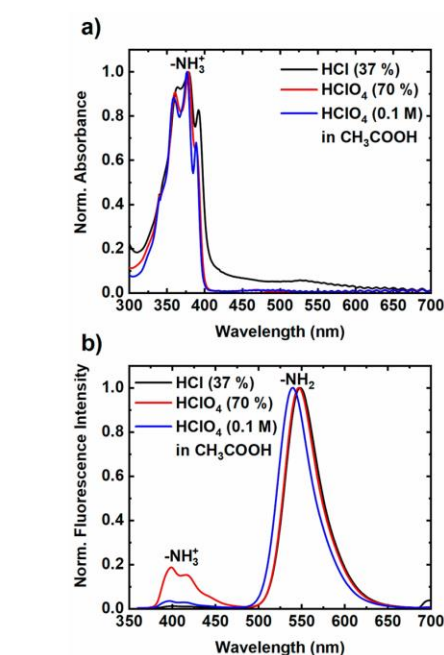


Figure 2. Normalized absorption (a) and emission spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) (b) of **2** in hydrochloric acid (black curve), aqueous perchloric acid (red curve), and perchloric acid in glacial acetic acid (blue curve).

$$\Delta\text{p}K_a = \frac{h\nu_{\text{NH}_2} - h\nu_{\text{NH}_3^+}}{kT \ln(10)} \quad (3)$$

Here, $\Delta\text{p}K_a$ depends on the energy difference of the 0–0 transitions of the photoacid and its conjugate base. From the experimental wavelengths of the absorption ($\lambda_{\text{NH}_3^+} = 391$ nm, $\lambda_{\text{NH}_2} = 487$ nm) and fluorescence emission ($\lambda_{\text{NH}_3^+} = 399$ nm, $\lambda_{\text{NH}_2} = 547$ nm) spectra of **2** in aqueous perchloric acid, values of -10.5 (absorption) and -14.2 (emission) were calculated, which on average give a change in the acidity of $\Delta\text{p}K_a = -12.4$. The use of the experimental ground-state acidity resulted in a $\text{p}K_a^*(\text{Förster})$ of -12.9 , thus exceeding the similarly determined excited-state acidity of QCy9²⁰ by more than 4 orders of magnitude.

The experimental verification of this value requires a fluorescence titration (Figure 3a) in an acid of this strength. Therefore, to shift the protolytic equilibrium in the excited state completely to the side of the photoacid, at least concentrated sulfuric acid (96%) is needed. Although perchloric acid is known to be significantly more acidic than sulfuric acid,^{24,36,41} concentrations higher than the commercially available 70% are known to be very hazardous because of its increased oxidizing potential and spontaneous explosive behavior.⁴² In addition to the increased safety, the major advantage of sulfuric acid is the already known broad range of adjustable Hammett acidities in the superacidic range and the easy access to anhydrous sulfuric acid via addition of fuming sulfuric acid (oleum).^{24–26} In any case, one is leaving the region where pH considerations for aqueous solutions do apply.⁴¹ Starting from commercial concentrated sulfuric acid

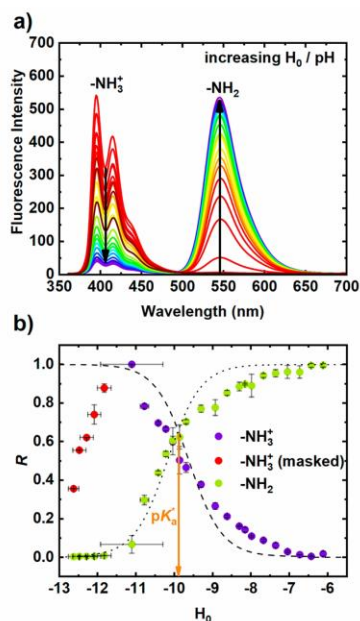


Figure 3. Raw fluorescence emission titration spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) of **2** in concentrated sulfuric acid (a) and the resulting titration curve of $-NH_2$ (green dots, dotted curve) and $-NH_3^+$ (purple and red dots, dashed curve) (b). The error bars were calculated from the uncertainty of the amount of free SO_3 in commercial Oleum (horizontal) and the standard deviation from three independent titrations (vertical).

(96%, fluorescence emission ratio $I_{NH_3^+}/I_{NH_2} \approx 1:1$), dilution of the acid by water shifts the protonation equilibrium in the excited state toward the amine ($\lambda_{\text{max}} = 546$ nm).

Whereas addition of oleum to concentrated sulfuric acid shifts the emission ratio to the side of the NH_3^+ species ($\lambda_{\text{max}} = 395$ nm), the fluorescence of the conjugate base of compound **2** disappears at about 100% sulfuric acid ($H_0 \approx -11.1$). In addition, a decrease in the $-NH_3^+$ fluorescence intensity can be observed by further rising acidity of the medium. Using Oleum for $H_0 < -10.2$, the color of the sample solutions began to appear brownish (presumably due to the presence of free SO_3 and decomposition of marginal organic impurities), which may result in inner filter effects being involved. The fluorescence quantum yield Φ_f is 0.56 ($-NH_3^+$), recorded in 100% sulfuric acid, therefore appears as a lower limit of the true value. In contrast, the fluorescence quantum yield for $-NH_2$ is $\Phi_f = 0.91$, which is equal to **2** in various organic solvents (data not shown). It should be noted that decomposition by hydrolysis of **2** in solutions of H_2SO_4 (100% and below) is negligible on a time scale of days (see Figure S20).

Analogous to the titration of the ground state, the molar fraction ratios were plotted vs H_0 after calculation via eq 1 with A as fluorescence emission intensities at λ_{max} (Figure 3b). The curves were fitted by eqs 2a and 2b, in which the values of NH_3^+ at the highest acidities (red dots) were masked. It is noticeable that the intersection of the curves is located slightly above $R = 0.5$ at a molar fraction ratio of $R \approx 0.65$, possibly due to the above-mentioned inner filter effect. Furthermore, the measured R values at $H_0 > -10$ show some kind of “flattened” titration curves, indicating a higher presence of the photoacid and a lower presence of the conjugate base than

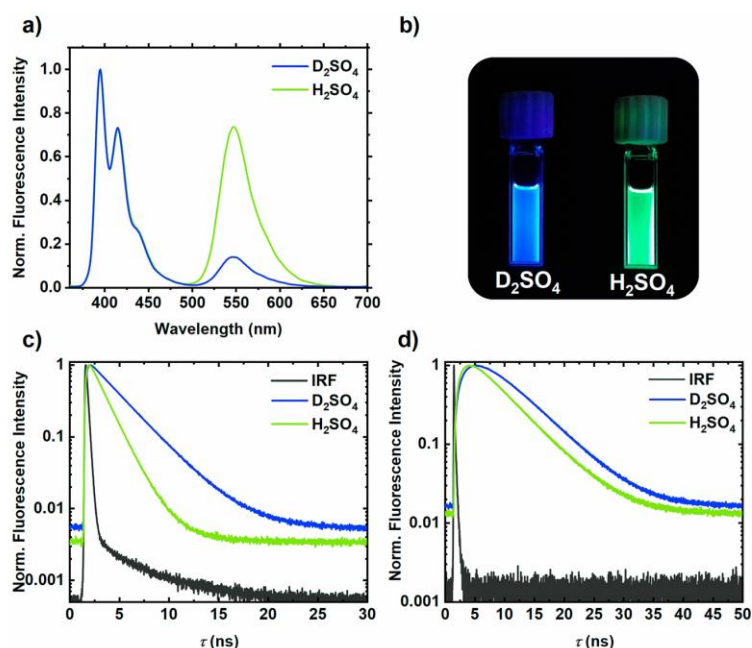


Figure 4. Steady-state fluorescence spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm) (a), photograph (b), and TCSPC histograms (c, d) of **2** in H_2SO_4 (green curves) and D_2SO_4 (blue curves): $\lambda_{\text{exc}} = 375$ nm, $\lambda_{\text{det}} = 417-477$ nm (c); $\lambda_{\text{exc}} = 375$ nm, $\lambda_{\text{det}} = 540-600$ nm (d).

9028

DOI: 10.1021/acs.jpca.8b09974
J. Phys. Chem. A 2018, 122, 9025–9030

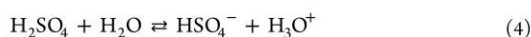
expected. Both effects may be caused by the sharply varying occurrence of different species in concentrated sulfuric acid and the associated highly significant change in viscosity and ionic strength of such like solutions.^{37,43} However, this behavior is still the subject of further investigations. Because of the deviation of the intersection from $R = 0.5$, two different pK_a^* values can be determined from the inflection points: $pK_a^* = -9.6 \pm 0.1$ (from $-\text{NH}_3^+$) and $pK_a^* = -10.2 \pm 0.1$ (from $-\text{NH}_2$), which on average give an excited-state acidity of $pK_a^* = -9.9 \pm 0.1$. Both pK_a^* (Förster) and pK_a^* indicate a very high photoacidity of **2** but differ significantly. One aspect that should not be ignored is that the determination of pK_a^* (Förster) does not take into account any change of molecular geometry and solvation relaxation in the photochemical cycle.^{11,14,44}

For verification of ESPT in concentrated sulfuric acid, the fluorescence of **2** in concentrated sulfuric acid and its deuterated analogue (Figure 4a) was studied in more detail by time-correlated single-photon counting (TCSPC) (Table 1).

Table 1. Fluorescence Lifetimes of **2** in H_2SO_4 and D_2SO_4

λ_{det} (nm)	H_2SO_4		D_2SO_4	
	τ (ns)	a_{rel}	τ (ns)	a_{rel}
417–477	1.4 ± 0.3	1	2.8 ± 0.3	1
540–600	1.4 ± 0.1	-0.99 ± 0.01	2.7 ± 0.1	-1 ± 0.01
	5.3 ± 0.1	1 ± 0.01	5.4 ± 0.1	0.95 ± 0.01

The fluorescence decay of the photoacid itself (Figure 4c, $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}477$ nm) could be monoexponentially fitted with a lifetime of $\tau = 1.4 \pm 0.3$ ns in H_2SO_4 and $\tau = 2.8 \pm 0.3$ ns in D_2SO_4 . The TCSPC histogram of the NH_2 species after excitation of the photoacid (Figure 4d, $\lambda_{\text{det}} = 540\text{--}600$ nm) shows the highly significant proving two exponential behavior with a rising and a decaying component. The lifetimes of the conjugate base of **2** in organic solvents (data not shown) and other pyrene derivatives of similar constitution¹¹ agree well with the longer decay times $\tau = 5.3 \pm 0.1$ ns (in H_2SO_4) and $\tau = 5.4 \pm 0.1$ ns (in D_2SO_4). The shorter time constants $\tau = 1.4 \pm 0.1$ ns (in H_2SO_4) and $\tau = 2.7 \pm 0.1$ ns (in D_2SO_4) with negative amplitudes (Table 1, a_{rel}) represent the population kinetics of the excited amine by ESPT. Here it can be seen that the fluorescence lifetime of several nanoseconds for the conjugate base has proven to be very useful to allow the full diffusional separation into the free ions in concentrated sulfuric acid. The kinetic isotope effect (KIE) for ESPT of about 1.9 ± 0.2 is in agreement with other systems.^{19,20} Actually, the KIE can clearly be seen with the naked eye by the fluorescence color of the solutions (Figure 4b). In a separate titration experiment (see Figure S3), we verified that the actual proton acceptor indeed is HSO_4^- , formed from the dissociation reaction with residual water according to eq 4.⁴³



However, there are still unanswered questions about the mechanisms of proton transfer in anhydrous mineral acids, such as the reproducible flattened fluorescence titration curve of **2** in concentrated sulfuric acid.

CONCLUSIONS

In summary, excited compound **2** ($-\text{NH}_3^+$) shows an acidity as high as concentrated sulfuric acid, which makes it up to 5 orders of magnitude stronger than its parent compound APTS (calculated $pK_a^* \approx -7$)^{33,34} and thus the strongest photoacid reported so far with accompanying long observation window. Both pK_a and pK_a^* have been experimentally determined by optical titration experiments. Time-resolved spectroscopy in concentrated mineral acids proves ESPT to acceptors with pK_a/H_0 values ≥ -10 . In contrast to the more common photoacids, in which the photoacidic species ($\text{R}-\text{OH}$) can also be available in neutral solutions, the photoacidic species of compound **2** must first be generated by protonation in its ground state. However, **2** is a suitable tool for time-resolved proton transfer experiments in concentrated mineral acids. Besides that, we currently establish the conditions for water-free spectroscopy to follow proton transfers to molecules of low basicity and proton-catalyzed reactions. We also will address the question whether such strong photoacids show an inverted region for the kinetics of proton transfer, in the sense of its description by Marcus theory.^{45–48}

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jpca.8b09974.

Additional information about the dye synthesis and characterization, titration experiments, chemical stability experiment, NMR and mass spectra (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*(G.J.) E-mail: g.jung@mx.uni-saarland.de.

ORCID

Gregor Jung: 0000-0002-2438-7436

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The German Research Foundation (DFG JU650/7-1 and DFG JU650/8-1) financially supported this work. We thank Reiner Wintringer, Service Center Mass Spectrometry, Saarland University, for recording the mass spectra. We also thank PicoQuant GmbH for the free provision of a LDH-D-C-375 diode laser and a PDL 800-D laser driver for this publication.

REFERENCES

- (1) Förster, T. Fluoreszenzspektrum und Wasserstoffionenkonzentration. *Naturwissenschaften* **1949**, *36*, 186–187.
- (2) Förster, T. Elektrolytische Dissoziation Angeregter Moleküle. *Z. Elektrochem.* **1950**, *54*, 42–46.
- (3) Agmon, N.; Pines, E.; Huppert, D. Geminate Recombination in Proton-Transfer Reactions. II. Comparison of Diffusional and Kinetic Schemes. *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 5631–5638.
- (4) Leiderman, P.; Genosar, L.; Huppert, D. Excited-State Proton Transfer: Indication of Three Steps in the Dissociation and Recombination Process. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5965–5977.
- (5) Spry, D. B.; Fayer, M. D. Charge Redistribution and Photoacidity: Neutral versus Cationic Photoacids. *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 084508.
- (6) Lossau, H.; Kummer, A.; Heinecke, R.; Pöllinger-Dammer, F.; Kompa, C.; Bieser, G.; Jonsson, T.; Silva, C. M.; Yang, M. M.;

- Youvan, D. C.; et al. Time-Resolved Spectroscopy of Wild-Type and Mutant Green Fluorescent Proteins Reveals Excited State Deprotonation Consistent with Fluorophore-Protein Interactions. *Chem. Phys.* **1996**, *213*, 1–16.
- (7) Tran-Thi, T.-H.; Gustavsson, T.; Prayer, C.; Pommeret, S.; Hynes, J. T. Primary Ultrafast Events Preceding the Photoinduced Proton Transfer from Pyranine to Water. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *329*, 421–430.
- (8) Spies, C.; Shomer, S.; Finkler, B.; Pines, D.; Pines, E.; Jung, G.; Huppert, D. Solvent Dependence of Excited-State Proton Transfer from Pyranine-Derived Photoacids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 9104–9114.
- (9) Vester, M.; Grueter, A.; Finkler, B.; Becker, R.; Jung, G. Biexponential Photon Antibunching: Recombination Kinetics within the Förster-Cycle in DMSO. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10281–10288.
- (10) Wolfbeis, O. S.; Furlinger, E.; Kroneis, H.; Marsoner, H. Fluorometric Analysis. I. A Study on Fluorescent Indicators for Measuring Near Neutral ("Physiological") pH-Values. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1983**, *314*, 119–124.
- (11) Finkler, B.; Spies, C.; Vester, M.; Walte, F.; Omlor, K.; Riemann, I.; Zimmer, M.; Stracke, F.; Gerhards, M.; Jung, G. Highly Photostable "Super"-Photoacids for Ultrasensitive Fluorescence Spectroscopy. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 548–562.
- (12) Spies, C.; Finkler, B.; Acar, N.; Jung, G. Solvatochromism of Pyranine-Derived Photoacids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 19893–19905.
- (13) Tolbert, L. M.; Haubrich, J. E. Enhanced Photoacidities of Cyanonaphthols. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8163–8165.
- (14) Tolbert, L. M.; Haubrich, J. E. Photoexcited Proton Transfer from Enhanced Photoacids. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10593–10600.
- (15) Clower, C.; Solntsev, K. M.; Kowalik, J.; Tolbert, L. M.; Huppert, D. Photochemistry of "Super" Photoacids. 3. Excited-State Proton Transfer from Perfluoroalkylsulfonyl-Substituted 2-Naphthols. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 3114–3122.
- (16) Gould, E.-A.; Popov, A. V.; Tolbert, L. M.; Presiado, I.; Erez, Y.; Huppert, D.; Solntsev, K. M. Excited-State Proton Transfer in N-Methyl-6-Hydroxyquinolinium Salts: Solvent and Temperature Effects. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 8964–8973.
- (17) Kim, T. G.; Topp, M. R. Ultrafast Excited-State Deprotonation and Electron Transfer in Hydroxyquinoline Derivatives. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10060–10065.
- (18) Pérez-Lustres, J. L.; Rodriguez-Prieto, F.; Mosquera, M.; Senyushkina, T. A.; Ernsting, N. P.; Kovalenko, S. A. Ultrafast Proton Transfer to Solvent: Molecular and Intermediates from Solvation and Diffusion-Controlled Regimes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5408–5418.
- (19) Presiado, I.; Karton-Lifshin, N.; Erez, Y.; Gepshtein, R.; Shabat, D.; Huppert, D. Ultrafast Proton Transfer of Three Novel Quinone Cyanine Photoacids. *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 7353–7363.
- (20) Simkovitch, R.; Karton-Lifshin, N.; Shomer, S.; Shabat, D.; Huppert, D. Ultrafast Excited-State Proton Transfer to the Solvent Occurs on a Hundred-Femtosecond Time-Scale. *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 3405–3413.
- (21) Simkovitch, R.; Akulov, K.; Shomer, S.; Roth, M. E.; Shabat, D.; Schwartz, T.; Huppert, D. Comprehensive Study of Ultrafast Excited-State Proton Transfer in Water and D₂O Providing the Missing RO[−]...H⁺ Ion-Pair Fingerprint. *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 4425–4443.
- (22) Kumpulainen, T.; Lang, B.; Rosspeintner, A.; Vauthey, E. Ultrafast Elementary Photochemical Processes of Organic Molecules in Liquid Solution. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 10826–10939.
- (23) Photoinduced Proton Transfer in Chemistry and Biology Symposium - Special Issue. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119*, 2089–2768.
- (24) Hammett, L. P.; Deyrup, A. J. A Series of Simple Basic Indicators. I. The Acidity Functions of Mixtures of Sulfuric and Perchloric Acids with Water. *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, *54*, 2721–2739.
- (25) Paul, M. A.; Long, F. A. H₀ and Related Indicator Acidity Function. *Chem. Rev.* **1957**, *57*, 1–45.
- (26) Jorgenson, M. J.; Hartter, D. R. A Critical Re-Evaluation of the Hammett Acidity Function at Moderate and High Acid Concentrations of Sulfuric Acid. New H₀ Values Based Solely on a Set of Primary Aniline Indicators. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 878–883.
- (27) Olah, G. A.; Prakash, G. K. S.; Sommer, J. Superacids. *Science* **1979**, *206*, 13–20.
- (28) Himmel, D.; Goll, S. K.; Leito, I.; Krossing, I. A Unified pH Scale for All Phases. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 6885–6888.
- (29) Huppert, D.; Kolodney, E. Picosecond Proton Transfer Studies in Water-Alcohols Solutions. *Chem. Phys.* **1981**, *63*, 401–410.
- (30) Tolbert, L. M.; Harvey, L. C.; Lum, R. C. Excited-State Proton Transfer from Hydroxyalkynaphthols. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 13335–13340.
- (31) Gajst, O.; Pinto da Silva, L.; Esteves da Silva, J. C. G.; Huppert, D. Excited-State Proton Transfer from the Photoacid 2-Naphthol-8-sulfonate to Acetonitrile/Water Mixtures. *J. Phys. Chem. A* **2018**, *122*, 6166–6175.
- (32) Finkler, B.; Riemann, I.; Vester, M.; Grüter, A.; Stracke, F.; Jung, G. Monomolecular Pyrenol-Derivatives as Multi-Emissive Probes for Orthogonal Reactivities. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2016**, *15*, 1544–1557.
- (33) Silverman, L. N.; Spry, D. B.; Boxer, S. G.; Fayer, M. D. Charge Transfer in Photoacids Observed by Stark Spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 10244–10249.
- (34) Yamaguchi, A.; Namekawa, M.; Kamijo, T.; Itoh, T.; Teramae, N. Acid-Base Equilibria inside Amine-Functionalized Mesoporous Silica. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 2939–2946.
- (35) Vigh, G.; Estrada, R. T. Solid Phase Fluorescence Labeling Reagents and Uses Thereof. U.S. Patent 9,896,522, February 20, 2018.
- (36) Yates, K.; Wai, H. A Redetermination and Extension of the H₀ Scale of Acidity in Aqueous Perchloric Acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 5408–5413.
- (37) Rhodes, F. H.; Barbour, C. B. The Viscosities of Mixtures of Sulfuric Acid and Water. *Ind. Eng. Chem.* **1923**, *15*, 850–852.
- (38) Brickwedde, L. H. Properties of Aqueous Solutions of Perchloric Acid. *Natl. Bur. Stand.* **1949**, *42*, 309–329.
- (39) László, K. Adsorption from Aqueous Phenol and Aniline Solutions on Activated Carbons with Different Surface Chemistry. *Colloids Surf., A* **2005**, *265*, 32–39.
- (40) Avnir, Y.; Barenholz, Y. pH Determination by Pyranine: Medium-Related Artifacts and Their Correction. *Anal. Biochem.* **2005**, *347*, 34–41.
- (41) Levanov, A. V.; Isaikina, O. Y.; Gurbanova, U. D.; Lunin, V. V. Dissociation Constants of Perchloric and Sulfuric Acids in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. B* **2018**, *122*, 6277–6286.
- (42) Anderson, R. L.; Davis, S. An Organic Phosphorus Assay Which Avoids the Use of Hazardous Perchloric Acid. *Clin. Chim. Acta* **1982**, *121*, 111–116.
- (43) Young, T. F.; Walrafen, G. E. Raman Spectra of Concentrated Aqueous Solutions of Sulphuric Acid. *Trans. Faraday Soc.* **1961**, *57*, 34–39.
- (44) Huppert, D.; Tolbert, L. M.; Linares-Samaniego, S. Ultrafast Excited-State Proton Transfer from Cyano-Substituted 2-Naphthols. *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 4602–4605.
- (45) Marcus, R. A. Electron Transfer Reactions in Chemistry. Theory and Experiment. *Rev. Mod. Phys.* **1993**, *65*, 599–610.
- (46) Andrieux, C. P.; Gamby, J.; Hapiot, P.; Savéant, J. M. Evidence for Inverted Region Behavior in Proton Transfer to Carbanions. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10119–10124.
- (47) Peters, K. S.; Cashin, A.; Timbers, P. Picosecond Dynamics of Nonadiabatic Proton Transfer: A Kinetic Study of Proton Transfer within the Contact Radical Ion Pair of Substituted Benzophenones/N,N-Dimethylaniline. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 107–113.
- (48) Peters, K. A. Theory-Experiment Conundrum for Proton Transfer. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 89–96.

Toward Magic Photoacids:

Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid

Daniel Maus, Alexander Grandjean, and Gregor Jung*

Biophysical Chemistry, Saarland University, Campus B2 2, 66123 Saarbruecken, Germany

*corresponding author: g.jung@mx.uni-saarland.de

Supporting Information

Table of Contents

1. Synthesis and Characterization	S2
2. Absorption titration of compound 3.....	S4
3. Fluorescence titration of compound 2.....	S5
4. Bisulfate titration of compound 2.....	S6
5. Chemical stability of compound 2	S8
6. NMR and mass spectra.....	S9

S1

1. Synthesis and Characterization

General.

All chemicals were obtained from commercial suppliers and were used without further purification. The NMR spectra were recorded at 25 °C on a Bruker AV 400 NMR spectrometer (400.13 MHz (^1H), 100.61 MHz (^{13}C), 376.5 MHz (^{19}F)). Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm). The spectra refer to residual acetone ($\delta = 2.05$ ppm (^1H), $\delta = 29.84$ ppm (^{13}C)) and DMSO ($\delta = 2.50$ ppm (^1H), $\delta = 39.51$ ppm (^{13}C)). The multiplicities are indicated by s (singlet), d (doublet) and q (quartet). The associated coupling constants (J) are given in Hertz (Hz). The mass spectra were recorded on an AB Sciex API 5500 QTRAP with ESI as ionization method.

Tris(2,2,2-trifluoroethyl) 8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonate (**2**).

1-aminopyrene (869 mg, 4 mmol) was added portion-wise to chlorosulfonic acid (7.5 mL). The black solution was stirred at room temperature for 72 hours and subsequently added dropwise (very carefully!) to crushed ice (~100 mL), giving a deep red suspension. Afterwards the dark red solid was isolated via vacuum filtration and was rapidly added to a solution of 2,2,2-trifluoroethanol (5.2 mL, 72 mmol), trimethylamine (10.8 mL, 79 mmol) and N,N-dimethyl-4-amine (24 mg, 0.2 mmol) in dichloromethane (50 mL). After stirring for 48 hours at room temperature, the solution was acidified with diluted hydrochloric acid (1 M). The phases were separated followed by an extraction of the aqueous mixture with dichloromethane. The combined organic solutions were dried over anhydrous sodium sulfate. After rotatory evaporation compound **2** was purified by column chromatography (eluent: petroleum ether 40-60 : ethyl acetate = 7:3) and was obtained as orange powder (1.5 g, 2.1 mmol, 53 %). ^1H -NMR (400.13 MHz, acetone- d_6 , 25 °C): δ (ppm) = 9.25 (s, Ar-H), 9.12 (d, $^3J(\text{H,H}) = 9.5$ Hz, Ar-H), 9.00 (d, $^3J(\text{H,H}) = 9.5$ Hz, Ar-H), 8.83 (d, $^3J(\text{H,H}) = 9.8$ Hz, Ar-H), 8.75 (d, $^3J(\text{H,H}) = 9.8$ Hz, Ar-H), 8.44 (s, Ar-H), 7.47 (s,

S2

NH₂), 4.88 (q, 3J (H,F) = 8.3 Hz, CH₂-CF₃), 4.87 (q, 3J (H,F) = 8.3 Hz, CH₂-CF₃), 4.85 (q, 3J (H,F) = 8.3 Hz, CH₂-CF₃). ¹³C-NMR (100.61 MHz, acetone-d₆, 25 °C): δ (ppm) = 149.6, 136.0, 135.0, 134.5, 132.7, 130.8, 129.0, 127.7, 126.9, 125.1, 124.3, 123.5 (q, 1J (C,F) = 275.8 Hz, 2 x CF₃), 123.4 (q, 1J (C,F) = 276.6 Hz, CF₃), 123.3, 120.7, 119.1, 117.7, 117.6, 66.4 (q, 2J (C,F) = 37.4 Hz, 3x CH₂-CF₃). ¹⁹F-NMR (376.5 MHz, acetone-d₆, 25 °C): δ (ppm) = -74.50, -74.48, -74.47. MS (ESI): *m/z* calc. for C₂₂H₁₃F₉NO₉S₃⁻: 702.0 [M-H⁺]⁻, found 702.0.

8-Aminopyren-N,N,N',N'',N''',N'''-hexamethyl-1,3,6-trisulfonamide (3).

1-aminopyrene (219 mg, 1.0 mmol) was added in small portions to chlorosulfonic acid (5 mL). After stirring for 72 hours at ambient temperature, the black mixture was dropped very carefully to crushed ice (~ 100 mL) causing a precipitation of a dark red solid, which was filtered off. The residue was added immediately to a solution of N,N-dimethylamine in THF (15 mL, 2.0 M) and stirred at room temperature for 48 hours. The solution was acidified with diluted hydrochloric acid (1 M) and the phases were separated, followed by an extraction of the aqueous phase with dichloromethane. The combined organic solutions were dried over anhydrous sodium sulfate and evaporated under reduced pressure. Purification of the residue via column chromatography (eluent: petroleum ether 40-60 : ethyl acetate = 4:6) yielded **3** as orange powder (335 mg, 0.6 mmol, 61 %). ¹H-NMR (400.13 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ (ppm) = 9.12 (d, 3J (H,H) = 9.8 Hz, Ar-H), 8.92 (d, 3J (H,H) = 9.5 Hz, Ar-H), 8.88 (s, Ar-H), 8.81 (d, 3J (H,H) = 9.5 Hz, Ar-H), 8.77 (d, 3J (H,H) = 9.8 Hz, Ar-H), 8.12 (s, Ar-H), 7.65 (s, NH₂), 2.82 (s, N(CH₃)₂), 2.81 (s, N(CH₃)₂), 2.79 (s, N(CH₃)₂). ¹³C-NMR (100.61 MHz, DMSO-d₆, 25 °C): δ (ppm) = 147.9, 134.6, 133.4, 132.8, 130.4, 128.8, 126.8, 126.8, 126.1, 126.0, 125.2, 121.6, 119.0, 116.3, 116.2, 116.6, 37.3, 37.2, 37.2. MS (ESI): *m/z* calc. for C₂₂H₂₇N₄O₆S₃⁺: 539.1 [M+H⁺]⁺, found 539.1.

S3

2. Absorption titration of compound 3

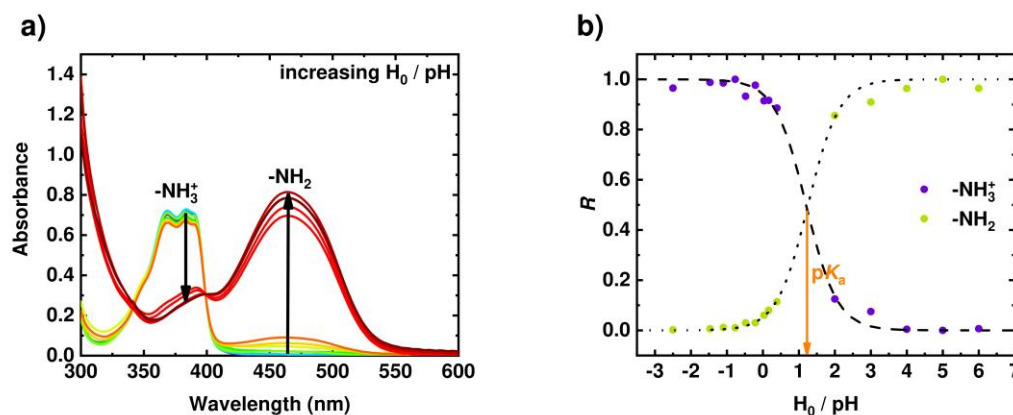


Figure S1. Raw absorption titration spectra of **3** in perchloric acid / buffers (a) and the resulting titration curve (b) of -NH_2 (green dots, dotted curve) and -NH_3^+ (purple dots, dashed curve).

Figure S1a shows the interconversion of the two species with their absorbance maxima at $\lambda_{\text{max}} = 384 \text{ nm}$ (-NH_3^+) and $\lambda_{\text{max}} = 464 \text{ nm}$ (-NH_2). Those values were used to calculate R by equation (1) and plotted vs H_0 / pH. The fits were done with equations (2a) and (2b). The curves (Figure S1b) intersect at $R = 0.5$ giving a pK_a value of 1.2 ± 0.1 . Interestingly, spectra at pH values close to pK_a could not be recorded despite several attempts due to aggregation of **3**.

3. Fluorescence titration of compound 2

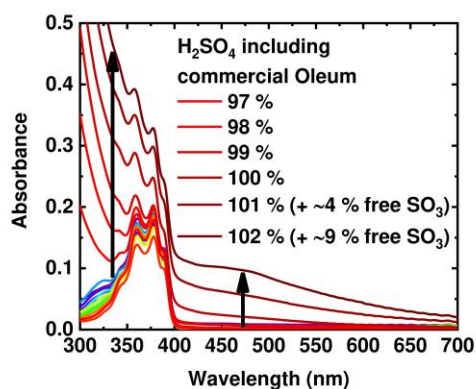


Figure S2. Absorbance spectra of compound **2** in sulfuric acid solutions of different concentrations.

The absorbance spectra associated with the analysis of pK_a^* of compound **2** (Figure 3) are in Figure S2, showing the significant rise of the total absorbance due to the brown color of the samples.

4. Bisulfate titration of compound 2

In order to demonstrate that bisulfate (HSO_4^-) accepts the proton of compound **2** in concentrated sulfuric acid, a HSO_4^- fluorescence emission titration in 100 % sulfuric acid (obtained by adding Oleum (20–30 % free SO_3) to H_2SO_4 (96 %)) was carried out (Figure S3a, Figure S3b). To avoid contamination by water (commercial bisulfates are hygroscopic), various amounts of anhydrous sodium sulfate were added (0–2.06 M (saturated solution)), assuming that each sulfate ion is converted nearly quantitatively into two bisulfate ions via eq. (S1).



The fluorescence emission ratios of the samples including 1 M HSO_4^- ($I_{\text{NH}_2}/I_{\text{NH}_3^+} = 0.25$) and 99 % H_2SO_4 ($I_{\text{NH}_2}/I_{\text{NH}_3^+} = 0.27$), which is also approx. 1 M HSO_4^- , are nearly identical (Figure S3c).

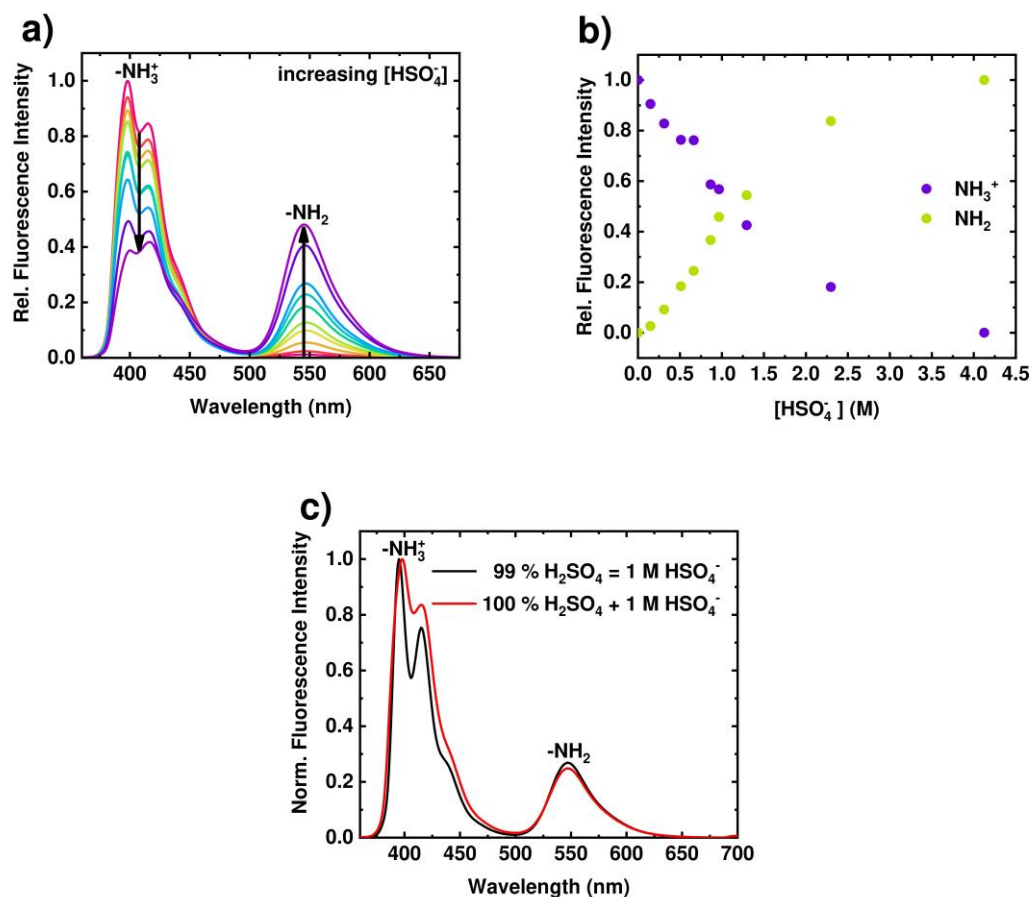


Figure S3. Fluorescence emission spectra of the bisulfate titration of **2** (a), associated titration curve (b) and comparison of 99% H_2SO_4 (black curve) and 100 % H_2SO_4 including 1 M HSO_4^- (red curve) (c).

5. Chemical stability of compound 2

Compound **2** (40 mg) was dissolved in concentrated sulfuric acid (96 %, 5.84 mL). Afterwards oleum (20–30 % free SO₃, 4.17 mL) was added. The slight brownish mixture was stirred at room temperature for 24 hours. During that time, the colour of the mixture has not changed. The solution was added to crushed ice (~ 50 mL) and extracted with dichloromethane (3 x 50 mL). The colourless aqueous phase showed only faint green fluorescence. The organic solvents were combined, dried over anhydrous sodium sulfate and were evaporated under reduced pressure. The ¹H-NMR spectrum of the remaining orange powder and the starting solid show no significant changes (Figure S20).

S8

6. NMR and mass spectra

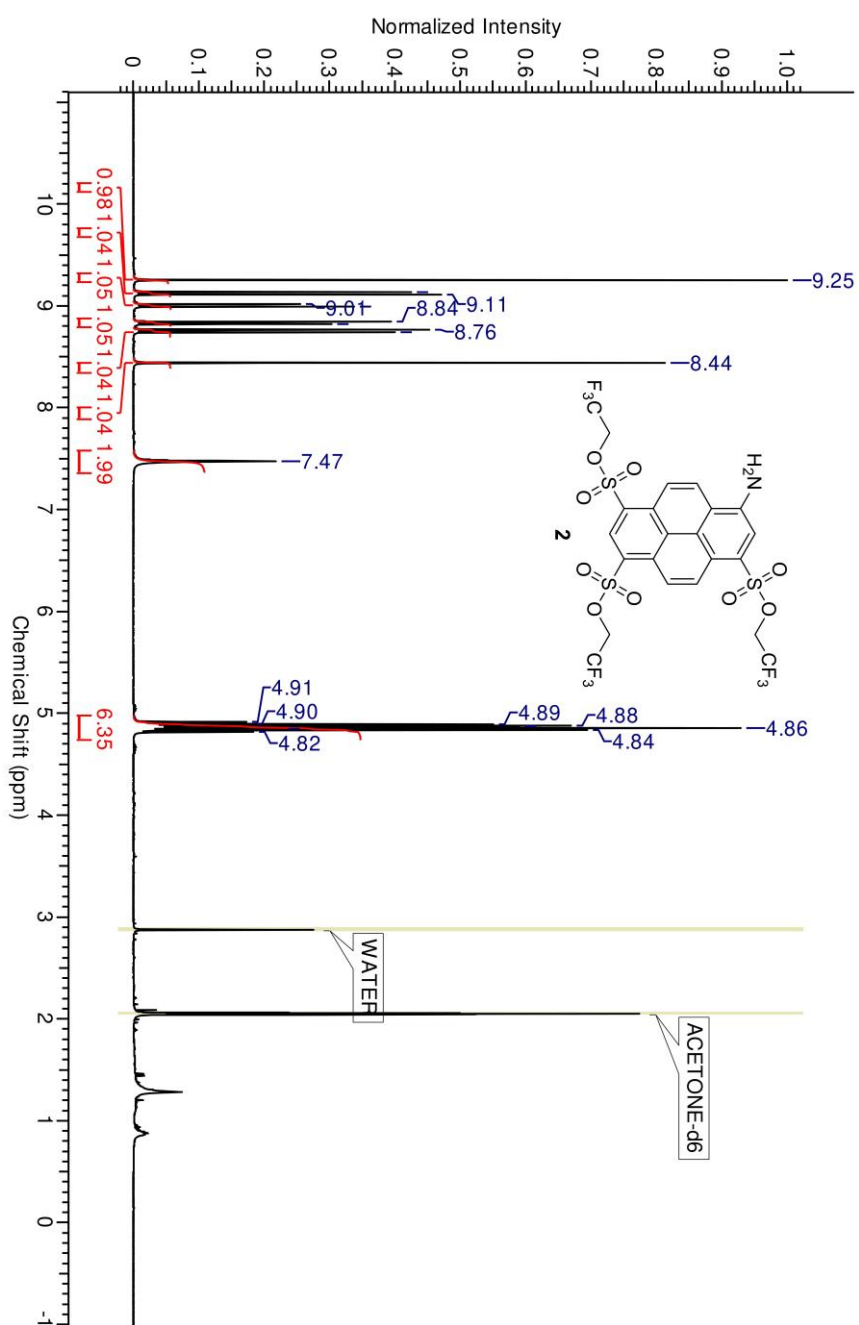


Figure S4. ^1H -NMR (400.13 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound 2.

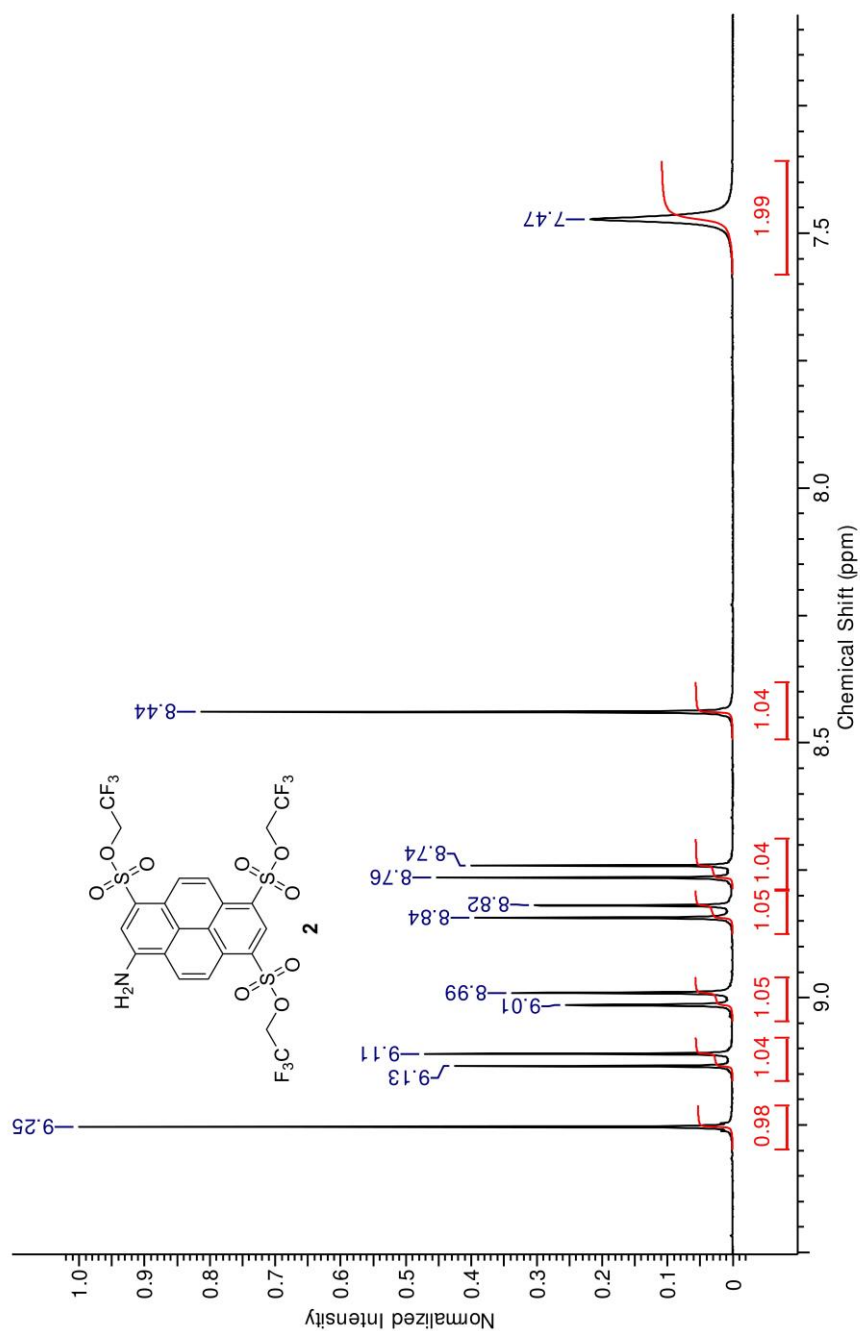


Figure S5. ¹H-NMR (400.13 MHz, acetone-d₆, 25 °C) spectrum of compound **2** (zone I).

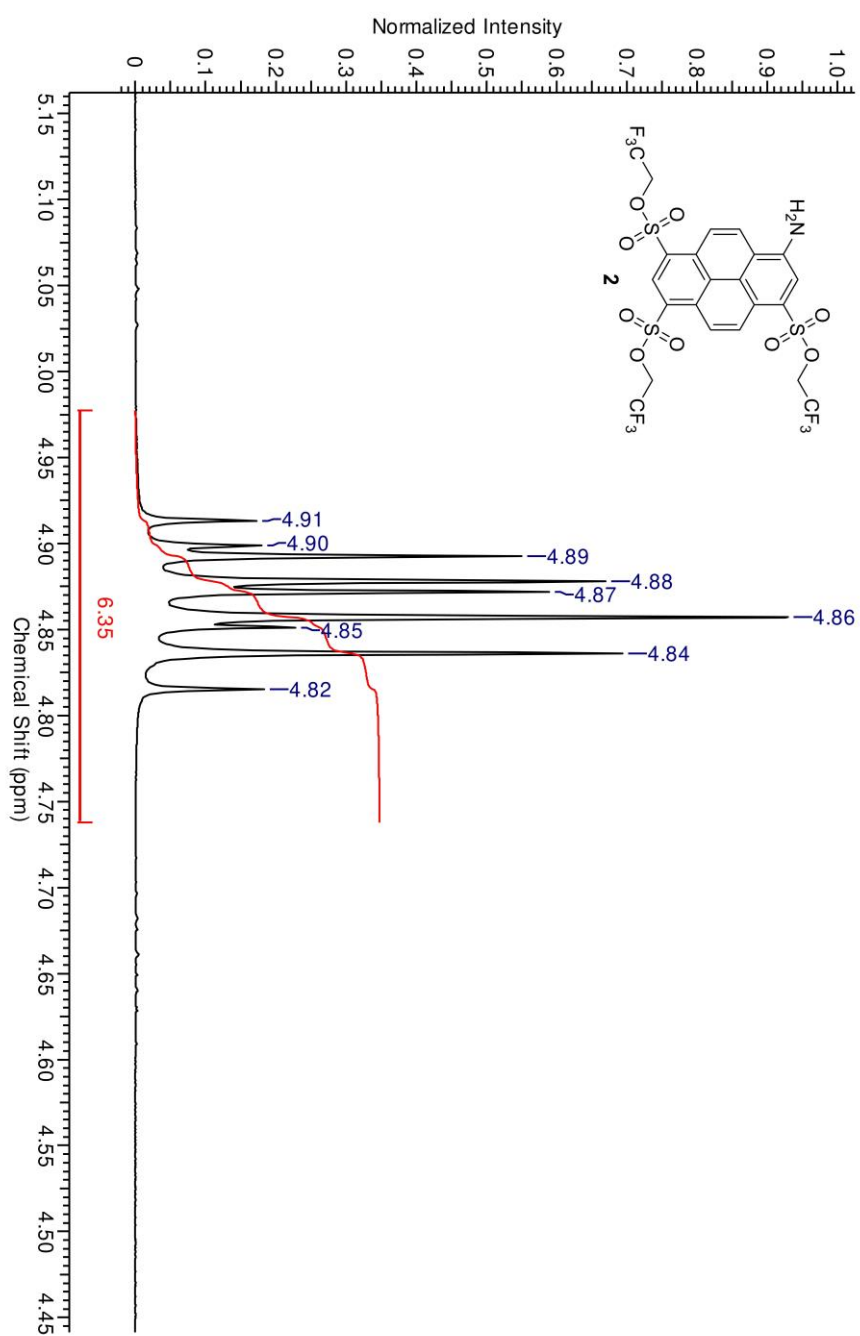


Figure S6. ^1H -NMR (400.13 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **2** (zone 2).

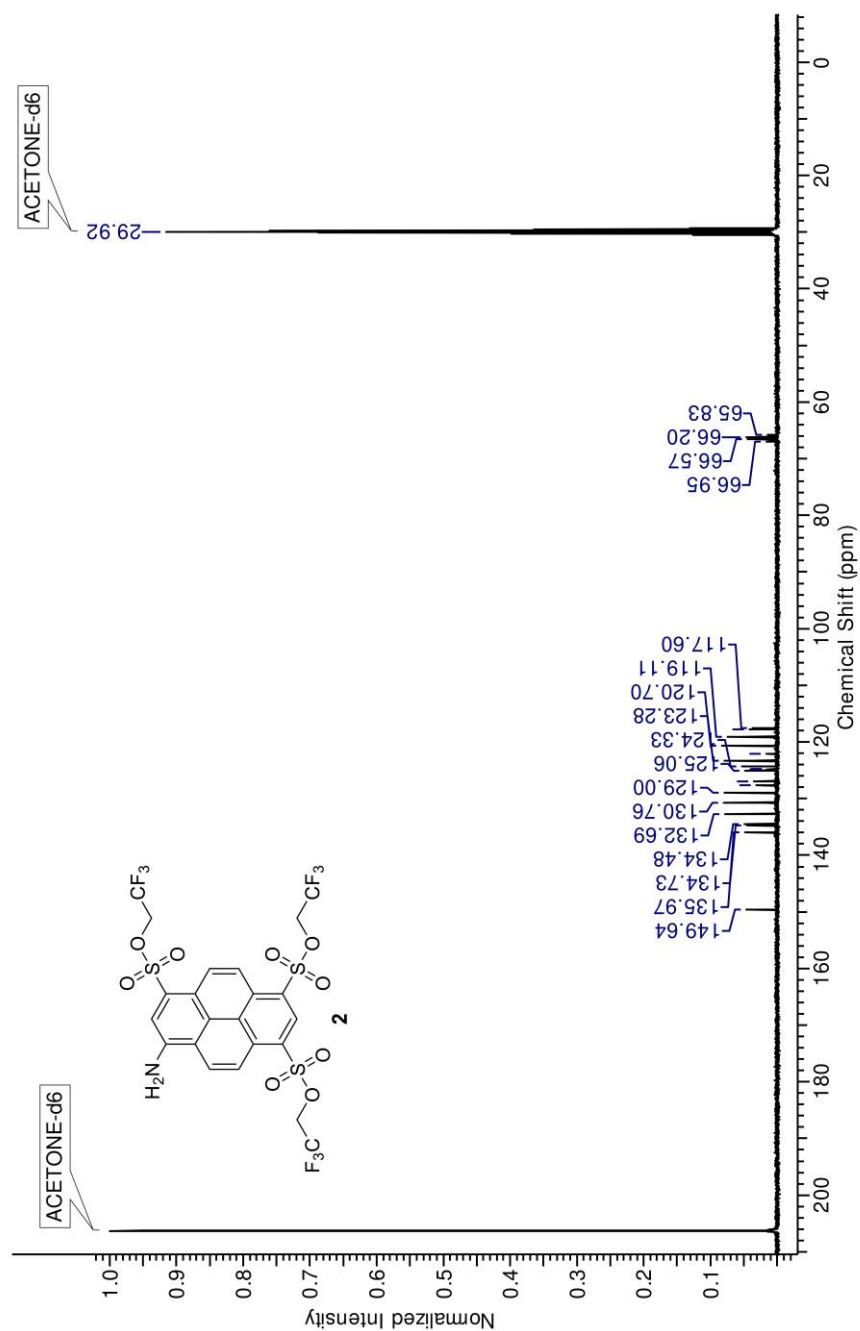


Figure S7. ^{13}C -NMR (100.61 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **2**.

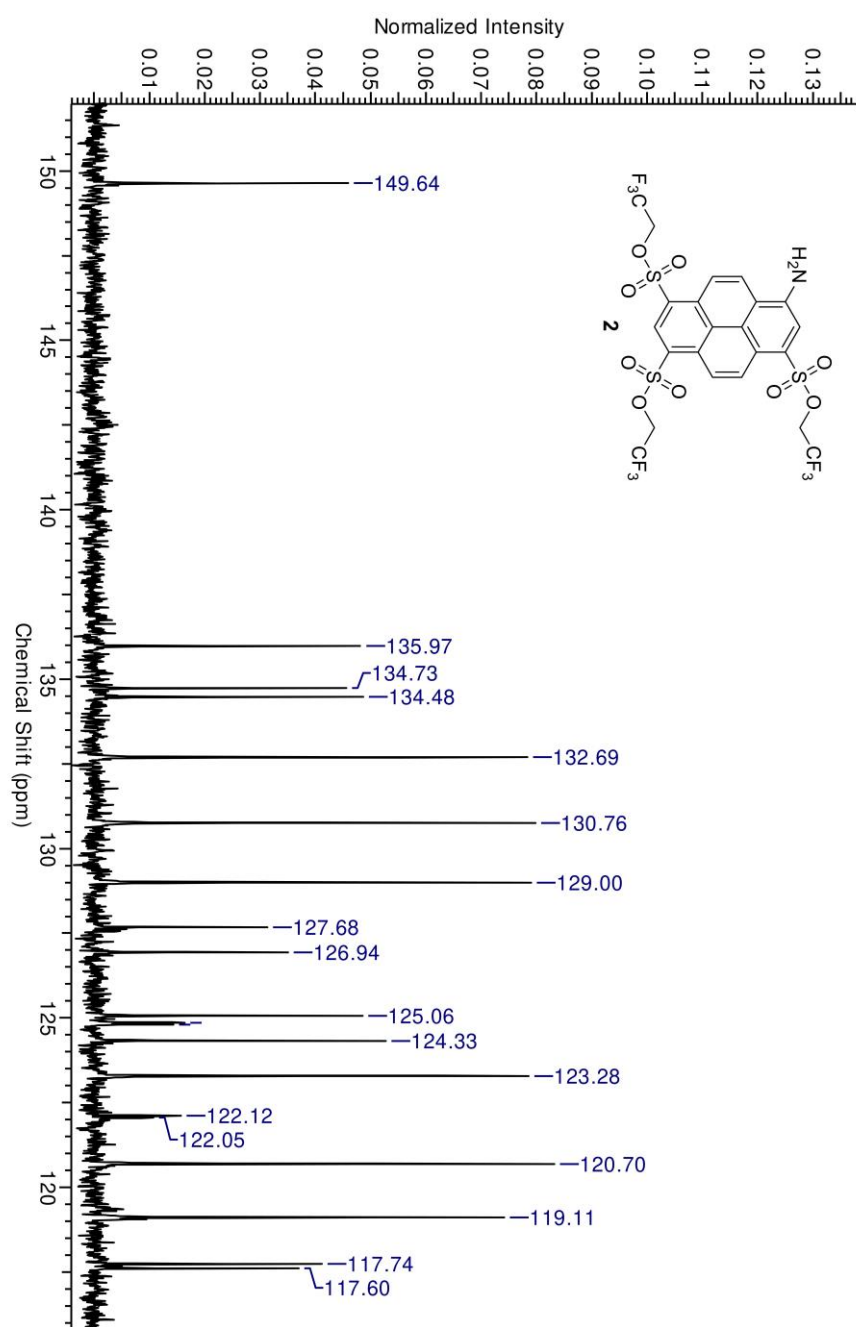


Figure S8. ^{13}C -NMR (100.61 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **2** (zone I).

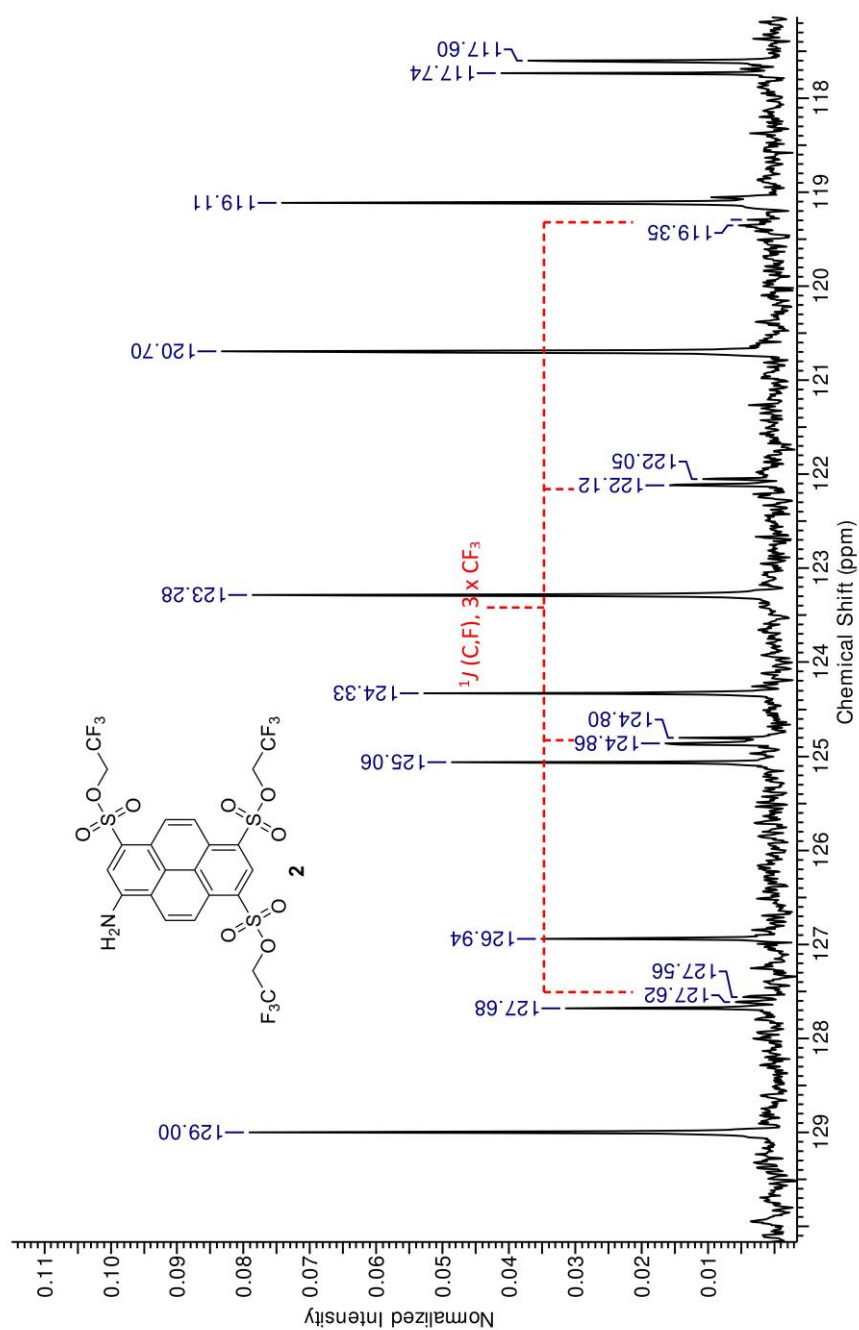


Figure S9. ^{13}C -NMR (100.61 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **2** (zone 2).

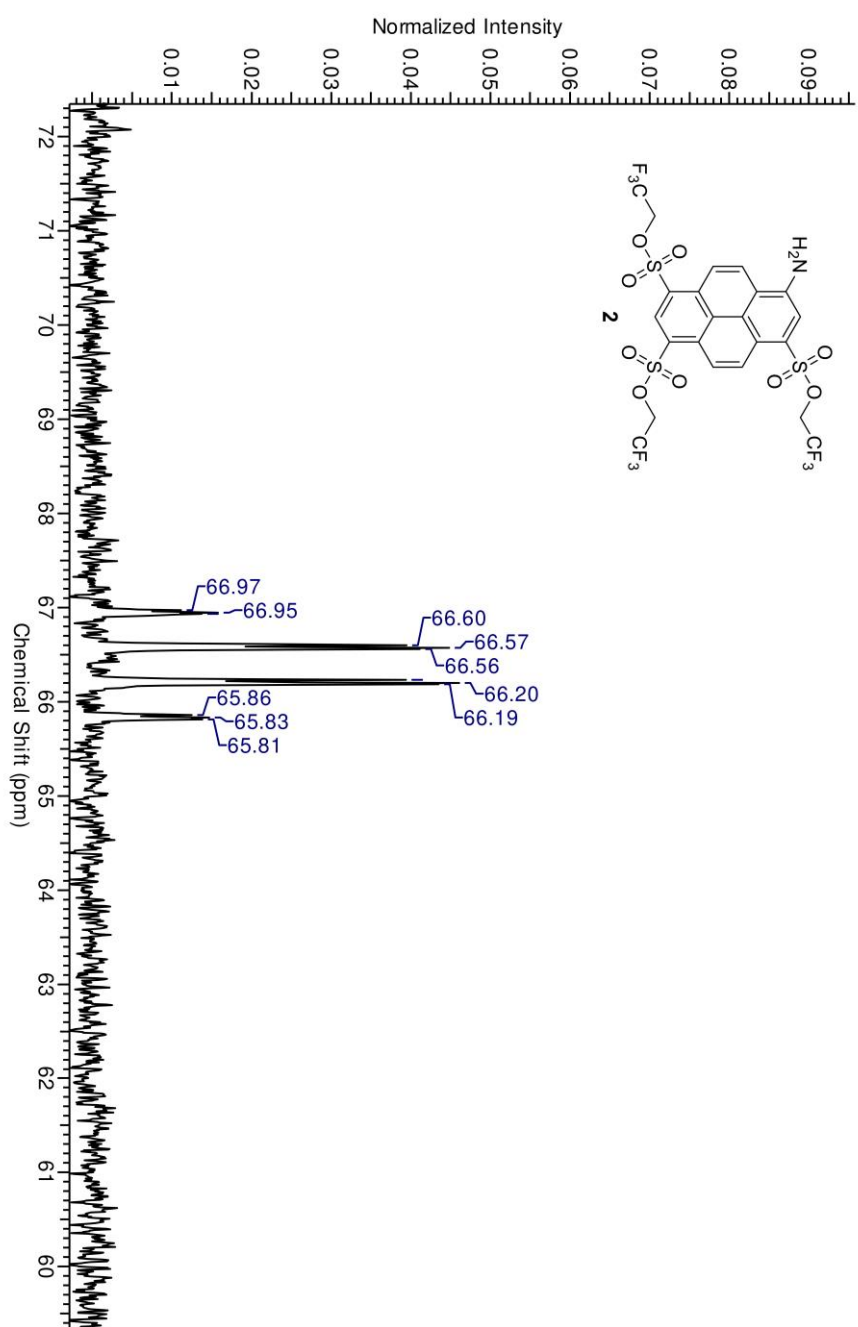


Figure S10. ¹³C-NMR (100.61 MHz, acetone-d₆, 25 °C) spectrum of compound **2** (zone 3).

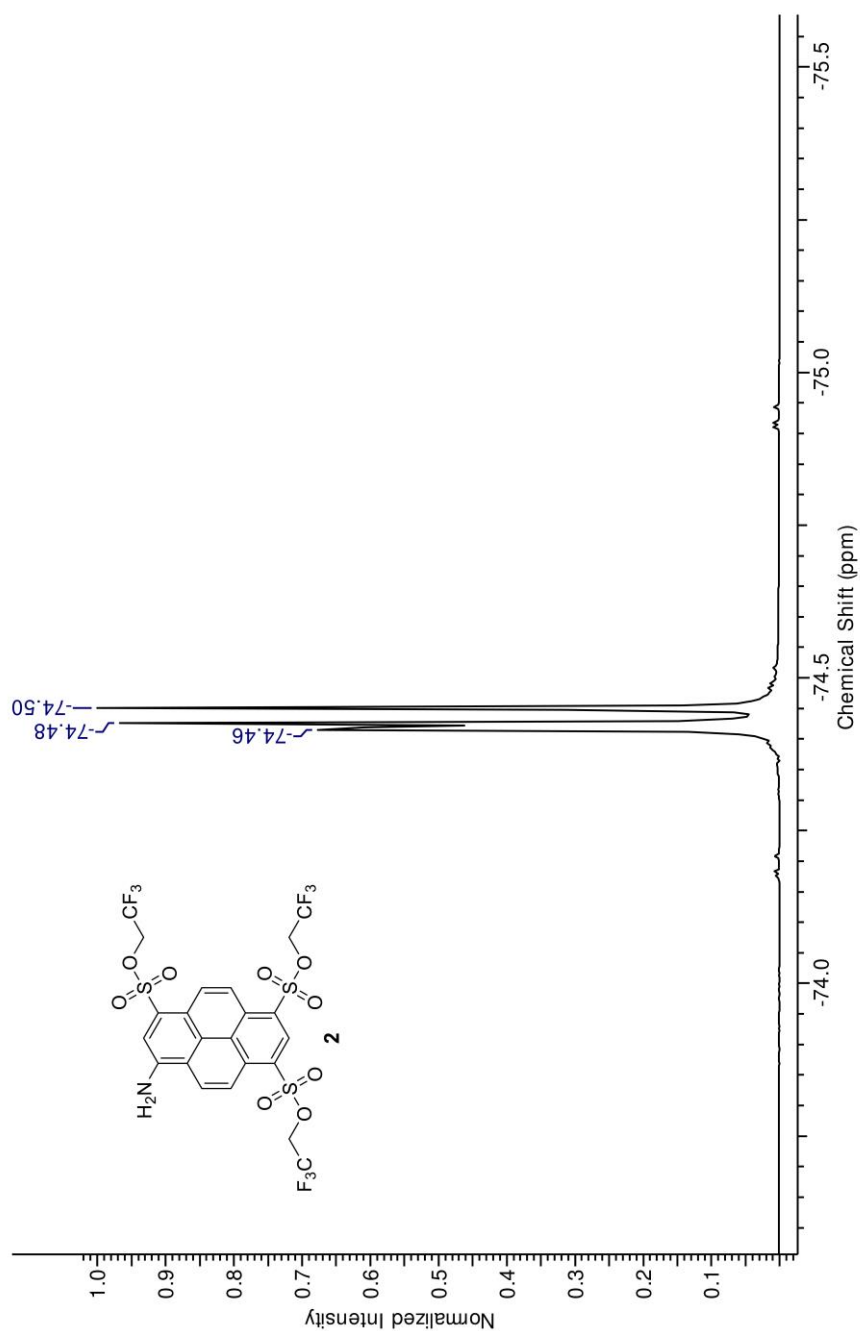


Figure S11. ^{19}F -NMR (376.5 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **2**.

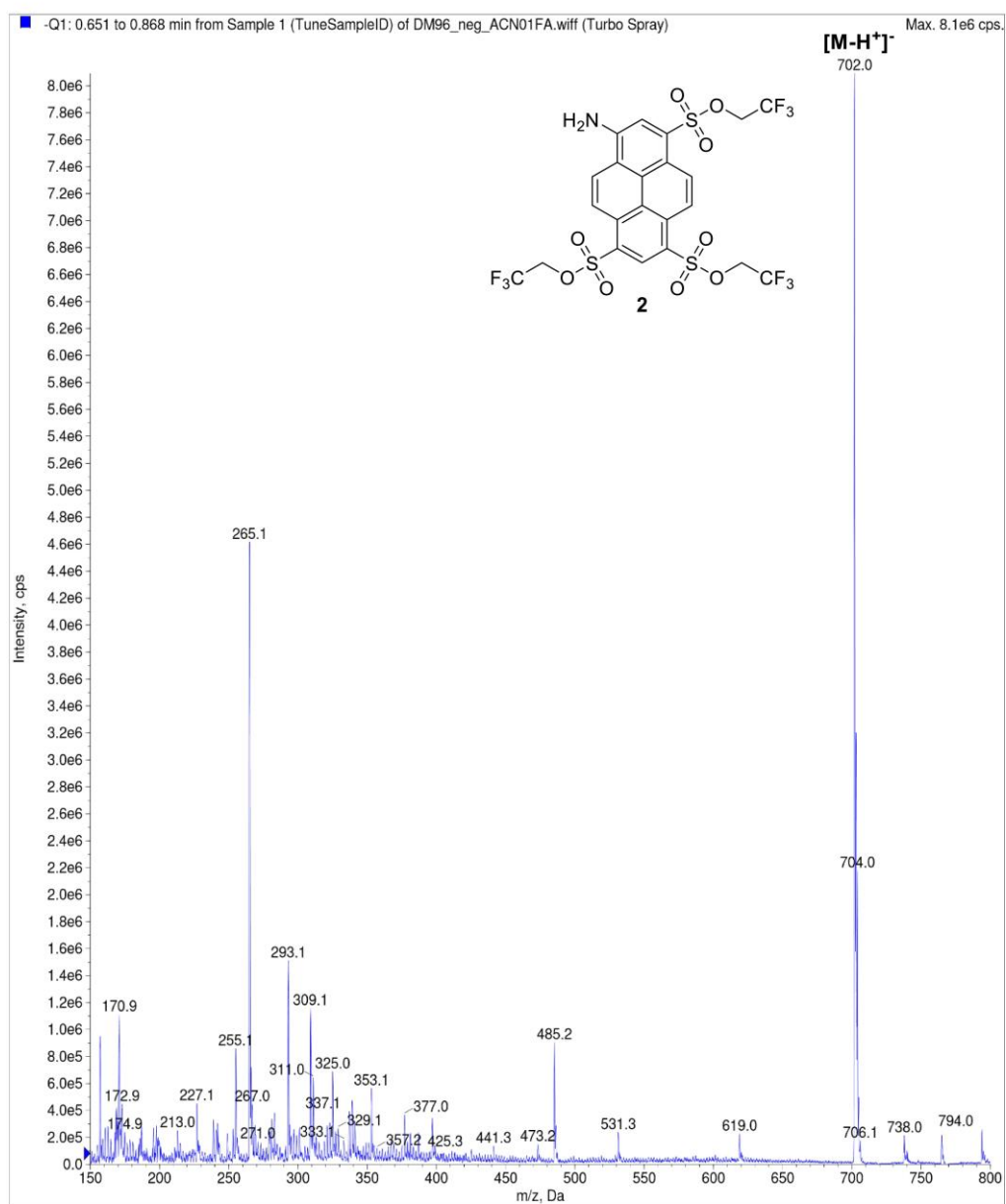


Figure S12. Mass spectrum (ESI, negative ion mode) of **2**.

S17

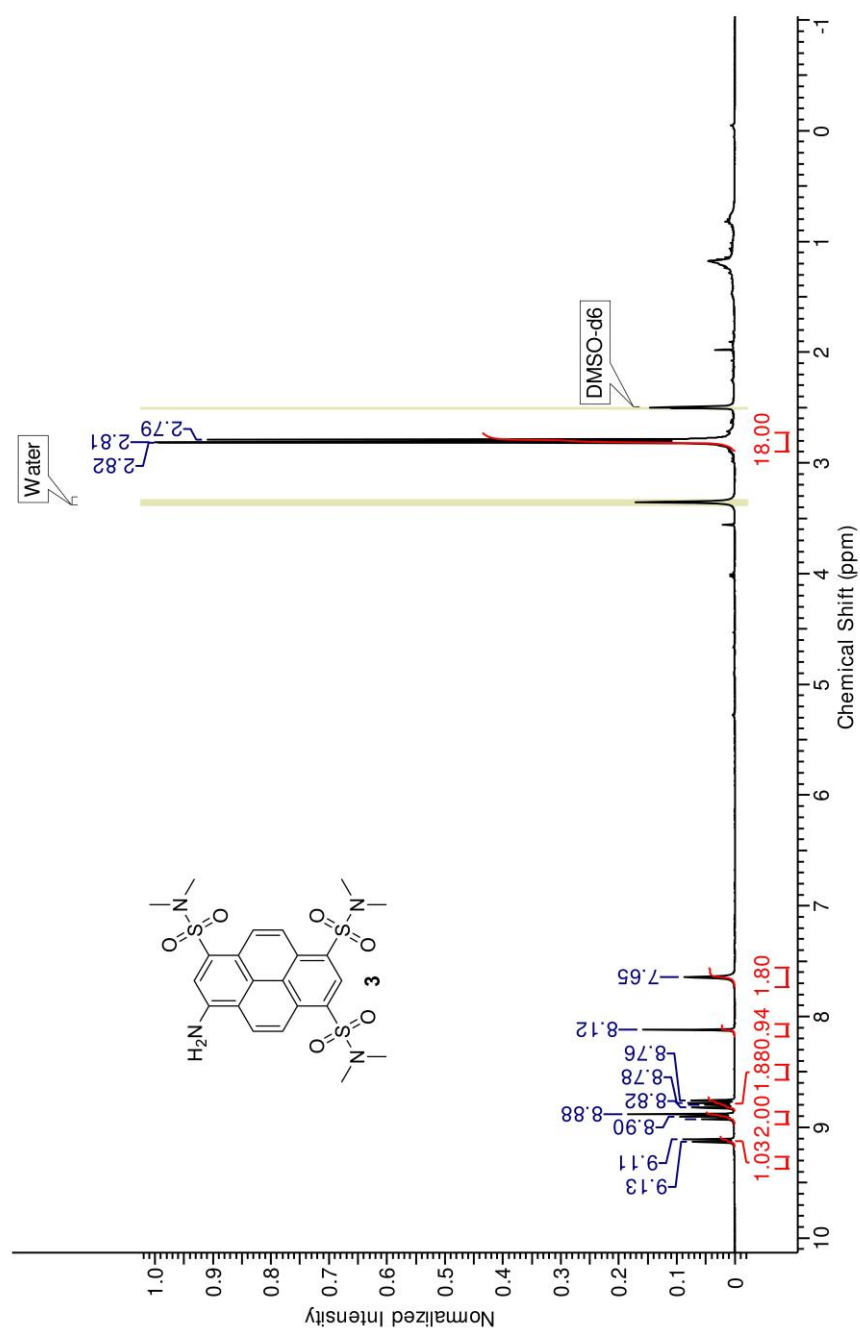
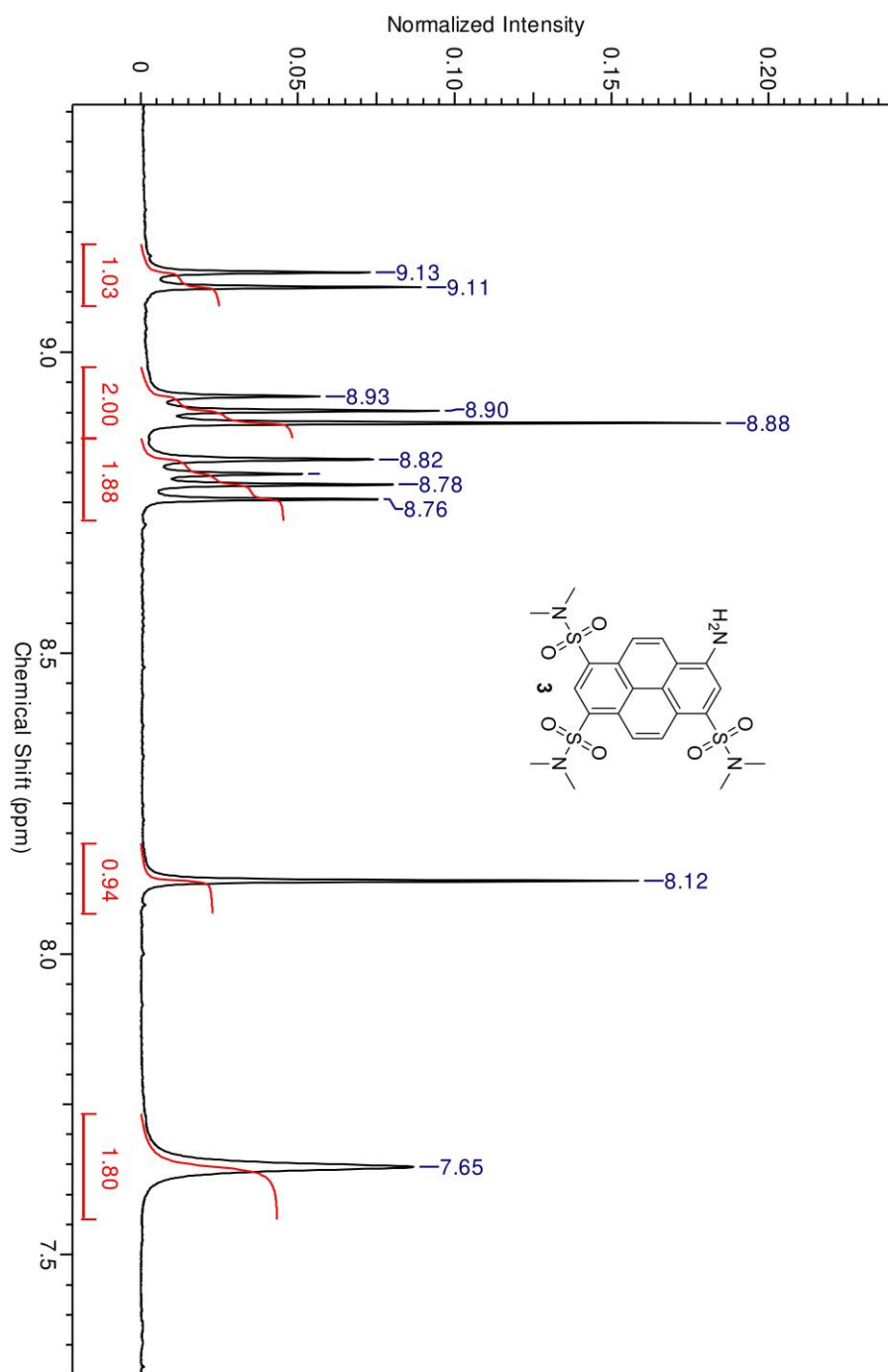


Figure S13. ¹H-NMR (400.13 MHz, DMSO-d₆, 25 °C) spectrum of compound **3**.

Figure S14. ^1H -NMR (400.13 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C) spectrum of compound **3** (zone 1).



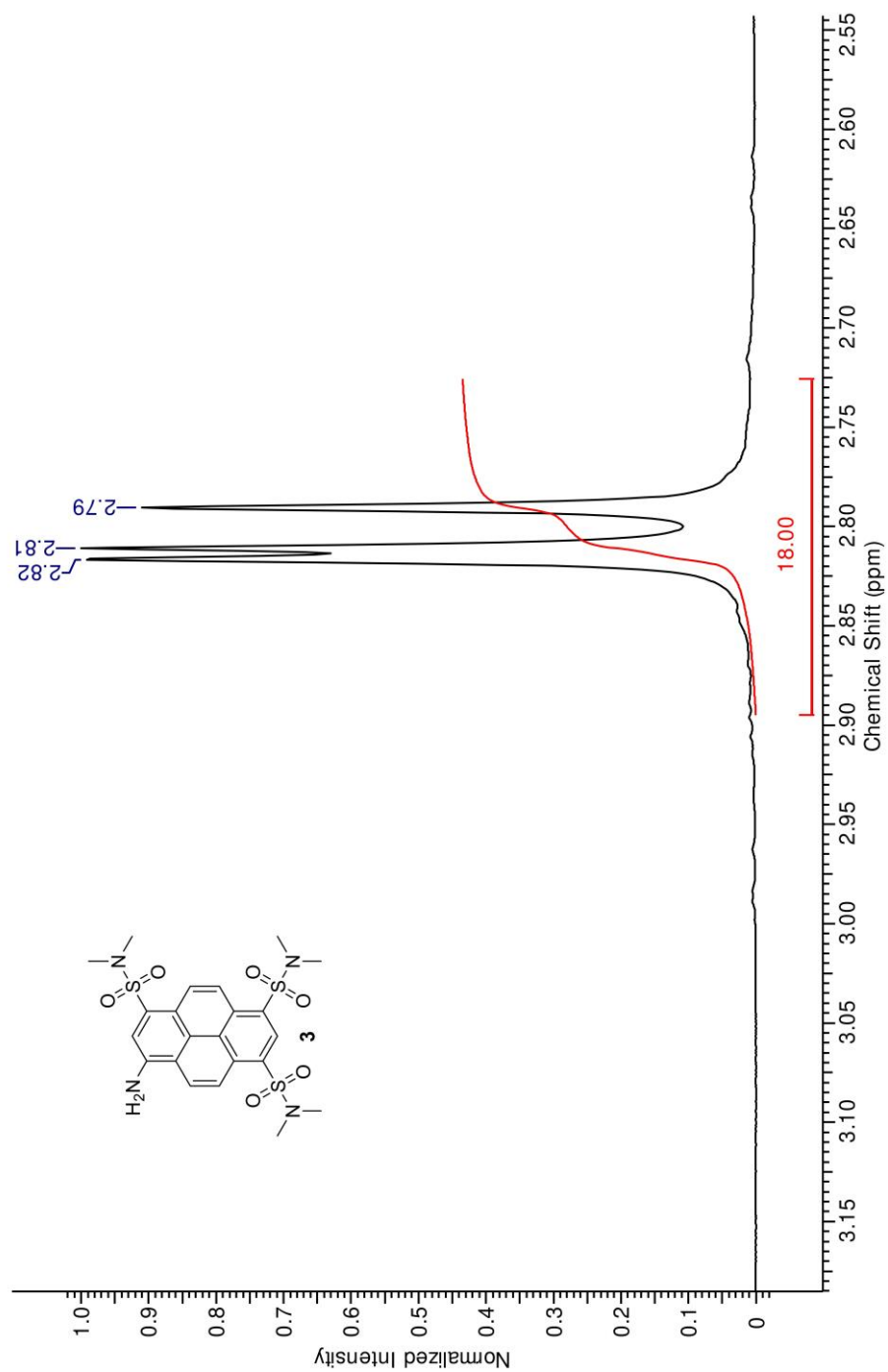
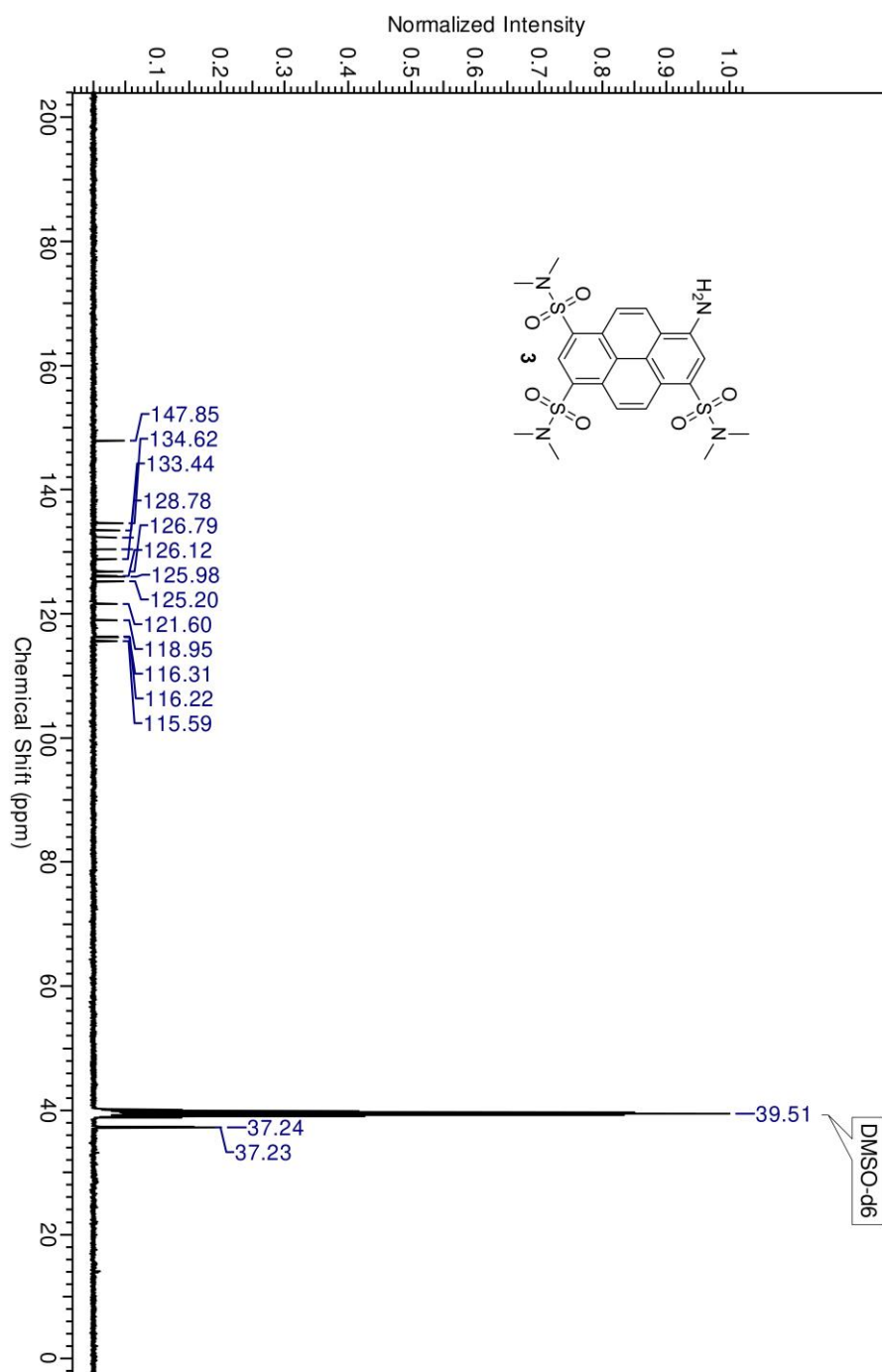


Figure S15. ¹H-NMR (400.13 MHz, DMSO-d₆, 25 °C) spectrum of compound **3** (zone 2).

Figure S16. ^{13}C -NMR (100.61 MHz, DMSO-d_6 , 25 $^\circ\text{C}$) spectrum of compound **3**.



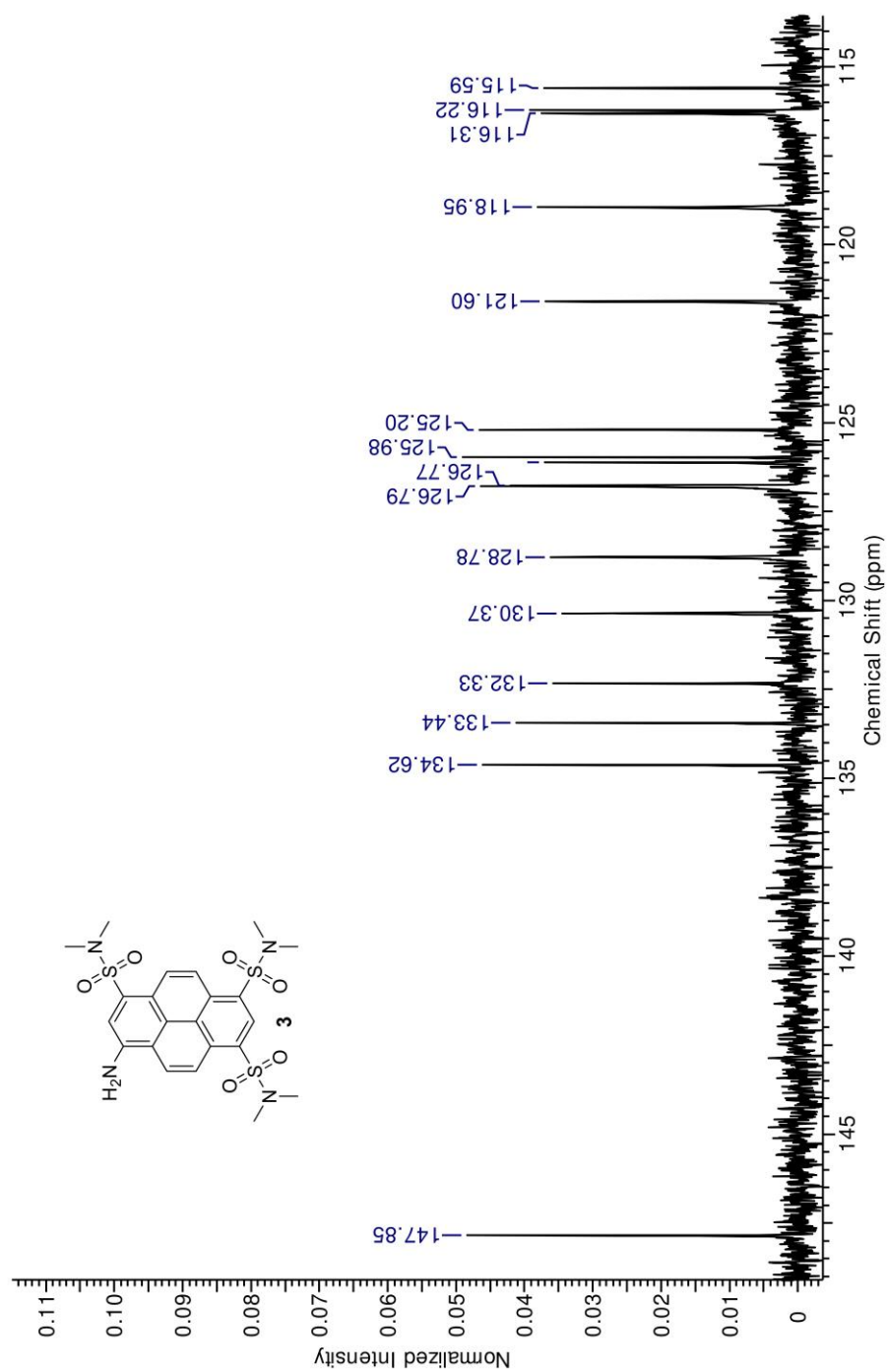


Figure S17. ¹³C-NMR (100.61 MHz, DMSO-d₆, 25 °C) spectrum of compound **3** (zone 1).

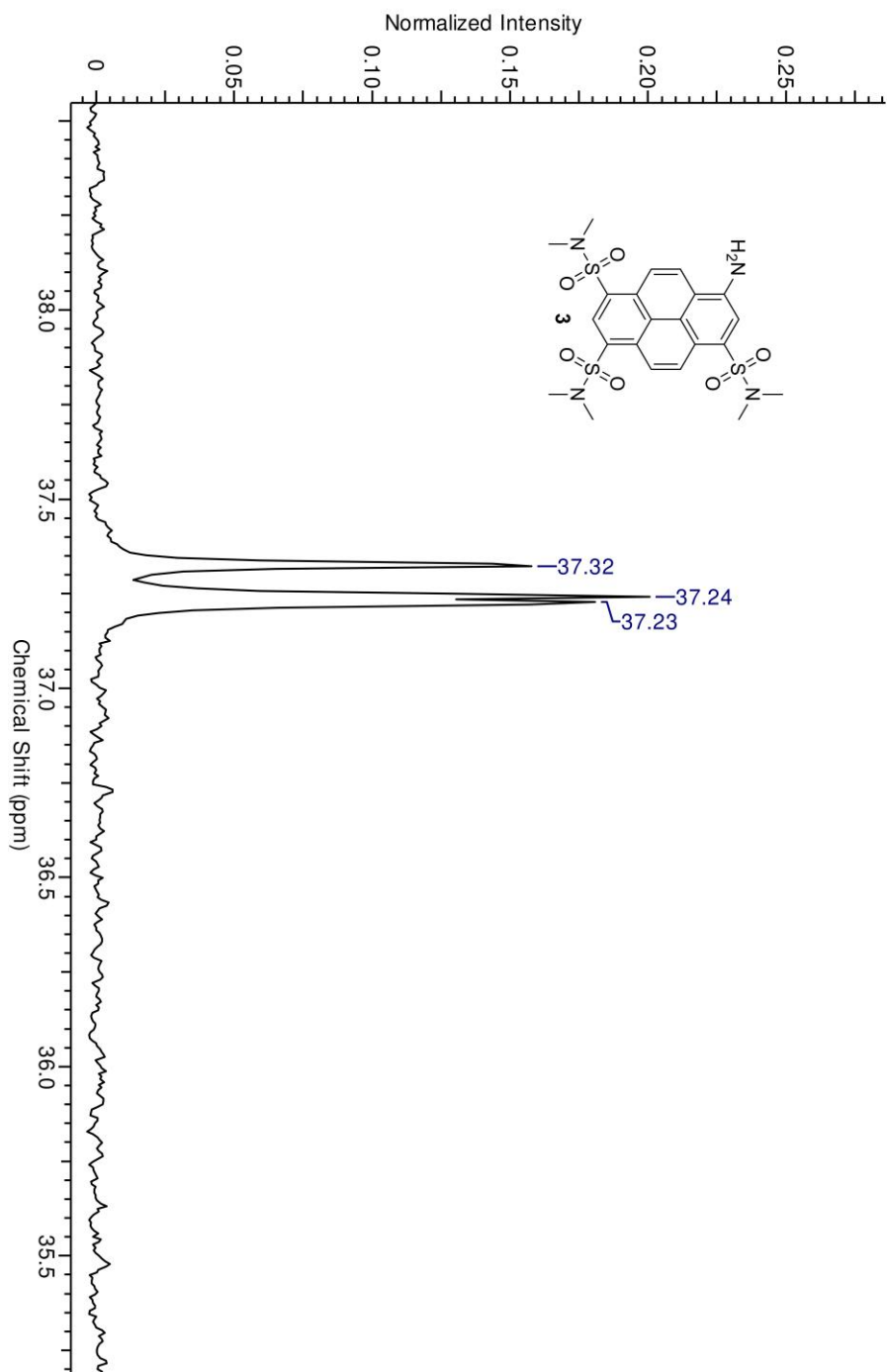


Figure S18. ^{13}C -NMR (100.61 MHz, DMSO-d_6 , 25 °C) spectrum of compound **3** (zone 2).

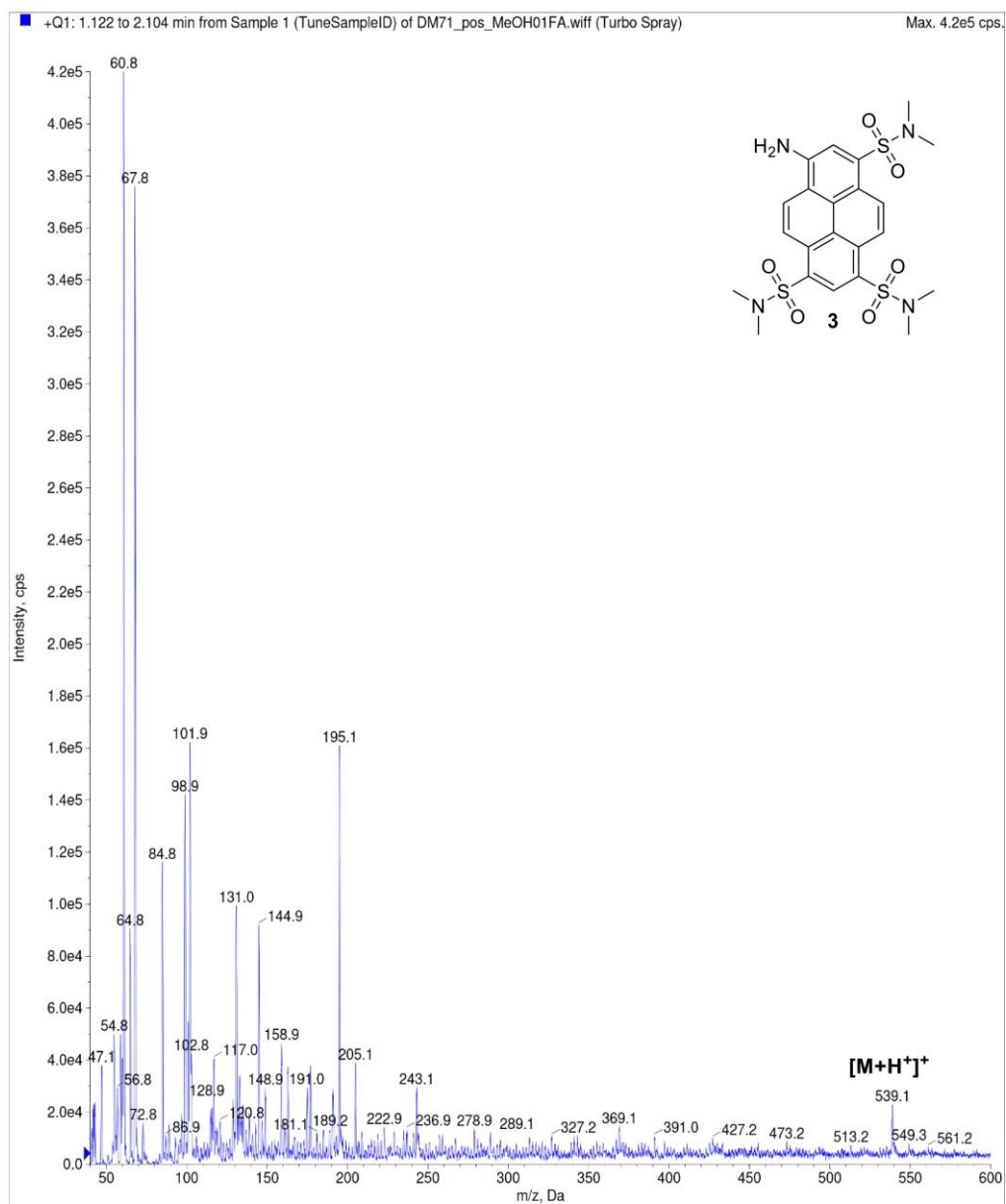
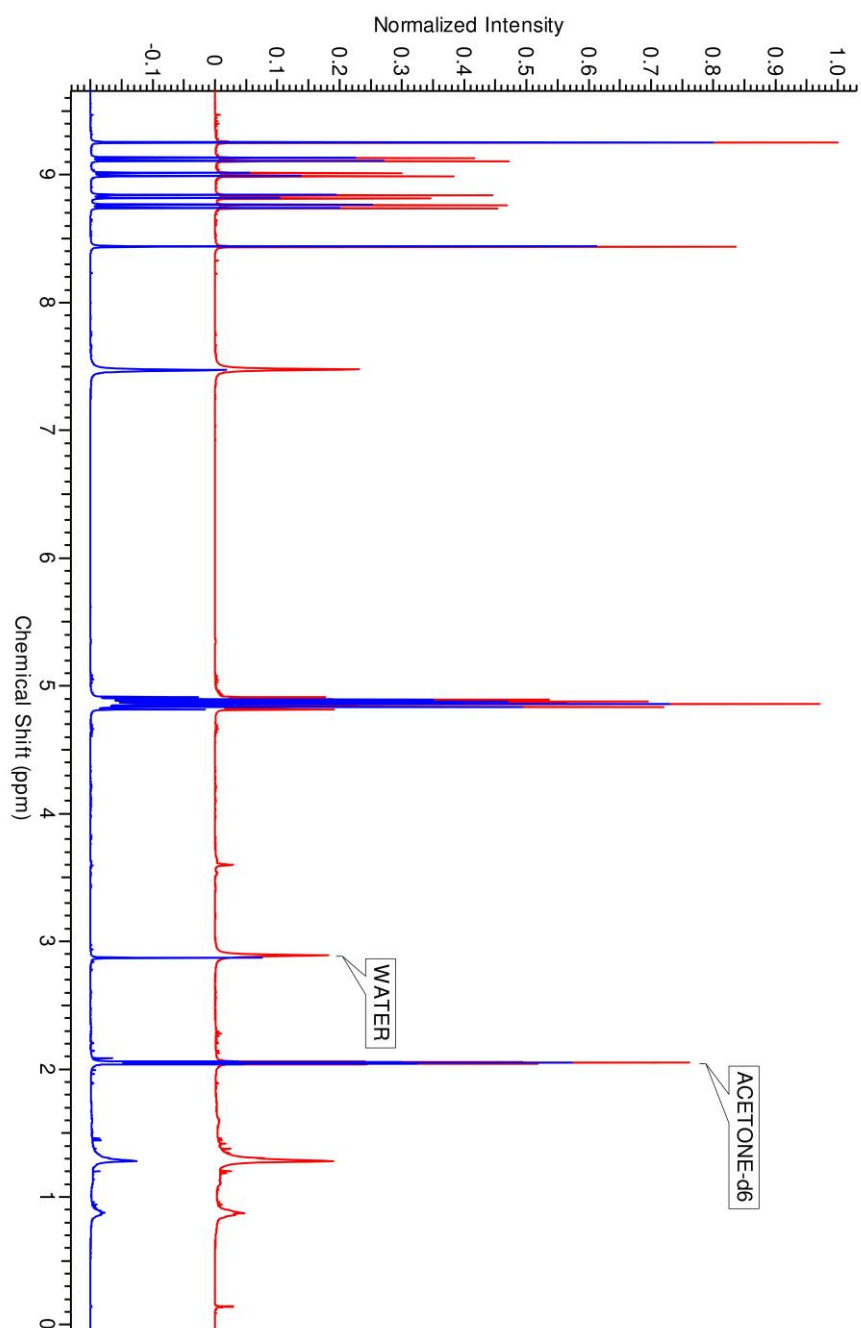


Figure S19. Mass spectrum (ESI, positive ion mode) of **3**.

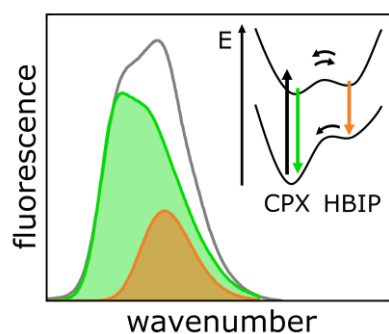
S24

Figure S20. ^1H -NMR (400.13 MHz, acetone- d_6 , 25 °C) spectra of compound **2** before (blue) and after (red) chemical stability check.



5.2. Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer

Alexander Grandjean, J. Luis Pérez Lustres, Stephan Muth, Daniel Maus, Gregor Jung, *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, 12, 1683-1689.



Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer

Alexander Grandjean, J. Luis Pérez Lustres, Stephan Muth, Daniel Maus, and Gregor Jung*

Cite This: *J. Phys. Chem. Lett.* 2021, 12, 1683–1689

Read Online

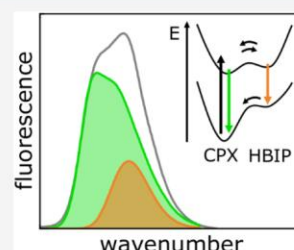
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Despite the outstanding relevance of proton transfer reactions, investigations of the solvent dependence on the elementary step are scarce. We present here a probe system of a pyrene-based photoacid and a phosphine oxide, which forms stable hydrogen-bonded complexes in aprotic solvents of a broad polarity range. By using a photoacid, an excited-state proton transfer (ESPT) along the hydrogen bond can be triggered by a photon and observed via fluorescence spectroscopy. Two emission bands could be identified and assigned to the complexed photoacid (CPX) and the hydrogen-bonded ion pair (HBIP) by a solvatochromism analysis based on the Lippert–Mataga model. The latter indicates that the difference in the change of the permanent dipole moment of the two species upon excitation is ~ 3 D. This implies a displacement of the acidic hydrogen by ~ 65 pm, which is in quantitative agreement with a change of the hydrogen bond configuration from $\text{O} \cdots \text{H} \cdots \text{O}$ to ${}^-\text{O} \cdots \text{H} - \text{O}^+$.



Proton transfer (PT) is one of the most fundamental reactions in chemistry, plays an important role in biology, and is at the core of many technical applications.^{1–4} Since the first description of the Förster cycle^{5,6} in 1949, photoinduced excited-state proton transfer (ESPT) was established as a mighty tool in mechanistic investigations of the proton transfer reaction.^{7–21} ESPT is induced by the strong reduction of the pK_a value of so-called photoacids upon optical excitation. Especially the transfer of the proton to the surrounding bulk solvent or to a buffer molecule has been widely studied.^{7–21} This work showed, at first, that strong photoacids reach excited-state dissociation rates limited by the solvent relaxation time.^{8,9,19,22} Second, solvent basic character is essential for PT to solvent to occur. Last, for strong photoacids, photoinduced PT to solvent takes place via the contact ion pair, which is formed in high concentrations, as pair splitting is much slower than the reversible intrashell PT step.^{9,19,21} In most of these systems, a change of the solvent also entails a variation of the proton acceptor. Therefore, there are comparatively few studies addressing the effect of the surroundings on the initial elementary step decoupled from a change of the proton acceptor. To fill this gap, a stable hydrogen-bonded photoacid–base complex, more stable than previous systems,¹⁰ is desirable. Such systems^{23–26} can be exposed to different solvents, i.e., different surroundings, where they act as a reactive probe for the solvent polarity. Thus, the extent of the proton transfer reaction in an optimized PT pair reports about the polarity of the surroundings, which is quantified by the relative emission of the PT reactants and products. Since both emissions are spectrally separated, this kind of PT pair makes polarity studies at single-molecule level possible. This idea motivates our work.

A five-species model constitutes the most general description of intermolecular PT.^{9–19,21,27–29} Those species are the neutral acid (ROH), the encounter/reactive complex between ROH and base (CPX), the hydrogen-bonded ion pair (HBIP), the solvent-separated ion pair (SSIP), and the fully separated ion pair (FSIP). Whereas the elementary proton transfer step takes place between CPX and HBIP, the subsequent stages comprise the dissociation of the ion pair. In the SSIP the reaction partners are separated by only a few solvent molecules and remain loosely bound by Coulomb forces.^{17,18} Their recombination kinetics including the escape probability of the proton were addressed in a previous publication and will not be considered here any further.³⁰ Moreover, previous work on the photoacid studied here have demonstrated that SSIP and FSIP are spectrally indistinguishable in steady-state experiments and will therefore be denoted as RO^- in the following, simplifying the described model to four species (Scheme 1).

In previous work, we have established pyrene-based superphotoacids with estimated pK_a^* values down to -4 in the excited state, high photostability, and high fluorescence quantum yields.³¹ They proved to be versatile probes for single-molecule microscopy^{32,33} and time-resolved spectroscopy.^{7,30} The focus is now placed on the elementary proton

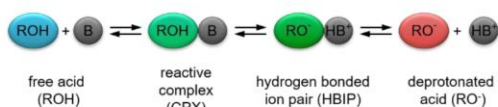
Received: December 6, 2020

Accepted: February 1, 2021

Published: February 9, 2021

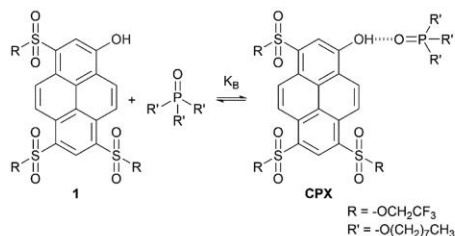


Scheme 1. Eigen–Weller Model of Proton Transfer Reactions



transfer step, that is, the formation of the HBIP: How does the surrounding solvent influence the PT process?

In the presented system (Scheme 2), a pyrene-based photoacid³¹ is complexed with a phosphine oxide. The basicity of the phosphine oxide is carefully selected, becoming protonated after excitation and deprotonated in the electronic ground state, while promoting strong hydrogen bonds and, concomitantly, high complexation constants (see section S2.2).

Scheme 2. Complexation Equilibrium of Photoacid 1³¹ with Tri-*n*-octylphosphine Oxide (TOPO)^a

^aDerivatives of the photoacid and the ligand are described in the Supporting Information.

Figure 1 exemplarily shows the analysis of the titration of photoacid 1 with TOPO in toluene. The absorption band of the photoacid with a maximum at 426 nm gives rise to another band at 445 nm upon addition of TOPO, with an isosbestic point at 432 nm (Figure 1a). A similar behavior is observed for the fluorescence maximum, which shifts from 456 nm for the pure photoacid to 481 nm with higher TOPO concentrations (Figure 1b). An isoemissive point is observed at around 500 nm and, hence, the fluorescence signal increases at wavelengths >500 nm. The analysis of the fluorescence (at 550 nm) and absorption (at 450 nm) signal via eq S12 (see section S2.1) results in nearly identically binding constants with $K_{B,abs} = (271 \pm 12) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $K_{B,fl} = (277 \pm 15) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ (Figure 1c). The stability constants for the other solvents are between 10^3 and 10^7 M^{-1} and are listed in Table 1. Additional spectroscopic data provide evidence for 1:1 binding between the OH-moiety and the P=O function of TOPO. For more details on the complexation, see section S2.

The moderate to high stability constants enable us to find conditions with a complexation ratio of >97% for photoacid 1 in all solvents, whereby the amount of uncomplexed photoacid is negligible (see Table S1). The bathochromic shifts of the absorption and fluorescence spectra during the complexation of photoacid 1 with TOPO (Figure 1) are expected on the basis of our previous solvatochromic studies.³⁴ In the Kamlet–Taft scale, phosphine oxides exhibit a much higher hydrogen bond acceptor ability β (~ 1.05) than any solvent used in the current study, which explains the distinct bathochromic shift.^{35,37–39} Further solvatochromism in absorption spectra is negligible in agreement with ref 34.

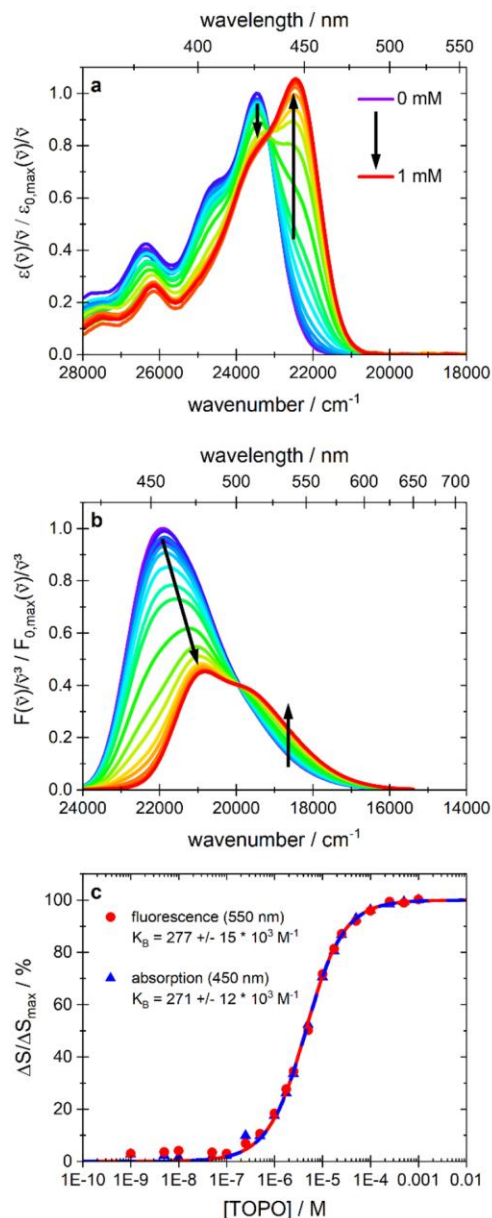
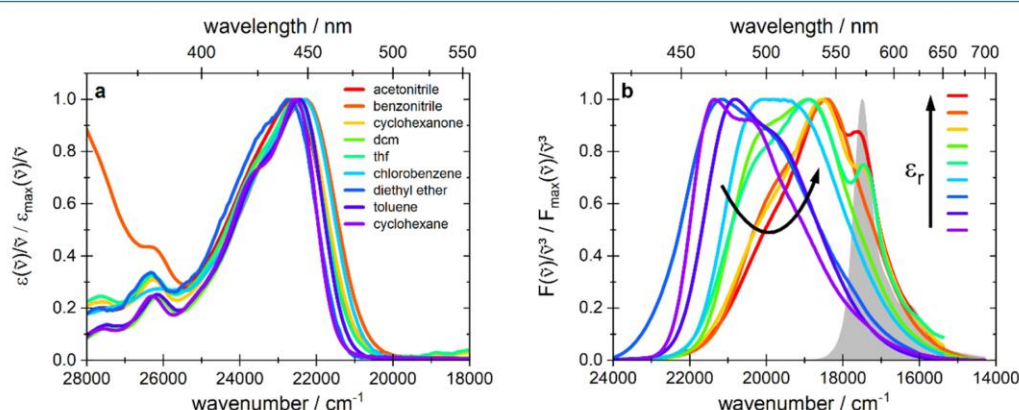


Figure 1. Relative absorption (a) and fluorescence (b, $\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$) spectra of photoacid 1 ($1.7 \mu\text{M}$) titrated with TOPO (0–1 mM) in toluene and the corresponding titration curves (c). The latter were obtained from the relative signal change ($\Delta S/\Delta S_{max}$) at 450 nm for the absorption (blue triangles) and at 550 nm for the fluorescence (red dots), respectively, and fitted with eq S12 (Supporting Information).

Changing the solvent, in which the complex is dissolved, to a more polar one causes a change of the fluorescence maximum from $\lambda_{max} = 467 \text{ nm}$ in cyclohexane to $\lambda_{max} = 537 \text{ nm}$ in acetonitrile, whereas the maximum of the absorption spectra

Table 1. Solvent Parameters^{34–36} Relative Permittivity ϵ_r , Refractive Index n , and Orientation Polarizability Δf of the Used Solvents and the Binding Constants K_B of Photoacid 1 with TOPO^a

solvent	ϵ_r	n	Δf	$K_{B,abs} (10^3 M^{-1})$	$K_{B,fl} (10^3 M^{-1})$
cyclohexane	2.02	1.426	0	9348 ± 541	6016 ± 1899
toluene	2.38	1.497	0.01	271 ± 12	277 ± 15
diethyl ether	4.27	1.353	0.17	4.7 ± 0.3	5.0 ± 0.6
chlorobenzene	5.69	1.524	0.14	338 ± 10	358 ± 21
tetrahydrofuran	7.52	1.407	0.21	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1
dichloromethane	8.93	1.424	0.22	43 ± 2.1	43 ± 1.8
cyclohexanone	18.3	1.451	0.25	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1
benzonitrile	25.9	1.529	0.24	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1
acetonitrile	35.94	1.344	0.31	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1

^a $K_{B,abs}$ and $K_{B,fl}$ are the stability constants determined via absorption and fluorescence spectroscopy**Figure 2.** Absorption (a) and emission spectra (b, $\lambda_{exc} = 400$ nm) of photoacid 1 complexed with TOPO in different aprotic solvents with increasing polarity (as indicated by the direction of the arrow). TOPO concentrations are selected to achieve a complexation ratio >97% (see Table S1). The gray filled spectrum in (b) corresponds to the deprotonated form RO^- in acetonitrile ($\lambda_{exc} = 510$ nm).

remains almost constant in the range 440–448 nm (Figure 2a,b). In addition, the fluorescence spectra of the polar solvents become much broader than their absorption spectra. A shoulder is formed bathochromically in the range 500–560 nm and is predominant in polar solvents like dichloromethane (dcm), benzonitrile, cyclohexanone, and acetonitrile. We will show below that this shoulder can be attributed to the formation of HBIP in the excited state. In solvents with residual water impurities like tetrahydrofuran (thf), cyclohexanone, and acetonitrile, a third band at around 570 nm, compatible with the emission maximum of RO^- , is observed (see Figure 2b and Figure S18).

To get an unambiguous data set of spectra without RO^- fluorescence, the emission spectra of the complexed photoacid were recorded in binary mixtures of toluene/dcm and dcm/benzonitrile (Figure 3a,b). Furthermore, these mixtures enable a finer and continuous tuning of the polarity function Δf . The spectra show a continuous variation between the pure solvents, thus complying with the already mentioned trends in Figure 2. The change observed in the emission spectra upon increasing the solvent polarity is 2-fold: a red shift of the whole spectrum and a rise of the bathochromic shoulder at the cost of the blue maximum. The latter consequently reduces to a weak shoulder on the blue flank of the spectrum in the most polar surroundings. We ascribe this observation to the rise of a second band rather than to a solvatochromic shift for which no strong changes in spectral shape and width are expected. To

disentangle the contributions of each of these emission bands to the overall emission and to analyze how these contributions depend on solvent polarity, each spectrum was fitted by a linear combination of the emission spectra of the complex in pure toluene and benzonitrile (for details see section S4.3). This basis set was chosen as an approximation to the emission spectra of the CPX and HBIP species. In support of this assumption, one observes no additional broadening in the fluorescence spectrum of the complex in toluene as compared to the one in cyclohexane or the free photoacid (without ligand) in toluene (see section S3.3), which makes the formation of a second species in the excited state unlikely in this solvent. The same behavior has been observed for various photoacids (see Figure S27). Benzonitrile, on the other hand, offers a compromise between high polarity (i.e., it favors HBIP formation with high yield) and hindering the formation of the RO^- form at the same time. This contrasts with acetonitrile, where RO^- is clearly observed (see Figure S18). The band maxima are barely affected by residual contributions of other species on the flanks (see discussion below). It turns out that the linear combinations of the basis spectra reproduce the experimental data excellently and show a continuous increase of the second band for more polar solvent mixtures, as both bands shift to longer wavelengths (Figure 3c and Figures S30–S32). Via Lippert–Mataga analysis (see section S4.3), the resulting Stokes shifts of the two band maxima lead to a photoinduced change of the permanent dipole moment $\Delta\mu$ of

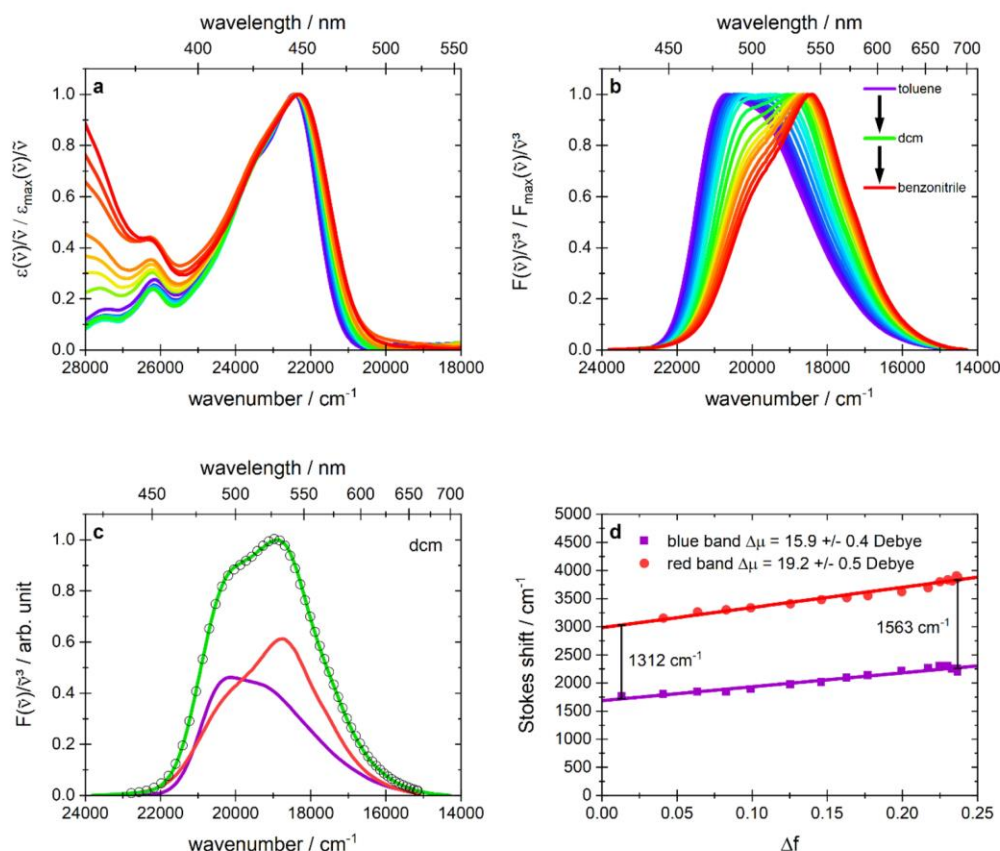


Figure 3. Absorption (a) and emission spectra (b) of the complex **1**/TOPO in binary mixtures (purple to green, toluene/dcm; green to red, dcm/benzonitrile). (c) exemplarily shows the fit (black circles) of the emission spectrum in dcm (green) as a linear combination of the complex spectrum in toluene (purple) and the complex spectrum in benzonitrile (red). These basis spectra in toluene and benzonitrile were allowed to shift during the fit procedure. Their maxima for each mixture led to the Lippert–Mataga plot shown in (d). The Stokes shifts are related to the same absorption maximum as the red band is only formed in the excited state.

15.9 ± 0.4 D for the blue band (CPX) and 19.2 ± 0.5 D for the red band (HBIP) (see Figure 3d).

Instead of vibrational progression (see section S3.4), further arguments favor our assumption that the decomposed emission bands represent the two species CPX and HBIP. The emission maxima are between the fluorescence of ROH and RO[−] in all observed surroundings. This spectral position of HBIP between ROH and RO[−] and red-shifted to CPX is already known from similar systems.^{23,24} In addition, the equilibrium between CPX and HBIP would be expected to shift to the ion pair in more polar solvents, due to the better stabilization ability of the solvent molecules. This is consistent with the increase of the second band intensity observed here. Furthermore, such a change in the ratio of the emission bands can also be achieved by varying the acidity of the photoacid or the basicity of the ligand (see section S3.2). Therefore, the Stokes shifts of the two decomposed emission bands, which yield slightly different slopes in the Lippert–Mataga plot, report on the structure of these species. Thus, the resulting $\Delta\mu$ value for the first band is 15.9 ± 0.4 D, which is consistent with the methylated photoacid for which a slightly

lower $\Delta\mu$ value of 14.5 D was found in a completely different study.³⁴ The $\Delta\mu$ value of 19.2 ± 0.5 D for the second band leads to a $\Delta\Delta\mu$ of 3.3 ± 0.6 D, which can be interpreted as the existence of a second species with a more pronounced charge transfer character. As RO[−] (one of the products of the ESPT reaction) exhibits negligible solvatochromism (i.e., no photo-induced charge transfer is observed for this species³⁴), the $\Delta\Delta\mu$ value can mainly be explained by the displacement of an elementary positive charge (a proton) by 69 ± 19 pm away from the pyrene core.⁴⁰ In a typical hydrogen bond between a hydroxyl group and an oxygen atom, the bond length in the hydroxyl group is ~ 100 pm, whereas the distance between hydrogen and acceptor oxygen is ~ 170 pm.^{41–44} The obtained ~ 70 pm fit to the assumption that during the formation of the second band a switch from a O–H...O configuration to a [−]O...H–O⁺ configuration takes place. This putative displacement of the proton would therefore be the main contribution to the change in $\Delta\mu$. One should keep in mind that, first, stronger hydrogen bonds lead to a more symmetric geometry, causing a smaller net charge transfer, whereas, second, some partial charge may also be transferred to the phosphorus.

1686

<https://dx.doi.org/10.1021/acs.jpclett.0c03593>
J. Phys. Chem. Lett. 2021, 12, 1683–1689

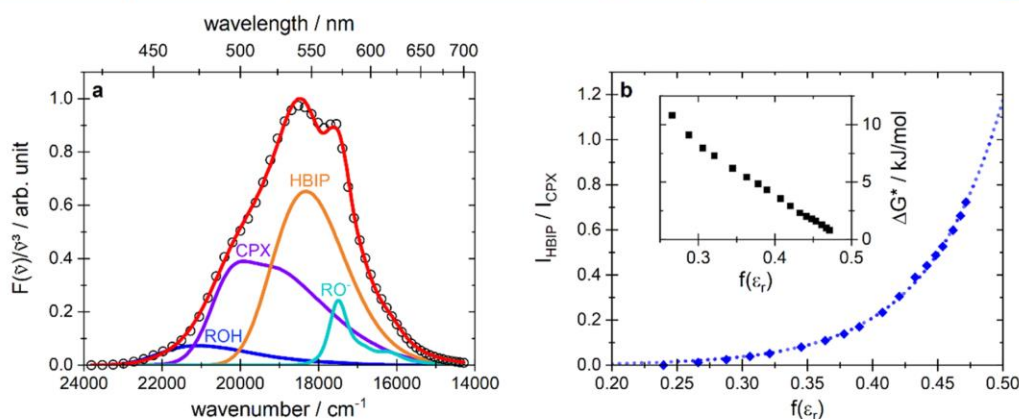


Figure 4. (a) Deconvolution of the fluorescence spectra of photoacid **1** complexed with TOPO in acetonitrile (red, $\lambda_{\text{exc}} = 400$ nm). The basis spectra of the linear combination are the free photoacid in acetonitrile (ROH, blue), the shifted complex spectrum in toluene (CPX, violet), a log-normal function with the fitting parameters width, center and asymmetry factor (HBIP, orange) and the deprotonated form in acetonitrile (RO^- , turquoise). The integrals of the single bands are 7% for ROH and RO^- each, 39% for CPX, and 47% for HBIP to the fitted spectrum (black circles). (b) Ratios of the integrals of HBIP and CPX (obtained from the solvent mixtures; see Figure S36) against $f(\epsilon_r)$. The dashed line shows an exponential fit given by $I(\text{HBIP})/I(\text{CPX}) = (2.2 \pm 0.3) \exp[(17.2 \pm 0.3)f(\epsilon_r)]$. In the inset the free Gibbs energies of the excited state ΔG^* are plotted against $f(\epsilon_r)$. ΔG^* was calculated from the ratios of CPX and HBIP with the Gibbs–Helmholtz-equation (see eq 1).

Nevertheless, all these results agree well with the formation of the fluorescent HBIP in the excited state after excitation of CPX, as described in the Eigen–Weller model.

Although our results support the model of ESPT between CPX and HBIP, the so far used fluorescence spectrum in benzonitrile for HBIP probably contains a remaining fraction of CPX. Indeed, a further decrease of the blue sideband at 500 nm is found by comparing the fluorescence spectrum in benzonitrile to that measured in acetonitrile (Figure 2b). This difference is attributed to the residual CPX contribution in benzonitrile. Even if this contamination does not significantly distort the Lippert–Mataga analysis, a pristine fluorescence emission spectrum of HBIP is highly desirable for the quantification in steady-state spectroscopy. To extract this spectrum, a decomposition of the complexed photoacid emission spectrum in acetonitrile is performed (Figure 4a; for details see section S4.4).

The emission spectra of the solvent mixtures (Figure 3b) can also be deconvoluted with the obtained refined HBIP spectrum instead of the contaminated emission spectrum in benzonitrile and result in nearly the same $\Delta\mu$ values for CPX (16.4 ± 0.3 D) and HBIP (19.3 ± 0.5 D) as before (see Figure S38). The resulting $\Delta\Delta\mu_{\text{refined}}$ is 2.9 ± 0.6 D and corresponds to a slightly reduced displacement of an elementary charge of 60 ± 17 pm. These findings confirm our assumption that the remaining CPX fraction in the spectrum used in Figure 3 for the HBIP is of minor importance for the previous analysis of the change in the wavelength maximum.

The refined decomposition also enables us to analyze the obtained integrals of the two emission bands I_{CPX} and I_{HBIP} (see Figure S36). We assume that the integrals are proportional to the populations of CPX and HBIP in the excited state with equal proportionality factors a_i . No significant amounts of further species (ROH or RO^-) were observed in the solvent mixtures and the fluorescence lifetime measurements revealed monoexponential decays (see section S5), leading to the conclusion of an excited-state equilibrium between CPX and

HBIP. The free Gibbs energy of the excited state ΔG^* can thus be calculated with the Gibbs–Helmholtz equation:

$$\Delta G^* = -RT \ln \left(\frac{a_{\text{HBIP}} I_{\text{HBIP}}}{a_{\text{CPX}} I_{\text{CPX}}} \right) \approx -RT \ln \left(\frac{I_{\text{HBIP}}}{I_{\text{CPX}}} \right) \quad (1)$$

Furthermore, a plot of $I_{\text{HBIP}}/I_{\text{CPX}}$ against $f(\epsilon_r) = (\epsilon_r - 1)/(2\epsilon_r + 1)$ should follow a Boltzmann distribution, as $f(\epsilon_r)$ is proportional to the energy of the relative reaction field of the solvent. Please note that here $f(\epsilon_r)$ is used instead of Δf , since the two species are in a thermodynamic equilibrium and therefore both the electronic and the molecular orientational effects have to be considered. The ratios of the integrals in Figure 4b follow closely the Boltzmann distribution, supporting the assumptions within the spectral decomposition process and the applied spectral shapes of CPX and HBIP. We conclude that a nearly linear decrease toward $\Delta G^* = 0$ kJ/mol is only observed for increasing ϵ_r to infinity.

With the hydrogen-bonded complex of photoacid **1** and TOPO, a new probe system for proton transfer reactions has been described. The stable complex with binding constants between 10^3 and 10^7 M^{-1} in a broad range of aprotic solvents allows us to investigate the proton transfer reaction decoupled from its surroundings, similar to what has been achieved in other charge transfer studies with the additional benefit of bright fluorescence: the variation in the emission spectra induced by different surroundings could be traced back to the formation of the hydrogen-bonded ion pair (HBIP) as second species in the excited state. Decomposition of the emission spectra in binary mixtures followed by a Lippert–Mataga analysis of solvatochromism leads to a difference in the change of the dipole moment between CPX and HBIP of around ~ 3 D. This indicates a displacement of the proton by 60–70 pm upon formation of HBIP, which is in good agreement with a proton transfer along a hydrogen bond. The shape of the potential, that is a double-well or a symmetric $\text{O} \cdots \text{H} \cdots \text{O}$ well in more polar solvents, however, cannot be inferred from these experiments yet. We foresee that UV-pump–IR-probe spec-

troscopy with our system is the appropriate tool to verify one of these models. Furthermore, the spectral shape of CPX and HBIP was determined, which is fundamental to investigate the system by steady-state single-molecule fluorescence spectroscopy. There are a few examples of alternative systems in the literature,^{23–26} but unfortunately, many of these have only low fluorescence quantum yields and association constants, more than one complexation site (leading to complex mixtures), or comprise charged photoacids with limited solubility in apolar solvents. These limitations have been overcome with the molecular system proposed here. Therefore, this molecular system is optimal to act as a reactive proton transfer probe of polarity at the single-molecular level.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpclett.0c03593>.

Experimental and computational details, titration experiments, table of solvent parameters, binding constants, and TOPO concentrations, absorption and emission spectra of the titrations, titration curves, continuous variation method, complexation via NMR and FTIR spectroscopy, sensitivity to water impurities, alternative systems with derivatives of photoacid and ligand, structures of photoacids and ligands, details on the spectral form of CPX, refractive index measurements, details on spectral decomposition, Lippert–Mataga analysis with the refined HBIP spectrum, correlation with alternative parameter π^* , time-correlated single photon counting measurements, fluorescent lifetimes, fluorescent lifetime decays, residuals of the exponential fits, and ¹H NMR characterization of the photoacids (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Gregor Jung – Universität des Saarlandes, Biophysikalische Chemie, D-66123 Saarbrücken, Germany; orcid.org/0000-0002-2438-7436; Phone: +49 681 302 71320; Email: g.jung@mx.uni-saarland.de; Fax: +49 681 302 64846

Authors

Alexander Grandjean – Universität des Saarlandes, Biophysikalische Chemie, D-66123 Saarbrücken, Germany
J. Luis Pérez Lustres – Universität Heidelberg, Physikalisch Chemisches Institut, D-69120 Heidelberg, Germany
Stephan Muth – Universität des Saarlandes, Biophysikalische Chemie, D-66123 Saarbrücken, Germany
Daniel Maus – Universität des Saarlandes, Biophysikalische Chemie, D-66123 Saarbrücken, Germany

Complete contact information is available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpclett.0c03593>

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the German Research Foundation (DFG, project number JU650/9). The authors thank Matthias Jourdain for carefully reading the manuscript, Thomas Büttner

for his assistance in measuring FTIR spectra, and Tiago Backup for his continuous support.

■ DEDICATION

In memory of Prof. Marcus Motzkus, who sadly passed away during the preparation of this manuscript.

■ REFERENCES

- (1) Chou, P.-T.; Solntsev, K. M. Photoinduced Proton Transfer in Chemistry and Biology. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119* (6), 2089–2089.
- (2) Yeo, H.; Khan, A. Photoinduced Proton-Transfer Polymerization: A Practical Synthetic Tool for Soft Lithography Applications. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142* (7), 3479–3488.
- (3) White, W.; Sanborn, C. D.; Reiter, R. S.; Fabian, D. M.; Ardo, S. Observation of Photovoltaic Action from Photoacid-Modified Nafion Due to Light-Driven Ion Transport. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (34), 11726–11733.
- (4) Roget, S. A.; Kramer, P. L.; Thomaz, J. E.; Fayer, M. D. Bulk-like and Interfacial Water Dynamics in Nafion Fuel Cell Membranes Investigated with Ultrafast Nonlinear IR Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123* (44), 9408–9417.
- (5) Förster, T. Fluoreszenzspektrum Und Wasserstoffionenkonzentration. *Naturwissenschaften* **1949**, *36*, 186–187.
- (6) Förster, T. Elektrolytische Dissoziation Angeregter Moleküle. *Z. Elektrochem.* **1950**, *54*, 42–46.
- (7) Spies, C.; Shomer, S.; Finkler, B.; Pines, D.; Pines, E.; Jung, G.; Huppert, D. Solvent Dependence of Excited-State Proton Transfer from Pyranine-Derived Photoacids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (19), 9104–9114.
- (8) Kumpulainen, T.; Rosspeintner, A.; Dereka, B.; Vauthey, E. Influence of Solvent Relaxation on Ultrafast Excited-State Proton Transfer to Solvent. *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 4516–4521.
- (9) Pérez-Lustres, J. L.; Rodríguez-Prieto, F.; Mosquera, M.; Senyushkina, T. A.; Ernsting, N. P.; Kovalenko, S. A. Ultrafast Proton Transfer to Solvent: Molecular and Intermediates from Solvation- and Diffusion-Controlled Regimes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (17), 5408–5418.
- (10) Rini, M.; Magnes, B.-Z.; Pines, E.; Nibbering, E. T. J. Real-Time Observation of Bimodal Proton Transfer in Acid-Base Pairs in Water. *Science* **2003**, *301*, 349–352.
- (11) Weller, A. Quantitative Untersuchungen Der Fluoreszenzumschaltung Bei Naphtholen. *Z. Elektrochem.* **1952**, *56*, 662–668.
- (12) Weller, A. Allgemeine Basenkatalyse Bei Der Elektrolytischen Dissoziation Angeregter Naphthole. *Z. Elektrochem.* **1954**, *58*, 849–853.
- (13) Rini, M.; Pines, D.; Magnes, B. Z.; Pines, E.; Nibbering, E. T. J. Bimodal Proton Transfer in Acid-Base Reactions in Water. *J. Chem. Phys.* **2004**, *121* (19), 9593–9610.
- (14) Mohammed, O. F.; Pines, D.; Dreyer, J.; Pines, E.; Nibbering, E. T. J. Sequential Proton Transfer through Water Bridges in Acid-Base Reactions. *Science* **2005**, *310* (5745), 83–86.
- (15) Spry, D. B.; Goun, A.; Fayer, M. D. Deprotonation Dynamics and Stokes Shift of Pyranine (HPTS). *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (2), 230–237.
- (16) Pines, E.; Huppert, D.; Agmon, N. Geminate Recombination in Excited-State Proton-Transfer Reactions: Numerical Solution of the Debye-Smoluchowski Equation with Backreaction and Comparison with Experimental Results. *J. Chem. Phys.* **1988**, *88* (9), 5620–5630.
- (17) Leiderman, P.; Genosar, L.; Huppert, D. Excited-State Proton Transfer: Indication of Three Steps in the Dissociation and Recombination Process. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109* (27), 5965–5977.
- (18) Gepshtein, R.; Leiderman, P.; Genosar, L.; Huppert, D. Testing the Three Step Excited State Proton Transfer Model by the Effect of an Excess Proton. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109* (42), 9674–9684.
- (19) Veiga-Gutiérrez, M.; Brenlla, A.; Carreira Blanco, C.; Fernández, B.; Kovalenko, S. A.; Rodríguez-Prieto, F.; Mosquera, M.; Lustres, J. L. P. Dissociation of a Strong Acid in Neat Solvents:

Diffusion Is Observed after Reversible Proton Ejection inside the Solvent Shell. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117* (45), 14065–14078.

(20) Qu, Z.; Li, P.; Zhang, X.; Wang, E.; Wang, Y.; Zhou, P. Excited-State Proton Transfer of 4-Hydroxyl-1, 8-Naphthalimide Derivatives: A Combined Experimental and Theoretical Investigation. *J. Lumin.* **2016**, *177*, 197–203.

(21) Brenlla, A.; Veiga Gutiérrez, M.; Ríos Rodríguez, M. C.; Rodríguez-Prieto, F.; Mosquera, M.; Pérez Lustres, J. L. Moderately Strong Photoacid Dissociates in Alcohols with High Transient Concentration of the Proton-Transfer Contact Pair. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5* (6), 989–994.

(22) Pérez Lustres, J. L.; Kovalenko, S. A.; Mosquera, M.; Senyushkina, T.; Flasche, W.; Ernstring, N. P. Ultrafast Solvation of N-Methyl-6-Quinolone Probes Local IR Spectrum. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44* (35), 5635–5639.

(23) Kumpulainen, T.; Bakker, B. H.; Brouwer, A. M. Complexes of a Naphthalimide Photoacid with Organic Bases, and Their Excited-State Dynamics in Polar Aprotic Organic Solvents. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17* (32), 20715–20724.

(24) Biczók, L.; Valat, P.; Wintgens, V. Solvent and Temperature Effects on the Deactivation Pathways of Excited Ion Pairs Produced via Photoinduced Proton Transfer. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, *2* (3), 230–235.

(25) Lee, Y. M.; Park, S.-Y.; Kim, H.; Kim, T. G.; Kwon, O.-H. Photoinduced Strong Acid–Weak Base Reactions in a Polar Aprotic Solvent. *Methods Appl. Fluoresc.* **2016**, *4* (2), 024004.

(26) Verma, P.; Rosspeintner, A.; Kumpulainen, T. Propyl Acetate/Butyronitrile Mixture Is Ideally Suited for Investigating the Effect of Dielectric Stabilization on (Photo)Chemical Reactions. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 23682–23689.

(27) Weller, A. Protolytische Reaktionen Angeregter Oxyverbindungen. *Z. Phys. Chem. (Muenchen, Ger.)* **1958**, *17*, 224–245.

(28) Weller, A. In *Prog. React. Kinet.*; Porter, G., Ed.; Pergamon Press: London, 1961.

(29) Eigen, M. Proton Transfer, Acid-Base Catalysis, and Enzymatic Hydrolysis. Part I: Elementary Processes. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1964**, *3* (1), 1–19.

(30) Vester, M.; Grueter, A.; Finkler, B.; Becker, R.; Jung, G. Biexponential Photon Antibunching: Recombination Kinetics within the Förster-Cycle in DMSO. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10281–10288.

(31) Finkler, B.; Spies, C.; Vester, M.; Walte, F.; Omlor, K.; Riemann, I.; Zimmer, M.; Stracke, F.; Gerhards, M.; Jung, G. Highly Photostable “Super”-Photoacids for Ultrasensitive Fluorescence Spectroscopy. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13* (3), 548–562.

(32) Menges, J. A.; Clasen, A.; Jourdain, M.; Beckmann, J.; Hoffmann, C.; König, J.; Jung, G. Surface Preparation for Single-Molecule Chemistry. *Langmuir* **2019**, *35* (7), 2506–2516.

(33) Menges, J. A.; Grandjean, A.; Clasen, A.; Jung, G. Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, Derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy. *ChemCatChem* **2020**, *12* (9), 2630–2637.

(34) Spies, C.; Finkler, B.; Acar, N.; Jung, G. Solvatochromism of Pyranine-Derived Photoacids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (45), 19893–19905.

(35) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Abraham, M. H.; Taft, R. W. Linear Solvation Energy Relationships. 23. A Comprehensive Collection of the Solvatochromic Parameters, π^* , α , and β , and Some Methods for Simplifying the Generalized Solvatochromic Equation. *J. Org. Chem.* **1983**, *48* (17), 2877–2887.

(36) Laurence, C.; Nicolet, P.; Dalati, M. T.; Abboud, J. L. M.; Notario, R. The Empirical Treatment of Solvent-Solute Interactions: 15 Years of π . *J. Phys. Chem.* **1994**, *98* (23), 5807–5816.

(37) Kamlet, M. J.; Taft, R. W. The Solvatochromic Comparison Method. I. The Beta-Scale of Solvent Hydrogen-Bond Acceptor (HBA) Basicities. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98* (2), 377–383.

(38) Taft, R. W.; Kamlet, M. J. The Solvatochromic Comparison Method. 2. The Alpha-Scale of Solvent Hydrogen-Bond Acceptor (HBA) Acidities. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98* (10), 2886–2894.

(39) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Taft, R. W. The Solvatochromic Comparison Method. 6. The π^* Scale of Solvent Polarities. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (18), 6027–6038.

(40) Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Springer Science+Business Media: New York, 2006.

(41) Huheey, J. E. *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 3rd ed.; Harper & Row: New York, 1983.

(42) Pimentel, G. C.; McClellan, A. L. Hydrogen Bonding. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1971**, *22* (1), 347–385.

(43) Hamilton, W. C. The Structure of Solids. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1962**, *13* (1), 19–40.

(44) Kuleshova, L. N.; Zorkii, P. M. Hydrogen Bond Length in Homomolecular Organic Crystals. *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **1981**, *37* (7), 1363–1366.

Supporting Information

Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer

Alexander Grandjean, J. Luis Pérez Lustres,[§] Stephan Muth, Daniel Maus, Gregor Jung

*Universität des Saarlandes, Biophysikalische Chemie, Campus, Geb. B2.2, D-66123
Saarbrücken (Germany)*

*[§]Universität Heidelberg, Physikalisch Chemisches Institut, Im Neuenheimer Feld 229, D-69120
Heidelberg (Germany)*

*[§]Current Address: Institut für Experimentelle Physik, Freie Universität Berlin, Arnimallee 14,
D-14195 Berlin (Germany)*

Telephone: +49 681 302 71320

Fax: +49 681 302 64846

E-Mail: g.jung@mx.uni-saarland.de

S1

Contents

S1 Experimental Section.....	3
S1.1 Materials	3
S1.2 Stationary spectroscopy	3
S1.3 Sample preparation	4
S2 Complexation.....	5
S2.1 Binding constants K_B	5
S2.2 Titration experiments in different solvents.....	7
S2.3 Method of continuous variation.....	15
S2.4 Complexation via FTIR and NMR spectroscopy	16
S3 Fluorescence band shape	21
S3.1 Sensitivity to water impurities.....	21
S3.2 Alternative systems with different photoacids and ligands	23
S3.3 Spectral form of CPX	28
S3.4 Discussion of vibrational progression	30
S4 Lippert-Mataga-Analysis.....	31
S4.1 Refractive indices	31
S4.2 Calculation of the solvent excluding volume a^3	31
S4.3 Lippert-Mataga-Analysis with the toluene and benzonitrile spectra.....	32
S4.4 Obtaining the refined ion pair spectrum	36
S4.5 Lippert-Mataga-Analysis with the refined spectrum of the ion pair	37
S4.6 Correlation with alternative parameter π^*	41
S5 Time-correlated single photon counting (TCSPC).....	42
S6 ^1H -NMR characterization of the synthesized photoacids.....	47
References.....	50

S2

S1 Experimental Section

S1.1 Materials

HPTA (8-hydroxypyrene-N,N,N',N',N'',N''-hexamethyl-1,3,6-trisulfon-amide), photoacid **1** (tris-(2',2',2'-trifluoroethyl)-8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate) and photoacid **2** (tris(1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-yl)-8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate) were synthesized starting from 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate (HPTS, 98 %, VWR International) as described before¹ (see section S6 for characterization). Cyclohexane (> 99.5 %, p.a., Fisher Scientific), toluene (99.85 %, extra dry, Acros Organics), diethyl ether (99 %, spectr. grade, inhibitor free, abcr), chlorobenzene (99.8 %, extra dry, Acros Organics), tetrahydrofuran (thf, 99.85 %, extra dry, Acros Organics), dichloromethane (dcm, 99.9 %, extra dry, Acros Organics), cyclohexanone (99.8 %, extra pure, Acros Organics), benzonitrile (99 %, SuperDry, J&K Scientific) and acetonitrile (99.9 %, extra dry, Acros Organics) were used without further purification. Tri-n-octylphosphine oxide (TOPO, 99 %, Acros Organics), triphenylphosphine oxide (TPPO, 99 %, Acros Organics), tri-n-butylphosphine oxide (TBPO, 99 %, Acros Organics) and trifluoroacetic acid (TFA, > 99 %, anhydrous, Sigma Aldrich) were used as received. For NMR experiments deuterated solvents acetonitrile-d₃ (≥ 99.8 %, Sigma-Aldrich), acetone-d₆ (99.9 %, Sigma-Aldrich) and dimethyl sulfoxide-d₆ (dmsd-d₆, 99.9 %, Sigma-Aldrich) were used.

S1.2 Stationary spectroscopy

All measurements were performed at room temperature (20 °C). UV-Vis absorption spectra were measured with a Jasco V-650 spectrometer. A Jasco FP-6500 spectrofluorometer was used to record the fluorescence spectra. The latter were corrected for the spectral sensitivity with the use of a correction function supplied by the manufacturer, which was specifically tailored to our fluorometer. Control measurements were executed as described by Gardecki and Maroncelli.² The

S3

spectra shown in the wavenumber scale were transferred to the transition dipole moment (TDM) representation to convey comparable line shapes for absorption and fluorescence and obtain thereby reliable electronic transition energies.³ All absorption and fluorescence measurements were performed in quartz glass sample cells (Hellma) with 1 cm optical path length and 1 nm spectral bandwidth. ¹H-NMR and ³¹P-NMR spectra were acquired on a Bruker AV400 device (400 MHz / 162 MHz). Fourier-transform IR spectra were measured on a Bruker Vertex 70 spectrometer in transmission mode (40 Scans, NaCl cuvette, 0.2 mm optical path length).

S1.3 Sample preparation

For the titration experiments, solutions of 1-3 μ M photoacid ($OD < 0.1$) were prepared in different solvents with varying TOPO concentrations (see Figure S2 and Figure S3). The solvent mixtures were analogously prepared, but with constant 5 mM and 30 mM TOPO for toluene/dichloromethane and dichloromethane/benzonitrile mixtures, respectively, reaching a complexation ratio of the photoacid of $> 97\%$. To avoid any deprotonation of the photoacid in the ground-state, e.g. to compensate any residual water impurities, 100 μ M TFA was added to acetonitrile, benzonitrile, cyclohexanone and tetrahydrofuran (see section S3.1). It turned out that TFA has no influence on the CPX and HBIP band of the complexes. To obtain the spectra of the deprotonated photoacid in acetonitrile, a solution in non-dried acetonitrile (99.9 %, Fisher-Scientific) was used.

S4

S2 Complexation

S2.1 Binding constants K_B

The binding or stability constant K_B for a 1:1 binding model is given by:



$$K_B = \frac{[C]}{[P] * [L]} \quad (\text{S2})$$

[P], [L] and [C] represent the concentration of host (photoacid), ligand and complex. [P] and [L] can also be written as:

$$[P] = [P]_0 - [C] \quad (\text{S3})$$

$$[L] = [L]_0 - [C] \quad (\text{S4})$$

$[P]_0$ and $[L]_0$ are the start concentration of host and ligand. Substituting [P] and [L] in equation S2 results in a quadratic equation that can be transposed to [C]. Only one solution of the quadratic equation is physically meaningful.⁴

$$K_B = \frac{[C]}{([P]_0 - [C]) * ([L]_0 - [C])} \quad (\text{S5})$$

$$[C]^2 - ([P]_0 + [L]_0 + \frac{1}{K_B}) * [C] + [P]_0 * [L]_0 = 0 \quad (\text{S6})$$

$$[C] = \frac{[P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1}}{2} - \sqrt{\frac{([P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1})^2}{4} - [P]_0 * [L]_0} \quad (\text{S7})$$

Equation S7 describes the concentration of the complex only through the start concentrations and the binding constant. This concentration [C] can also be described by a physical parameter S (e.g. absorption or fluorescence signal):

$$S = f_P * S_P + f_C * S_C \quad (\text{S8})$$

S5

S_P and S_C are the values of S in the case that only host or complex is detected, while f_P and f_C represent the fractions of host and complex relating to their maximum concentration, which is equal to $[P]_0$:

$$f_P = \frac{[P]}{[P]_0} \text{ bzw. } f_C = \frac{[C]}{[P]_0} \quad (\text{S9})$$

We assume that the free ligand does not contribute to the physical signal S .

With equation S3 follows $f_P = 1 - f_C$ and equation S8 can be written as

$$S = (1 - f_C) * S_P + f_C * S_C \quad (\text{S10})$$

With equation S9 we obtain:

$$\Delta S = S - S_P = (S_C - S_P) * \frac{[C]}{[P]_0} \quad (\text{S11})$$

Substituting equation S7 in equation S11 results in the final expression:

$$\Delta S = \frac{(S_C - S_P)}{[P]_0} * \left(\frac{[P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1}}{2} - \sqrt{\frac{([P]_0 + [L]_0 + K_B^{-1})^2}{4} - [P]_0 * [L]_0} \right) \quad (\text{S12})$$

To determine the complexation constant K_B , the absorption or fluorescence intensity change (ΔS) between pure photoacid (S_P) and photoacid with ligand (S), where $\Delta S = S_P - S$, was plotted against the varying concentration of ligand and fitted with equation (S12) via non-linear regression. The increase in the absorption or fluorescence signal on the red wing were used as ΔS (typically 450 nm or 550 nm, respectively).

S6

S2.2 Titration experiments in different solvents

The fluorescence spectra in this section are presented without any correction. Due to the fact, that the analysis of the binding constant K_B is only based on relative intensities, the correction does not affect the results. As the system is very sensitive to water impurities (see section S3.1), small quantities of the deprotonated photoacid can be found in the absorption spectra of some solvents at around 570 nm.

$K_{B,abs}$ and $K_{B,fl}$ significantly mismatch only in cyclohexane (Table S1). Here, solubility effects lead to a more challenging titration and, therefore, the values in cyclohexane may only serve as an approximation. No indications for complexes of a higher stoichiometry were found under any conditions.

The binding constant K_B may be affected by more than one solvent parameter. In general, a nonpolar solvent cannot sufficiently stabilize the polar functions of the photoacid or ligand, so that the formation of a hydrogen-bond between these two molecules is favored, resulting in higher K_B values. Specific interactions between solvent molecule and photoacid or ligand, respectively, interfere with the complex formation: With a higher β value (i.e. high hydrogen-bond acceptor abilities) of the solvent, the ligand competes with it for the hydrogen-bond to the photoacid and the stability of the complex decreases (see Table S1). It should be noted that the correlation is weak due to the limited number of datapoints. However, in this study it is sufficient to know the necessary TOPO concentrations for complete complexation (> 97 %) of the photoacid in any given solvent (Table S1).

Table S1: Solvent parameters^{5–9}, binding constants K_B and used TOPO concentration for a complexation rate $\geq 97\%$ [M^{-1}].*

solvent	α	β	π^*	ϵ_r	n	Δf	$\log(L_{16})$	$K_{B,abs}$ in $10^3 M^{-1}$	$K_{B,fl}$ in $10^3 M^{-1}$	TOPO in mM
cyclohexane	0	0	0	2.02	1.426	0	2.90	9348 ± 541	6016 ± 1899	0.1
toluene	0	0.11	0.54	2.38	1.497	0.01	3.34	271 ± 12	277 ± 15	0.5
diethyl ether	0	0.47	0.27	4.27	1.353	0.17	2.07	4.7 ± 0.3	5.0 ± 0.6	10
chlorobenzene	0	0.07	0.71	5.69	1.524	0.14	3.63	338 ± 10	358 ± 21	0.5
tetrahydrofuran	0	0.55	0.58	7.52	1.407	0.21	2.52	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	30
dichloromethane	0.3	0	0.82	8.93	1.424	0.22	2.00	43 ± 2.1	43 ± 1.8	5
cyclohexanone	0	0.53	0.76	18.3	1.451	0.25	3.58	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	50
benzonitrile	0	0.41	0.9	25.9	1.529	0.24	4.04	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	30
acetonitrile	0.19	0.31	0.75	35.9	1.344	0.31	1.54	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	30

* α , β and π^* are the Kamlet-Taft-Parameter and represent the hydrogen-bond donor and acceptor ability and the dipolarity/polarizability. $\log(L_{16})$ represents the endothermic cavity formation and the exothermic dispersion (London) solute-solvent interactions.⁹

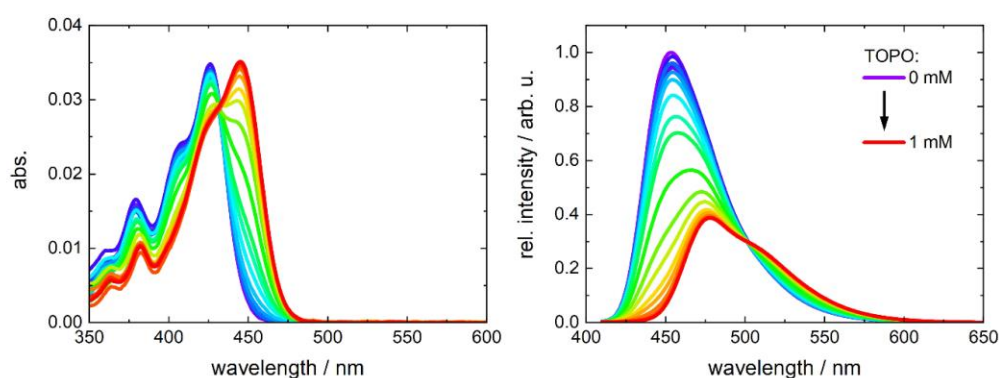


Figure S1: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{exc} = 400$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in toluene (see main text) - here in the wavelength scale for comparison.

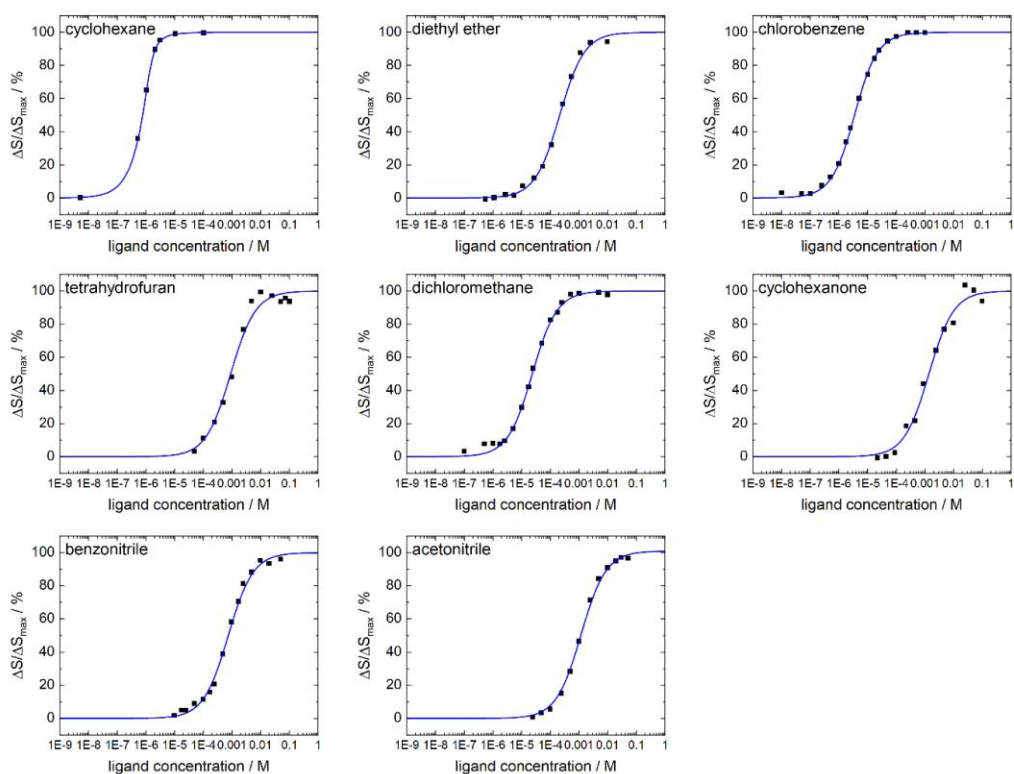


Figure S2: Titration curves of photoacid 1 with TOPO (black) from the absorption spectra in different solvents and the corresponding fits (blue) via equation S12.

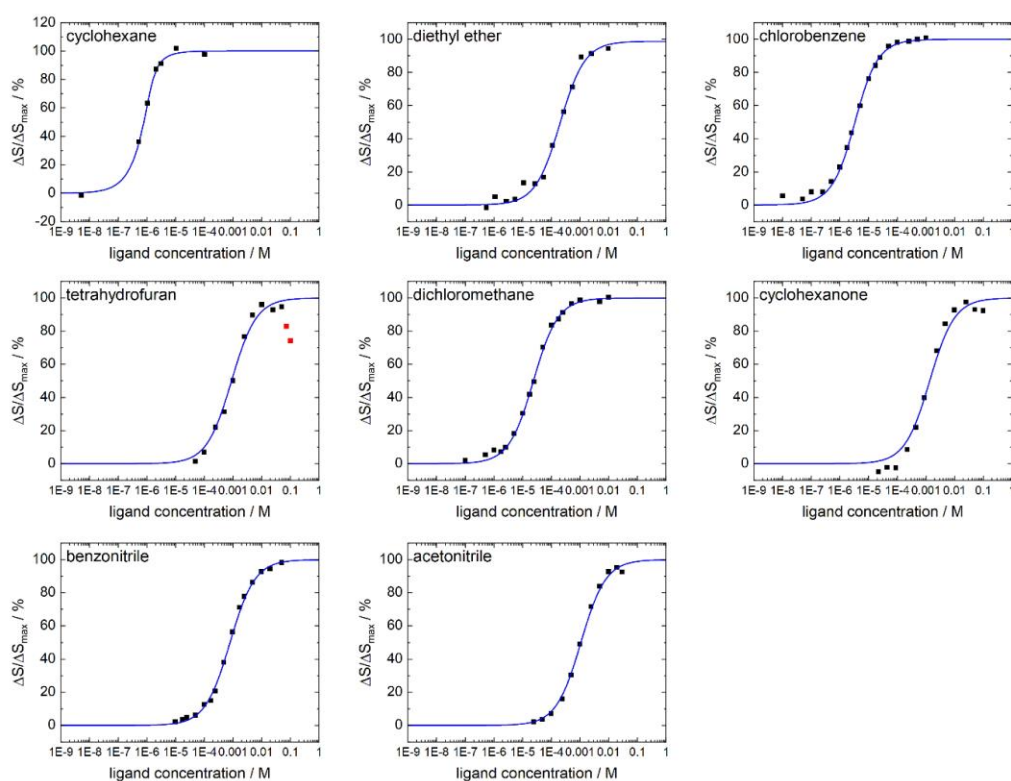


Figure S3: Titration curves of photoacid 1 with TOPO (black) from the emission spectra in different solvents and the corresponding fits (blue) via equation S12. Red data points are masked and do not contribute to the fit.

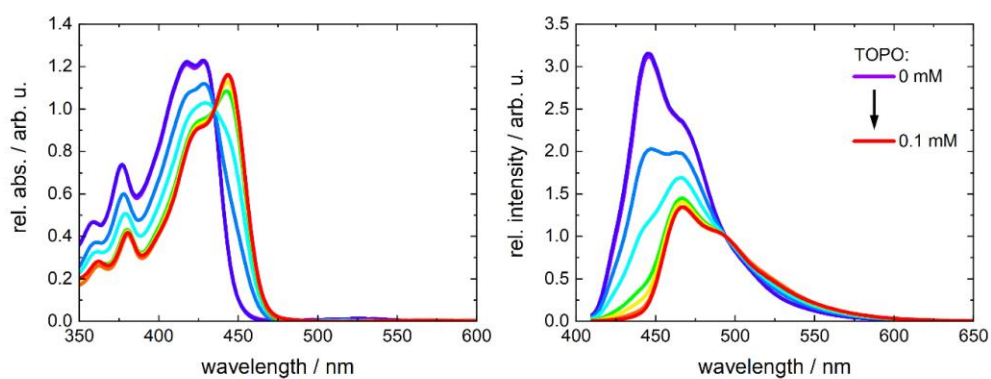


Figure S4: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 400$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in cyclohexane. Due to solubility effects in cyclohexane, the spectra were normalized to the isosbestic or isoemissive point, respectively.

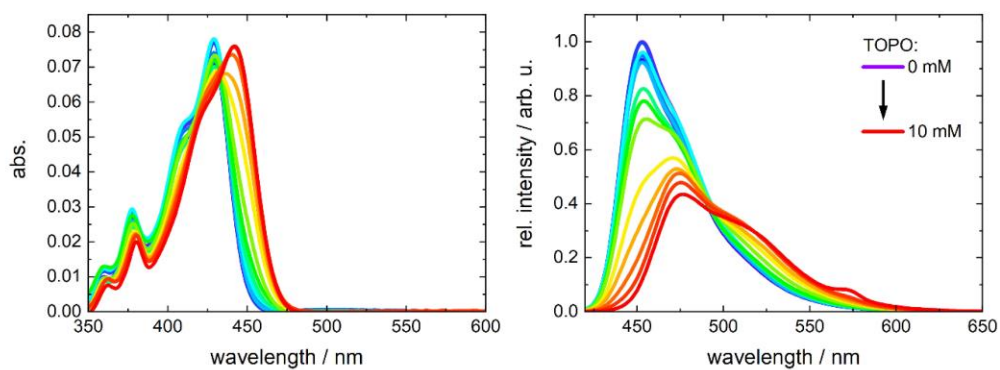


Figure S5: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in diethyl ether.

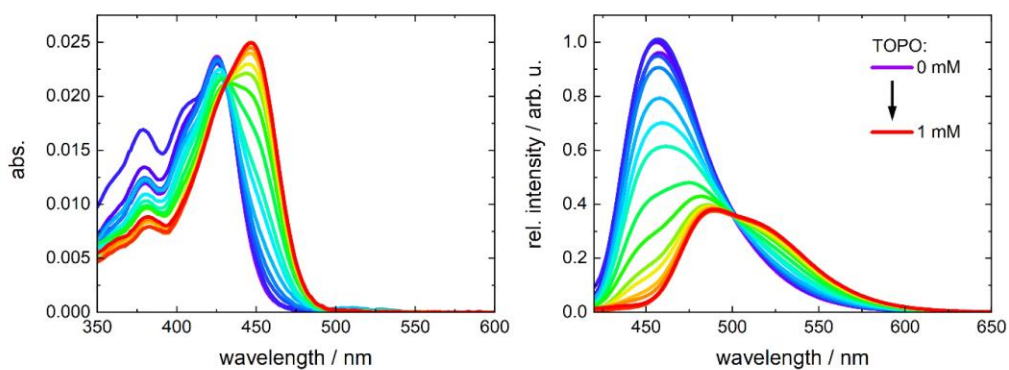


Figure S6: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in chlorobenzene.

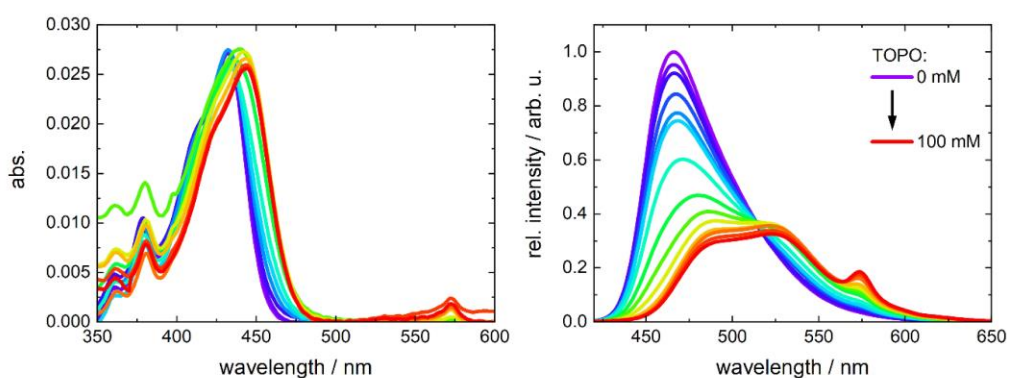


Figure S7: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in tetrahydrofuran.

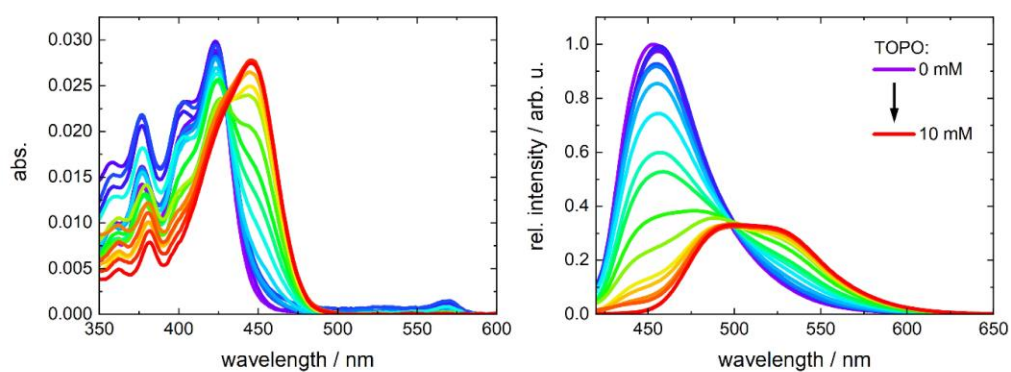


Figure S8: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{exc} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in dichloromethane.

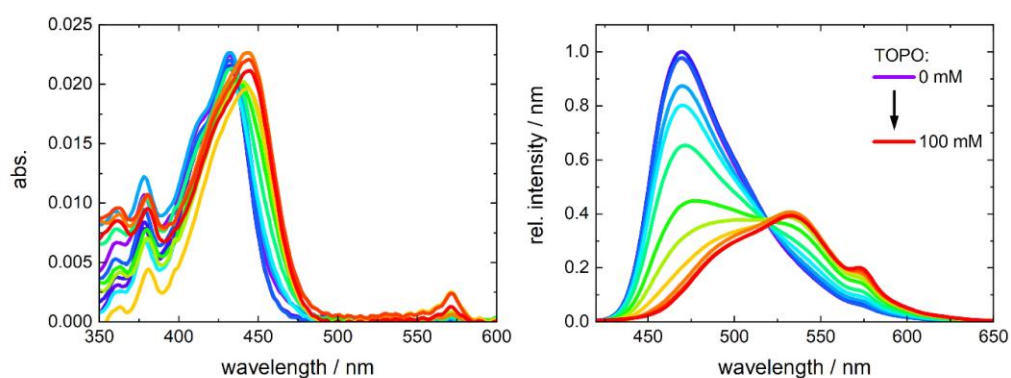


Figure S9: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{exc} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in cyclohexanone.

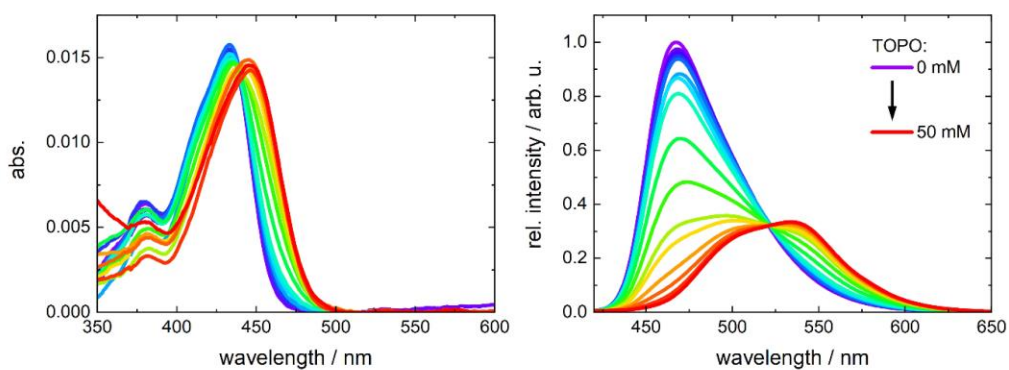


Figure S10: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in benzonitrile.

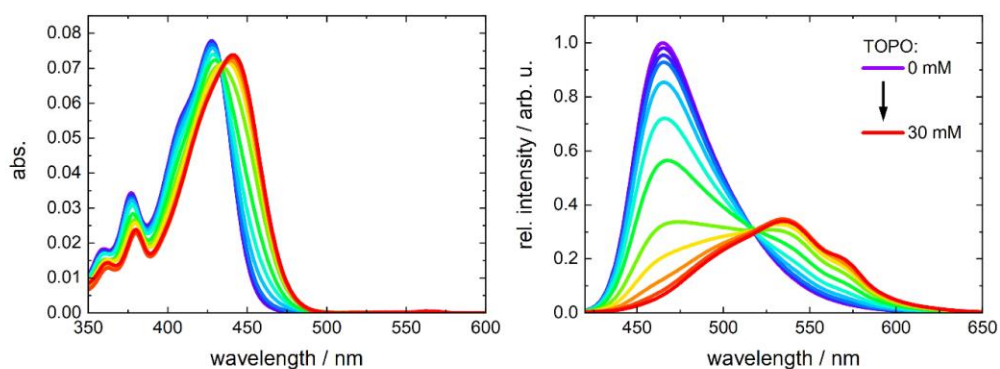


Figure S11: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TOPO in acetonitrile.

S2.3 Method of continuous variation

To verify the 1:1 binding model of the complex a so-called Job Plot is performed in toluene. In this continuous variation method, the stock solutions of photoacid **1** and TOPO (each 7 μM) are mixed in varying ratios, so that their total molar concentration c_{sum}^0 is kept constant. Monitoring the absorption signal of the complex (460 nm, 0.1 mm optical pathlength), a maximum appears in the solution in which the two species are present in the correct combination ratio. For a 1:1 stoichiometry the maximum is at a molar ratio of 0.5, described by the following equation:¹⁰

$$a_{AB} \propto c_{AB} = 1 + c_{\text{sum}}^0 * K_B - \sqrt{1 + 2 * c_{\text{sum}}^0 * K_B + [c_{\text{sum}}^0 * K_B(1 - 2x)]^2} \quad (\text{S13})$$

where a_{AB} is the measured absorption signal of the complex, c_{AB} the proportional concentration of the complex, K_B the already known binding constant and x the mole fraction of the photoacid. Due to the strong overlap between pure photoacid and complexed photoacid the baseline of the Job Plot was corrected as described in the literature.¹¹ In Figure S12 the maximum of the Job Plot (right) at a mole fraction of 0.5 supports the 1:1 binding model of the titration experiments.

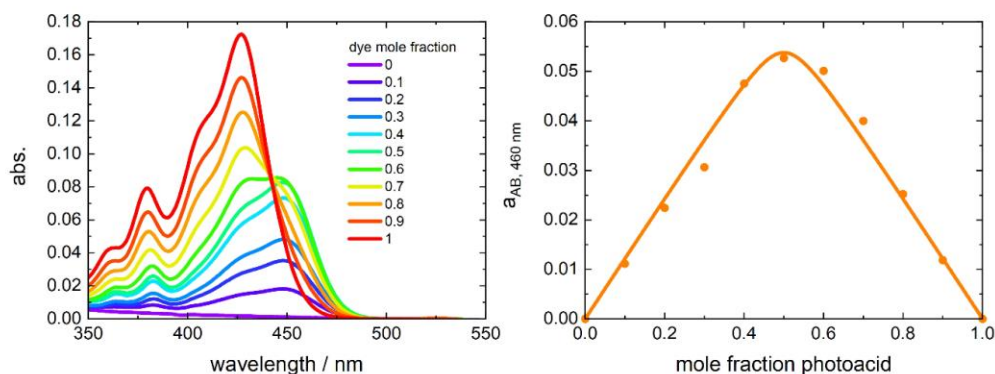


Figure S12: Absorption spectra (left) of the photoacid **1** with varying molar ratios of TOPO and the corresponding Job Plot (right) at 460 nm. The solid orange line represents the fit via equation S13.

S15

S2.4 Complexation via FTIR and NMR spectroscopy

For FTIR experiments, three solutions were prepared in acetonitrile: TOPO (2 mM), photoacid **1** (1.4 mM) and a combined solution of TOPO (2 mM) and photoacid **1** (1.4 mM). The corresponding spectra are shown in Figure S13, together with the differential spectrum (green) between the combined solution (red) and pure photoacid **1** (black).

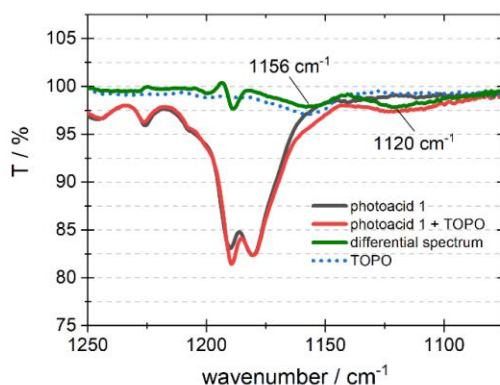


Figure S13: FTIR spectra of TOPO (2 mM) in blue, photoacid **1** (1.4 mM) in black and a combined solution of TOPO (2 mM) and photoacid **1** (1.4 mM) in red. The green line shows the differential spectrum between the combined solution (red) and pure photoacid **1** (black).

During addition of TOPO to the photoacid **1**, two additional bands are detected at 1156 cm^{-1} and 1120 cm^{-1} . The first one at 1156 cm^{-1} can be attributed to the P=O stretch vibration of unbound TOPO.¹² The second one at 1120 cm^{-1} is not observed in pure TOPO and is attributed to the hydrogen bond $\text{P}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{OR}$ on the basis of previously reported shifts of the band to lower wavenumbers.¹² The calculated amount of complexed TOPO in a solution of 2 mM TOPO and 1.4 mM photoacid **1** is 38 % (see equation S7). The differential spectrum between photoacid **1** and the combined solution of TOPO and photoacid **1** shows, compared to the pure TOPO, a decrease of the unbound P=O absorption band (1156 cm^{-1}) by one third, which is in rough agreement.

S16

NMR experiments were executed in an analogous manner: Solutions of TOPO (2 mM), unbound photoacid **1** (1.4 mM) and photoacid **1** (1.4 mM) partially complexed with TOPO (2 mM) were prepared in acetonitrile- d_3 .

The ^{31}P - and ^1H -NMR spectra are shown in Figure S14-S16. ^{31}P -NMR spectra show a shift of the TOPO's phosphorus singlet from 46.1 ppm to 49.5 ppm upon addition of photoacid **1** (Figure S14). Moreover, the proton signals of TOPO also shift in the ^1H -NMR spectra with addition of **1**, but the assignment and conclusions about the binding site are ambiguous due to the high number of alkyl protons. Shifts of the aromatic hydrogen signals of **1**, on the other hand, can be clearly observed upon addition of TOPO. For example, the singlet assignable to the hydrogen next to the hydroxy group (2-H, see Scheme S2, p. S47) is shifting from 8.51 ppm to 8.60 ppm during addition of TOPO, whereas e.g. the second singlet (9-H) at 9.28 ppm is hardly affected (shift by 0.02 ppm). As the noticed shift is larger than any other observed shift, these data support binding to the OH-moiety. Please note, that the shifts for the fully complexed species should be even higher, as in the combined solution only 38 % of TOPO and 54 % of photoacid **1** is complexed and exchange faster than the time resolution of NMR spectroscopy.

In conclusion, complementary FTIR and NMR measurements confirm the complexation of photoacid **1** with TOPO via hydrogen-bonding.

S17

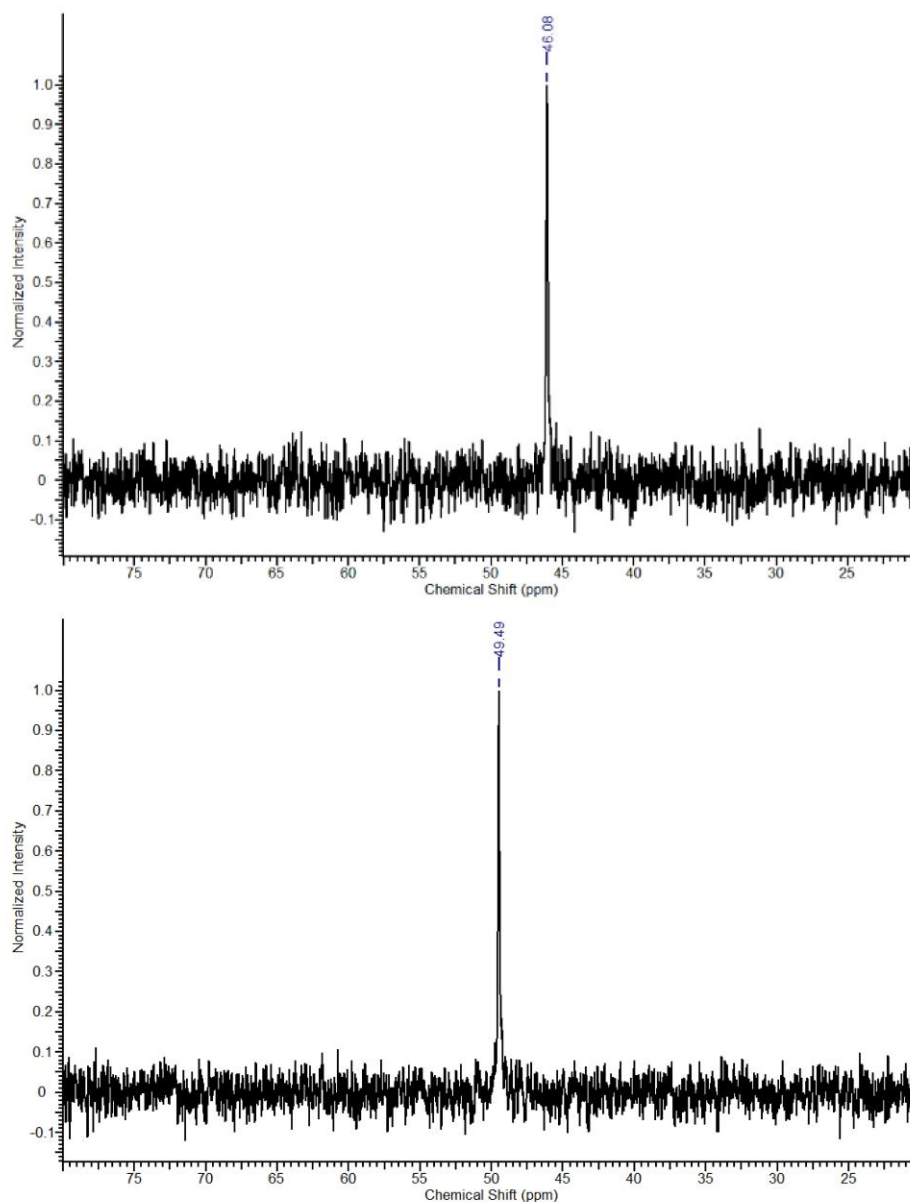


Figure S14: ^{31}P -NMR of TOPO (2 mM) in the upper panel and TOPO (2 mM) with photoacid **1** (1.4 mM) in the bottom panel. Solutions in acetonitrile- d_3 with 100 μM TFA.

S18

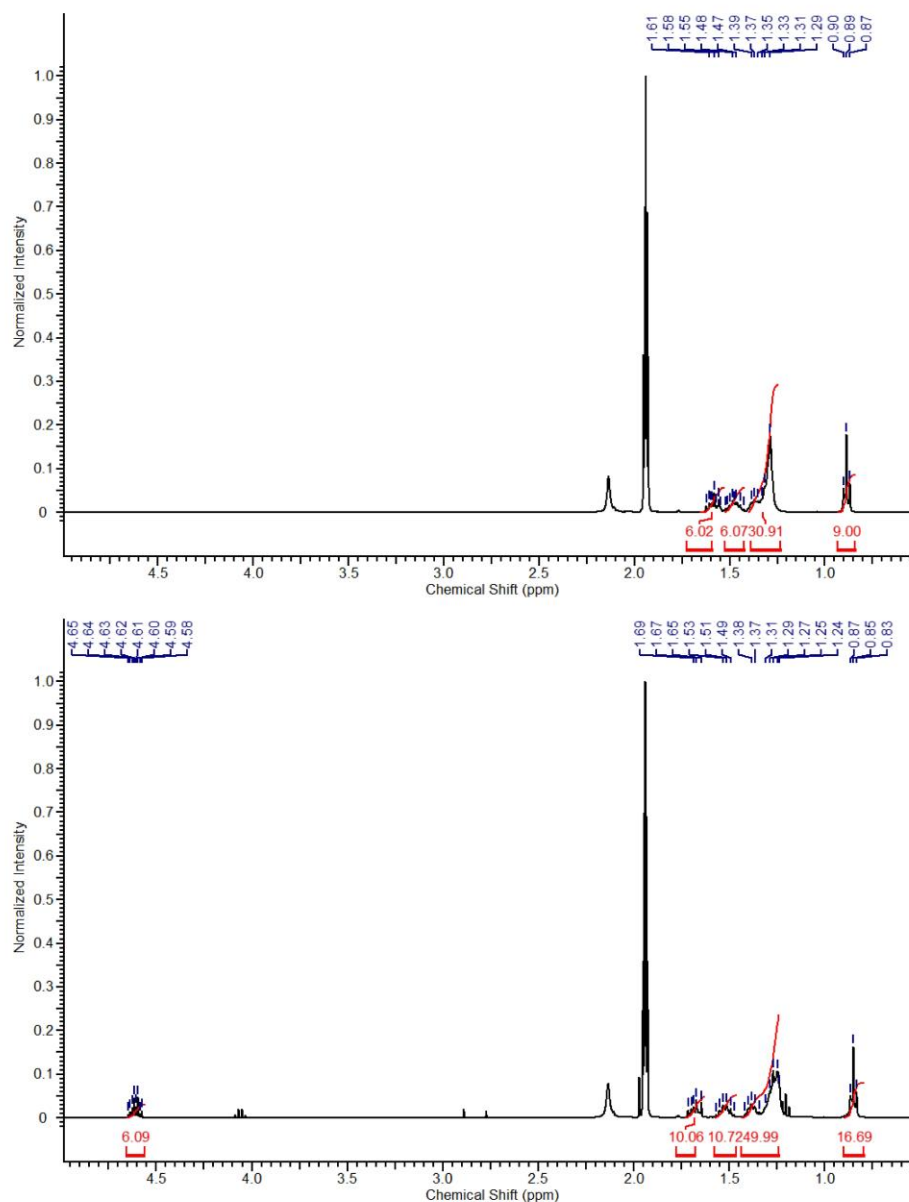


Figure S15: ^1H -NMR of TOPO (2 mM) in the upper panel and TOPO (2 mM) with photoacid **1** (1.4 mM) in the bottom panel. Solutions in acetonitrile- d_3 with 100 μM TFA.

S19

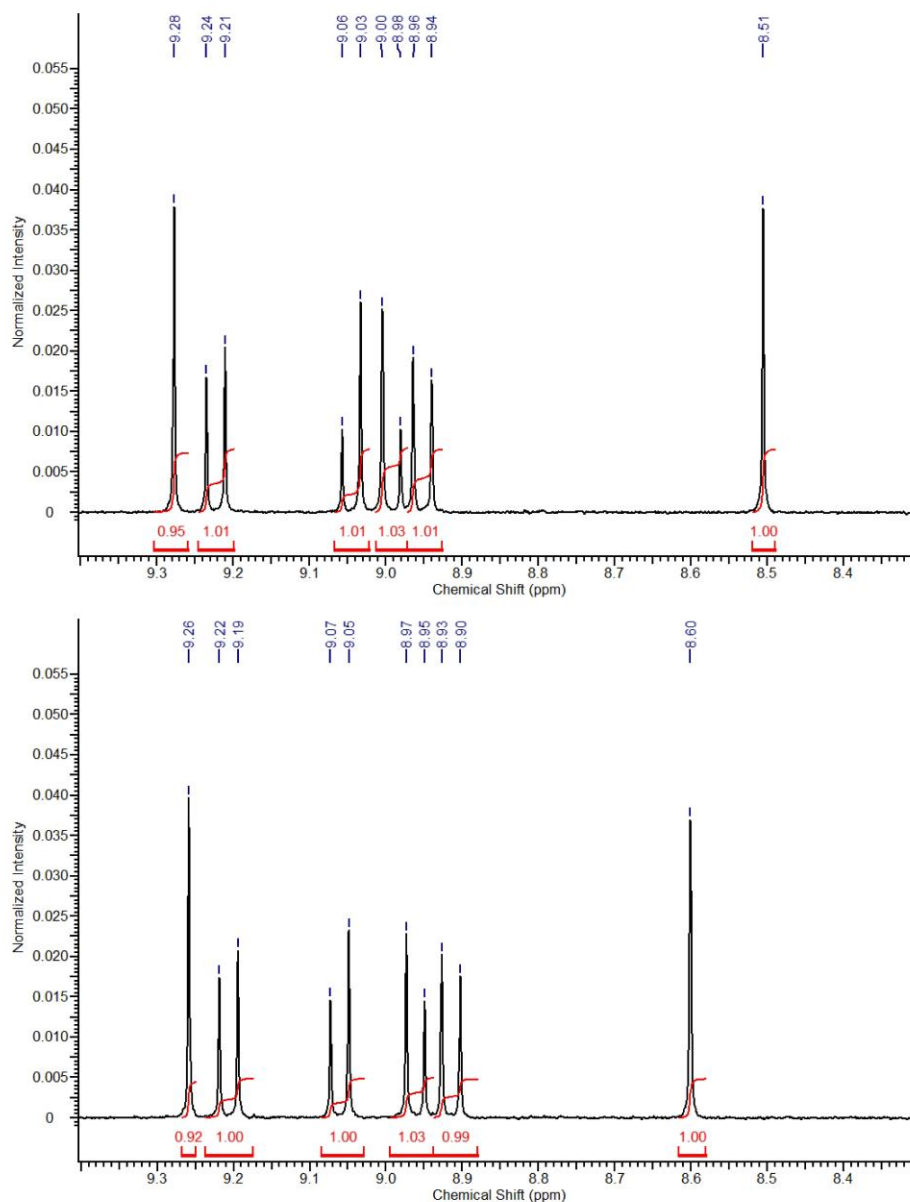


Figure S16: ^1H -NMR of photoacid **1** (1.4 mM) in the upper panel and TOPO (2 mM) with photoacid **1** (1.4 mM) in the bottom panel. Solutions in acetonitrile- d_3 with 100 μM TFA.

S20

S3 Fluorescence band shape

S3.1 Sensitivity to water impurities

Depending on the solvent, the system of photoacid and ligand can be sensitive to water impurities. During sample preparation even the moisture in the air or on the pipettes can be sufficient to fully deprotonate the photoacid in more hygroscopic solvents like acetonitrile. To shift the protonation equilibrium in the ground state to the protonated photoacid, 100 μM trifluoroacetic acid (TFA) were added in acetonitrile, benzonitrile, cyclohexanone and tetrahydrofuran, analogously to the procedure in our previous studies.^{1,13} TFA is very suitable for this, because it can protonate the photoacid in the ground state, but the corresponding base is a very weak nucleophile and does not form any complex with ROH. In Figure S17 the effect of the TFA-addition on the complexed photoacid in benzonitrile is shown in the absorption and emission spectrum. With addition of TFA, the absorption band of RO⁻ at 572 nm disappears, whereas the signal of CPX increases without any change in the spectral form. The fluorescence spectrum shows the RO⁻ side band at around 580 nm, which also disappears with addition of TFA and indicates that the TFA anion does not act as a base, although suggested by the pK_a values (pK_a(TFA) = 0.52)¹⁴. These findings lead to the conclusion, that there is no complexation between photoacid and TFA anion under these conditions. Currently, a manuscript with a detailed investigation of the effect of TFA on ESPT in acetone is in preparation by our collaboration partner Patrick Nürnberger et al. (Universität Regensburg). In the current paper we just take advantage of the phenomena that addition of TFA suppresses the formation of deprotonated form.

S21

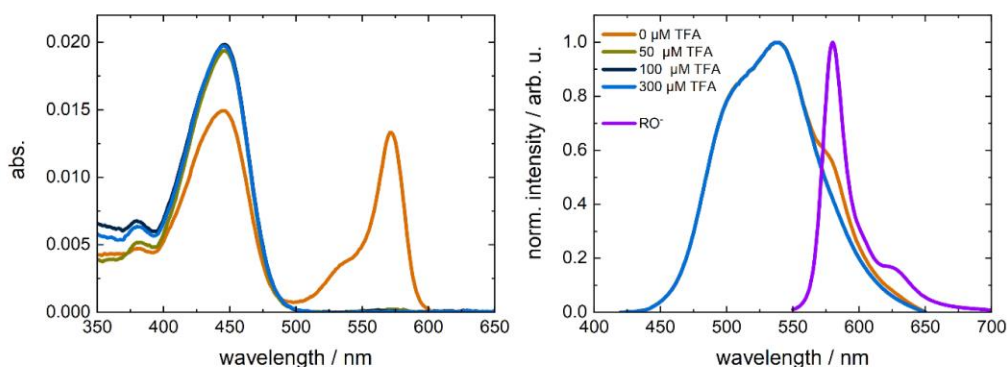


Figure S17: Absorption (left) and corrected fluorescence (right) spectra of photoacid **1** complexed with TOPO (50 mM) in benzonitrile with varying TFA concentrations. To obtain the fluorescence spectrum of RO^- , the excitation wavelength was changed from 400 nm to 540 nm.

Nevertheless, in cyclohexanone, thf and acetonitrile the fluorescence side band of the deprotonated form does not fully disappear even with addition of TFA (Figure S18). We therefore excluded these solvents from the primary spectra decomposition and restricted our analysis to those solvents, where no additional species were indicated. To understand the dynamics between the different species in the excited state we will investigate the complex in acetonitrile via ultrafast spectroscopy methods in a further study.

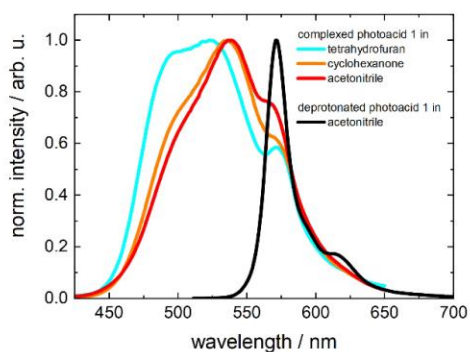


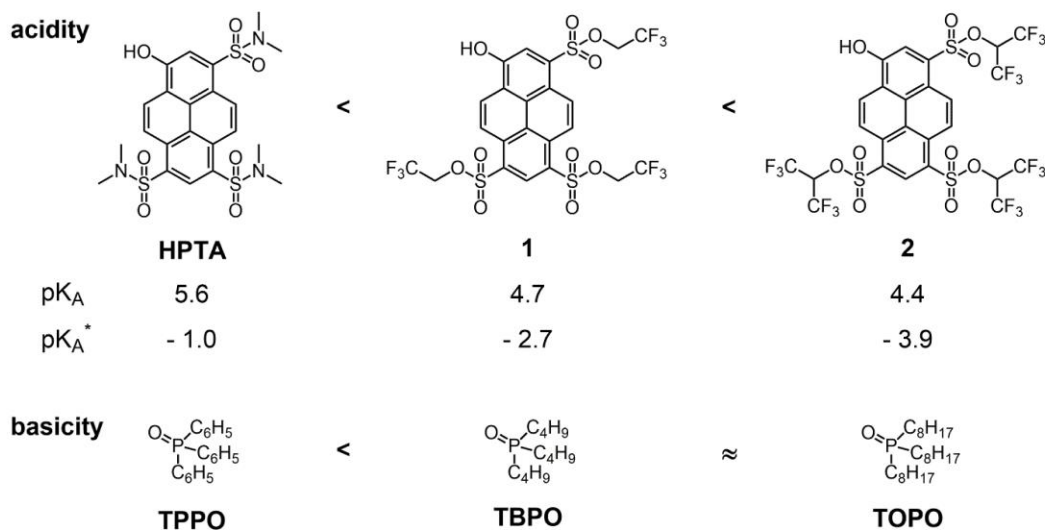
Figure S18: Corrected emission spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 400$ nm) of the complexed photoacid **1** with TOPO in tetrahydrofuran (cyan), cyclohexanone (orange) and acetonitrile (red) with addition of 100 μM TFA. In black is the fluorescence spectrum of the deprotonated form in pure acetonitrile ($\lambda_{\text{exc}} = 510$ nm).

S22

S3.2 Alternative systems with different photoacids and ligands

In the main text we concentrated on the photoacid **1** / TOPO complex, but we also investigated the substitution of each component by derivatives (Scheme S1). On the one hand, photoacid **1** was also complexed with triphenylphosphine oxide (TPPO) and tri-*n*-butylphosphine oxide (TBPO) to vary the basicity of the ligand. On the other hand, the ligand TOPO was also complexed with HPTA and photoacid **2** to change the acidity of the photoacid. These experiments were carried out in chlorobenzene because the complexes show high binding constants therein and significant formation of HBIP, while no complications with water impurities and the deprotonated form were noticed. The corresponding spectra and titration curves are presented in Figure S21 to Figure S25 and were obtained analogously to the ones in the main text. The binding constant K_B increases as expected if the acidity of the photoacid or the basicity of the ligand increases, e.g. the hydrogen bond donor and acceptor ability increases (Figure S20). In the fluorescence spectra, the side band at the red end is more dominant with a higher acidity of the photoacids or more basic ligands, respectively (Figure S19). This trend is in good agreement with our assignment of this band to HBIP: A higher acidity of the photoacid or a higher basicity of the ligand should both support the formation of HBIP to a larger extent. We selected the **1** / TOPO complex as the preferred system, because this combination shows high binding constants and good solubility over a broad range of polarity.

S23



Scheme S1: Overview of the photoacids and ligands used. The basicity of the ligands is estimated from phosphine oxide derivatives.^{1,6}

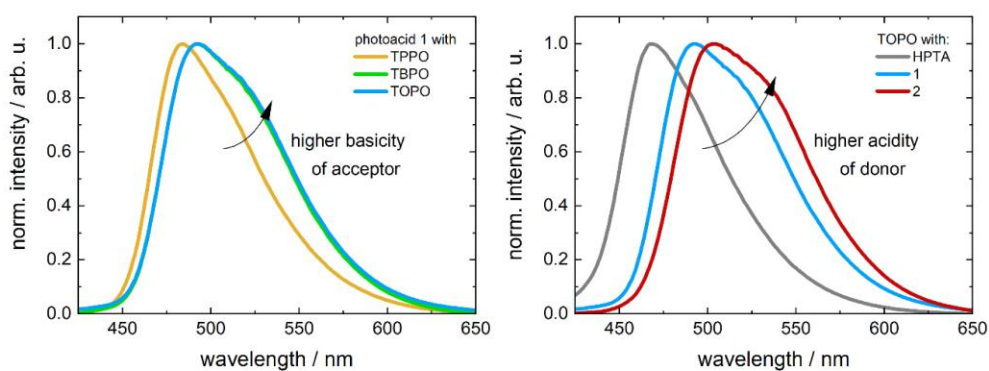


Figure S19: Corrected fluorescence spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 410 \text{ nm}$) of the complexed photoacid 1 with different ligands (left) and different photoacids complexed to TOPO (right) in chlorobenzene.

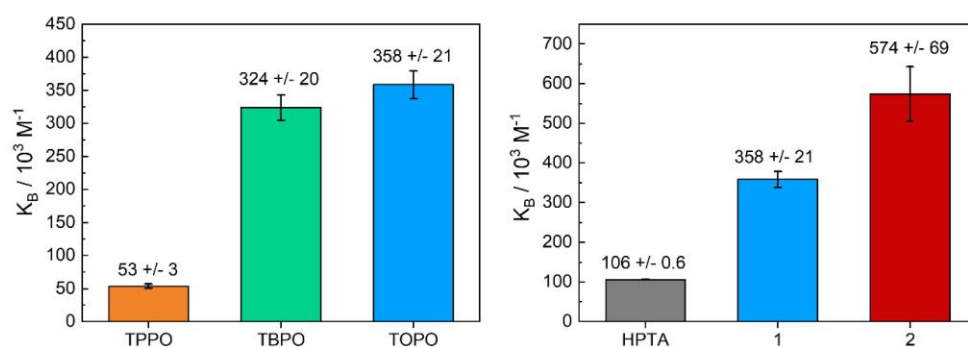


Figure S20: Binding constants K_B of photoacid 1 complexed with different ligands (left) and TOPO complexed with different photoacids (right) in chlorobenzene. Color coding is identically to Figure S19.

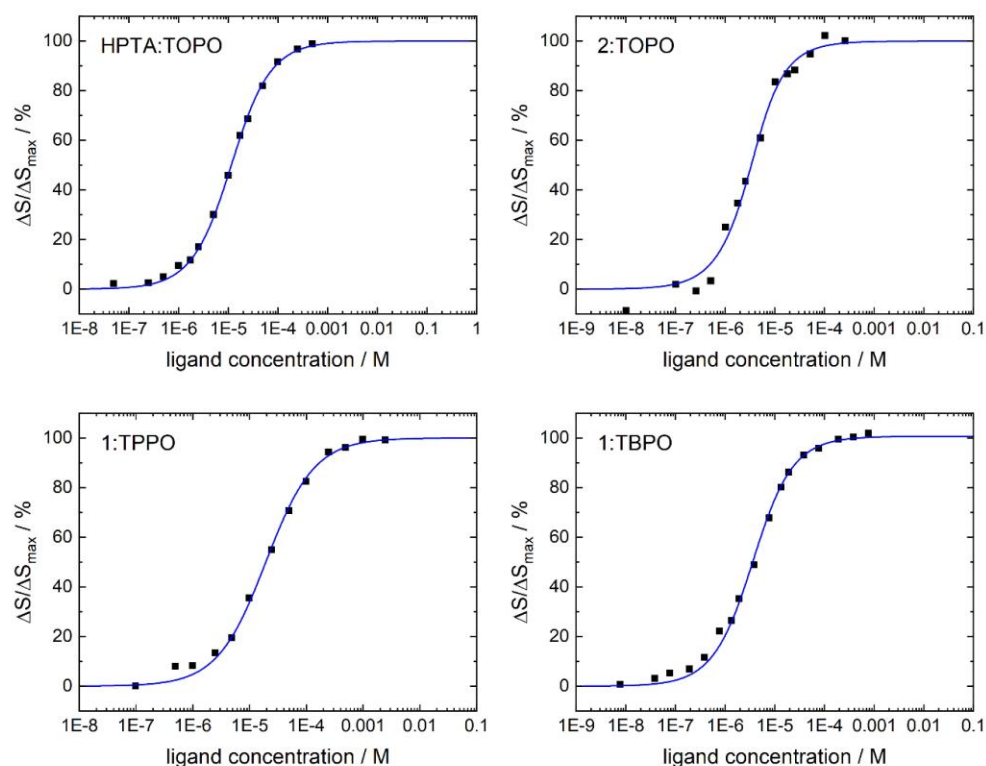


Figure S21: Titration curves of the denoted photoacid/ligand combination (black dots) from the emission spectra and the corresponding fits (blue) via equation S12.

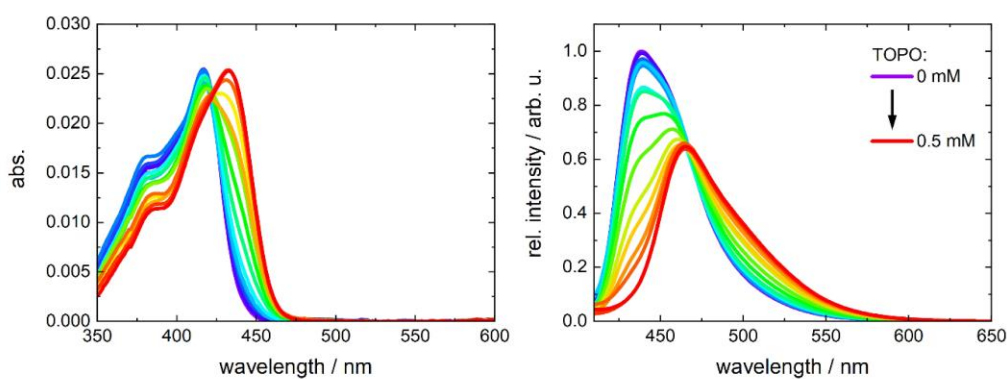


Figure S22: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 400 \text{ nm}$) of the titration of HPTA with TOPO in chlorobenzene.

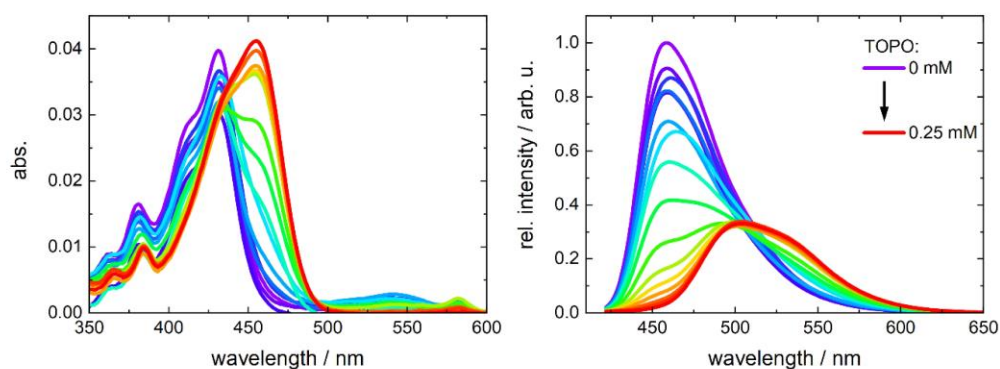


Figure S23: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{\text{exc}} = 410 \text{ nm}$) of the titration of photoacid 2 with TOPO in chlorobenzene.

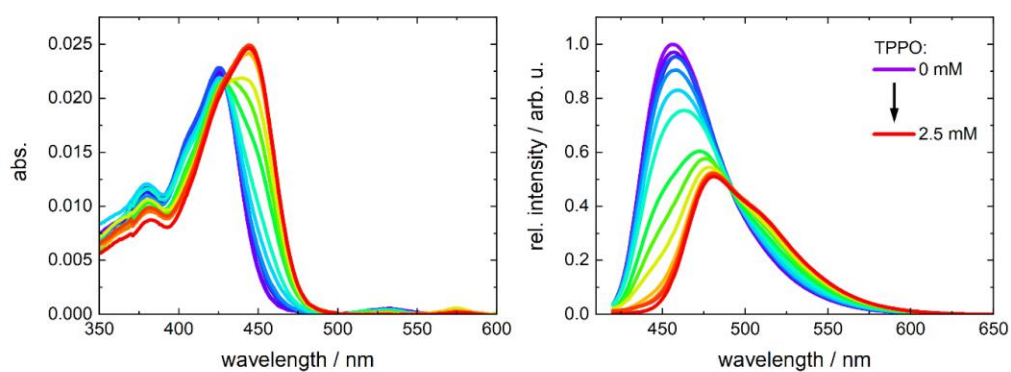


Figure S24: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{exc} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TPPO in chlorobenzene.

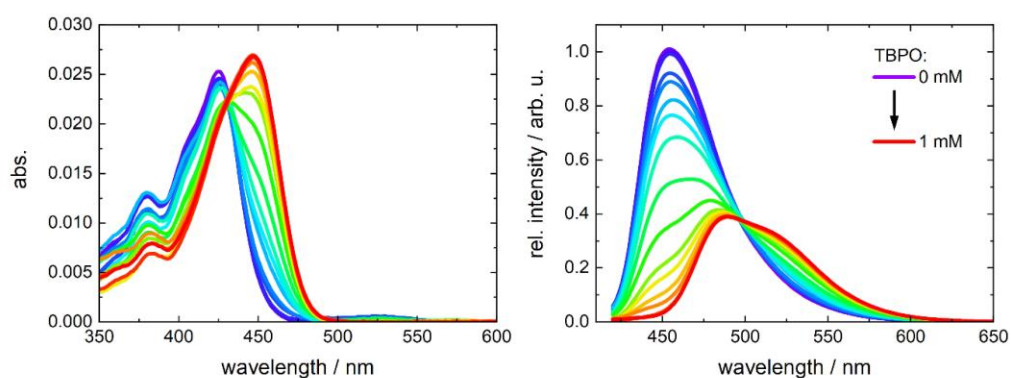


Figure S25: Absorption (left) and emission spectra (right, $\lambda_{exc} = 410$ nm) of the titration of photoacid 1 with TBPO in chlorobenzene.

S3.3 Spectral form of CPX

In Figure S26 the similarity of the emission band form is demonstrated for the complexed photoacid **1** with TOPO in cyclohexane or toluene and the pure photoacid **1** in toluene. There are only slight differences in the vibrational fine structure, whereas the width remains nearly constant. No evidence of a further side band (e.g. HBIP formation) is observed, like in more polar solvents. Therefore, the spectral form of the complexed photoacid **1** with TOPO in toluene can be assumed as a good approximation for the pure CPX emission spectrum without formation of HBIP.

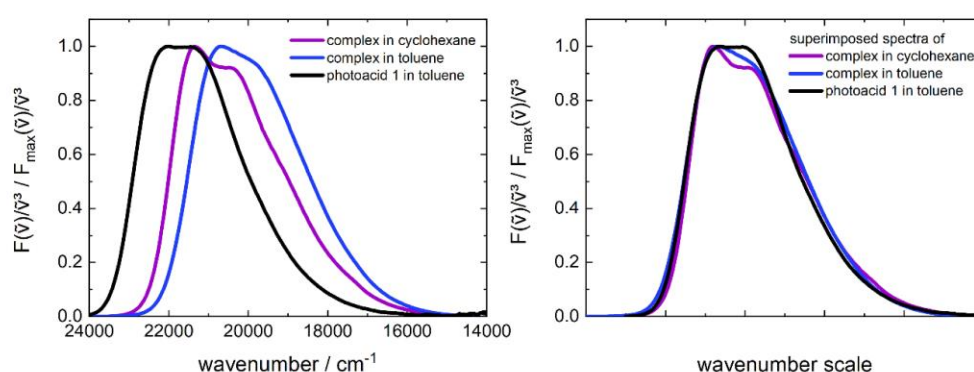


Figure S26: Emission spectra of the complex (photoacid **1**/TOPO) in cyclohexane (violet) and toluene (blue) and the pure photoacid in toluene (black) on the left. On the right side these spectra are superimposed to illustrate the similar spectral band form.

In addition, the change of HPTA and photoacid **2** in their emission band shape during complexation in toluene are presented in Figure S27 and Figure S28. Whereas there is hardly any difference between HPTA and HPTA / TOPO complex, photoacid **2** as the strongest photoacid shows faint deviations in its band shape and width upon complexation. The photoacidity of **2** may be even strong enough for a minor HBIP formation in toluene.

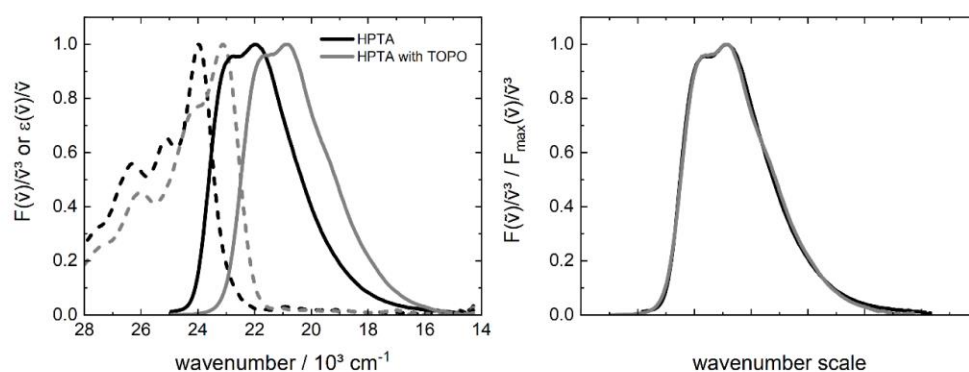


Figure S27: Absorption (dashed) and fluorescence (solid) spectra of HPTA and HPTA complexed with TOPO (1 mM) in toluene on the left. On the right side these spectra are superimposed to illustrate the similar spectral band form.

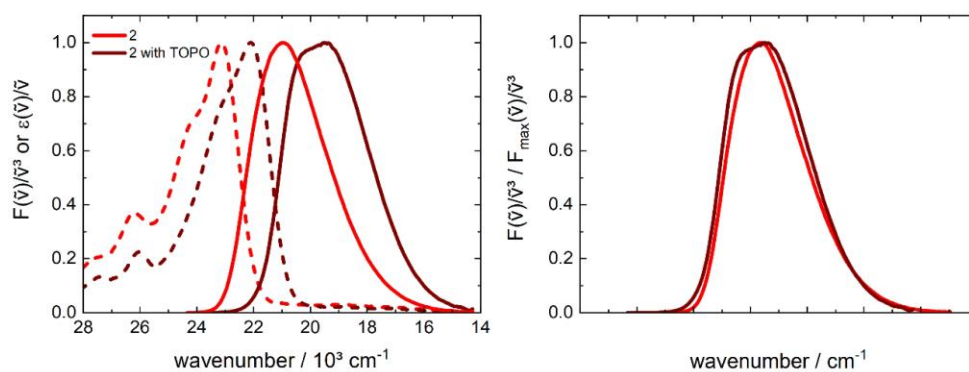


Figure S28: Absorption (dashed) and fluorescence (solid) spectra of **2** and **2** complexed with TOPO (1 mM) in toluene on the left. On the right side these spectra are superimposed to illustrate the similar spectral band form.

S3.4 Discussion of vibrational progression

The change in the spectral shape of the fluorescence spectra of the complexed photoacid **1** with varying polarity of the solvent or the solvent mixture, respectively, and the simultaneous small change in the absorption spectra needs some additional remarks: The predominant fluorescence band in dcm, benzonitrile, cyclohexanone and acetonitrile between 500-560 nm cannot simply be explained by a variation in the Franck-Condon factors. For example, in chlorobenzene the two fluorescence maxima have nearly the same intensity in TDM representation and no third band of the deprotonated form is observed (see Figure 2, main text). Therefore, the two emission maxima in the fluorescence spectra can be easily determined at $\sim 20490\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 18900\text{ cm}^{-1}$. This leads to an energy difference for the spectral location of the two emission bands of $\sim 1590\text{ cm}^{-1}$. In contrast, the difference in the absorption spectrum between the maximum ($\sim 23475\text{ cm}^{-1}$) and the first shoulder ($\sim 22125\text{ cm}^{-1}$) is only $\sim 1350\text{ cm}^{-1}$. Although, changes of vibrational frequencies upon excitation are known, e.g. as a result of stronger hydrogen-bonding, a change of nearly 240 cm^{-1} is far beyond previously observed ones.^{15,16} Furthermore, the energy spacing between these spectral features increases from 1312 cm^{-1} in toluene to 1563 cm^{-1} in benzonitrile (Figure 3d, main text). Such variation is much larger than expected for solvent-induced changes in intramolecular vibrational frequencies. We therefore exclude the possibility to associate the varying spectral form of the fluorescence with the vibrational fine structure.

S30

S4 Lippert-Mataga-Analysis

S4.1 Refractive indices

The refractive indices of the solvent mixtures were measured with an Abbe refractometer (Atago, 3T) at 20°C (Figure S29).

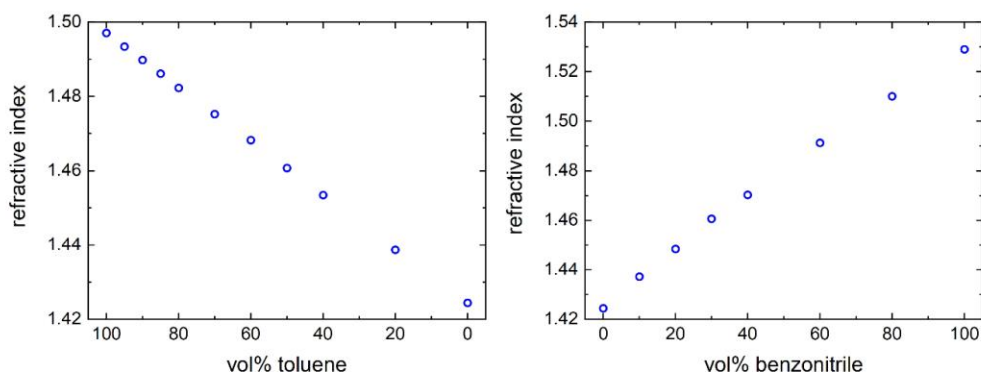


Figure S29: Refractive indices of the binary solvent mixtures toluene/dcm (left) and dcm/benzonitrile (right).

S4.2 Calculation of the solvent excluding volume a^3

To calculate the solvent excluding volume a^3 of the complex (**1** / TOPO), the initial structure was generated with Avogadro (version 1.2.0, <http://avogadro.cc/>) as an input-file for Gaussian 09 (revision D.01, <https://gaussian.com/>) and then optimized via DFT calculations with the hybrid functional B3LYP and a 3-21G basis set. The local minimum was verified by a frequency analysis and the molar volume was calculated with the Monte Carlo method, leading to a solvent excluding volume of 1038 Å³.

S4.3 Lippert-Mataga-Analysis with the toluene and benzonitrile spectra

This work provides experimental evidence for the emission of two proton transfer species upon optical excitation of the complexed photoacid. The fluorescence emission spectra in binary solvent mixtures were analyzed globally. A two-dimensional basis set made of the complex spectra in pure toluene and benzonitrile was used to decompose the emission spectra in binary mixtures. Due to solvatochromism, the spectral position of the basis spectra was optimized for each solvent. The two limit spectra represent a first approximation to the emission spectra of CPX and HBIP (see discussion, main text). The fit procedure was further refined by the inclusion of the pristine HBIP spectrum in the basis set (see section S4.5). The solvent-dependent emission maxima of the two species resulting from the spectral decomposition outlined above were analyzed by the Lippert-Mataga model^{17–20} of solvatochromism (equation (S14)). Here, the Stokes shift $\Delta\tilde{\nu}$ of a fluorophore is explained by the change of its permanent dipole moment upon electronic excitation $\Delta\mu = |\mu^{\text{excited state}} - \mu^{\text{ground state}}|$:

$$\Delta\tilde{\nu} = \frac{1}{hc} * \frac{2*\Delta\mu^2}{4\pi\epsilon_0*a^3} * \Delta f \quad (\text{S14})$$

$$\Delta f = f(\epsilon_r) - f(n) = \frac{\epsilon_r - 1}{2\epsilon_r + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (\text{S15})$$

where h is the Planck constant and c and ϵ_0 the speed of light and the dielectric permittivity in vacuum, respectively. Δf is called the orientation polarizability and a function of the relative permittivity ϵ_r and the refractive index n . $f(\epsilon_r)$ describes both the electronic and the orientational effects, whereas $f(n)$ accounts for the instantaneous electronic response.^{21,22} In this model, the dye is considered as a point dipole sitting at the center of a polarizable spherical cavity of radius a surrounded by a dielectric continuum. The latter is solely characterized by its dielectric constant

S32

and is therefore limited to systems with no specific molecular interactions. The permanent dipole moment in the excited state $\mu^{\text{excited state}}$ is assumed to be parallel to the one in the ground state $\mu^{\text{ground state}}$. To obtain the Δf values, the refractive indices of the mixtures were measured with an Abbe refractometer (Atago 3T, 20°C, see section S3.1), whereas the relative permittivities $\epsilon_{r,\text{mix}}$ were calculated with the expression $\epsilon_{r,\text{mix}} = f_a * \epsilon_{r,a} + f_b * \epsilon_{r,b}$ under the assumption of ideal mixing.^{23–26} $\epsilon_{r,i}$ and f_i are the relative permittivity and the volume fraction of the pure solvent i . Please note that deviations from the ideal behavior may be the reason for the noticeable curvature in Lippert-Mataga plots. The solvent excluding volume a^3 of the dye was calculated with Gaussian (see section S4.2). Please note that the solvatochromism of the free photoacid without ligand was already investigated in detail in a previous study⁵ and was, therefore, not analyzed further in this publication.

Figure S30 and Figure S31 show the linear combination fit of the solvent mixture spectra. This fit procedure can also be applied to other solvents like the complexed photoacid in chlorobenzene (Figure S32).

S33

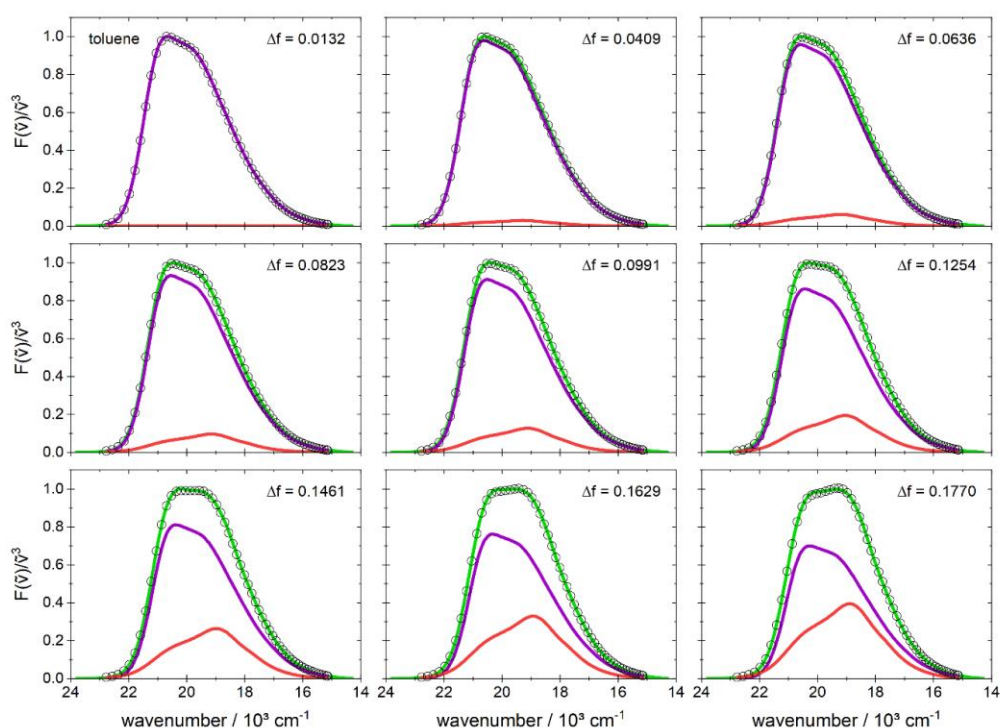


Figure S30: Linear combination fit (black circles) of the emission spectra of the 1:TOPO complex (green) in different solvent mixtures. The shifted spectra of the complex in pure toluene (violet) and benzonitrile (red) serve as the basis set. The Δf value (0.0132 to 0.177) of each solvent mixture is indicated.

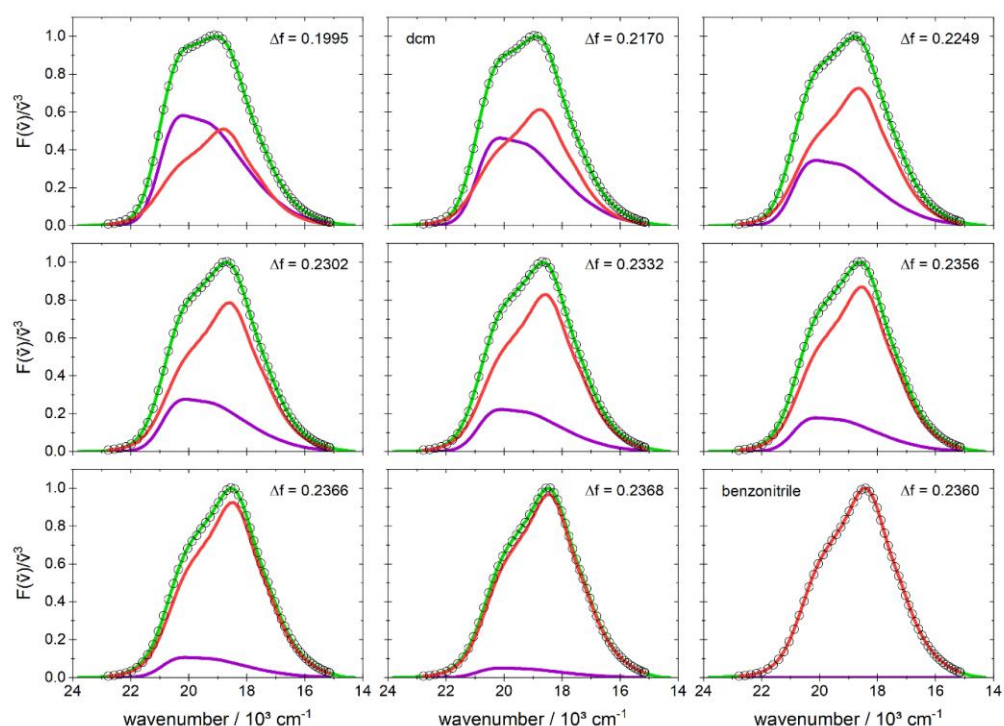


Figure S31: Linear combination fit (black circles) of the emission spectra of the 1:TOPO complex (green) in different solvent mixtures. The shifted spectra of the complex in pure toluene (violet) and benzonitrile (red) serve as the basis set. The Δf value (0.1995 to 0.236) of each solvent mixture is indicated.

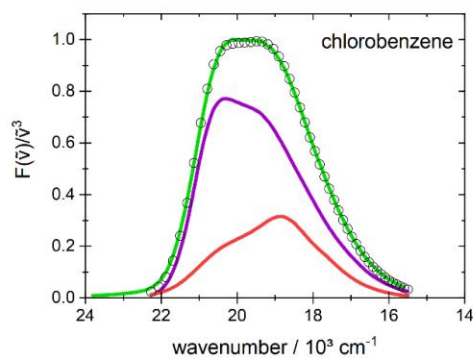


Figure S32: Fit of the complex emission spectrum in chlorobenzene analogous to the ones of the solvent mixtures. The intensities and shifts of the single bands suit to the fits of the solvent mixtures.

S4.4 Obtaining the refined ion pair spectrum

To deconvolute the emission spectrum of the complexed photoacid in acetonitrile (Figure 4a, main text) the shift of the pure CPX emission band is required. Therefore, we interpolate the spectral shift of our linear combination fit (section S4.3) to the Δf value of acetonitrile, obtaining a shift of -753 cm^{-1} at $\Delta f = 0.305$ (Figure S33).

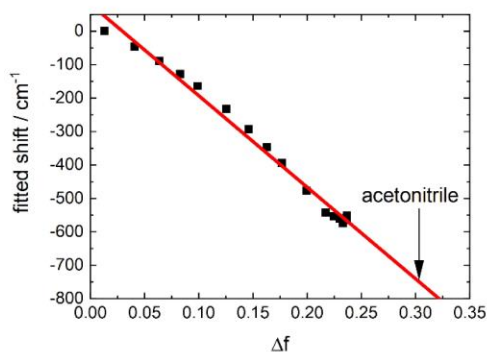


Figure S33: Fitted shifts for the complex band via linear combination and the linear interpolation for acetonitrile with a shift of -753 cm^{-1} at $\Delta f = 0.305$.

Four basis spectra are used to fit the experimental fluorescence spectrum of the complexed photoacid in acetonitrile: the free photoacid in acetonitrile (ROH), the shifted complex spectrum in toluene (CPX), a log-normal function (accounting for the HBIP emission band) and the fully deprotonated form in acetonitrile (RO^-). The log-normal function over wavenumbers $\tilde{\nu}$ is defined by:²⁷

$$f(\tilde{\nu}) = \begin{cases} \exp\left(-\ln(2) \left[\frac{\ln(1+\alpha)}{b}\right]^2\right) & \text{if } \alpha > -1 \\ 0 & \text{if } \alpha \leq -1 \end{cases} \quad (\text{S16})$$

with $\alpha = 2b(\tilde{\nu} - \tilde{\nu}_0)/\Delta$. The center ($\tilde{\nu}_0$), width (Δ) and asymmetry parameter (b) of the log-normal function are simultaneously fitted with the fractions of the basis spectra. The experimental spectrum can very well be reproduced by such a linear combination (see Figure 4a, main text).

S36

The fit results in a log-normal function with $\tilde{\nu}_0 = 18322 \pm 15 \text{ cm}^{-1}$, $\Delta = 2167 \pm 31 \text{ cm}^{-1}$ and $b = -0.20 \pm 0.02$ as the pristine emission spectrum for HBIP. The 7 % contribution of ROH to the fitted spectrum suits well to the nearly doubled extinction coefficient of ROH to CPX at 400 nm (Figure S11) and the adjusted complexation ratio of > 97 %. We will investigate the intricate dynamics between all the four species in detail via ultrafast-spectroscopy methods in a future publication, but we emphasize that the goodness of the fit supports our spectral decomposition.

S4.5 Lippert-Mataga-Analysis with the refined spectrum of the ion pair

Figure S34 and Figure S35 show the refined linear combination fit of the solvent mixture spectra. The basis spectra used are the emission spectra of the complexed photoacid in toluene and the log-normal function obtained in the deconvolution of the emission spectrum in acetonitrile (see Figure 4a, main text and section S4.4). Following the previous fitting procedure in S4.3, the shift of the two basis spectra was fitted simultaneously with the amplitudes. The maxima of the two bands lead to a refined Lippert-Mataga-Plot (Figure S38), which results in a change of the transition dipole moment upon excitation of $16.2 \pm 0.3 \text{ D}$ for CPX and $19.5 \pm 0.5 \text{ D}$ for HBIP.

S37

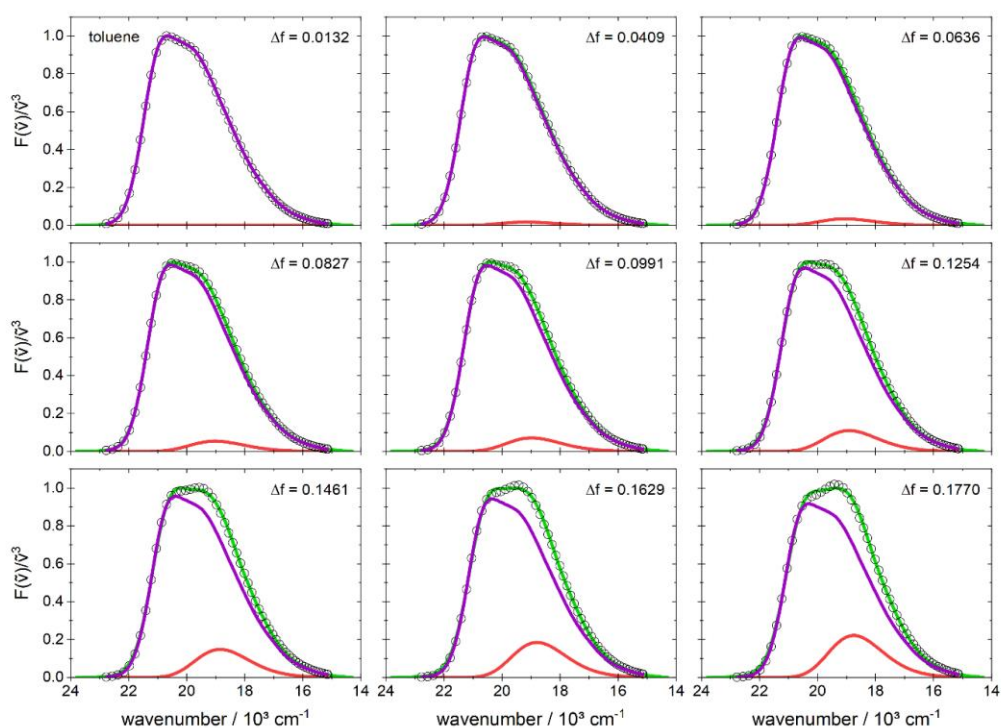


Figure S34: Linear combination fit (black circles) of the emission spectra of the 1:TOPO complex (green) in different solvent mixtures. The shifted spectrum of the complex in pure toluene (violet) and the log-normal function (refined HBIP, red) serve as the basis set. The Δf value (0.0132 to 0.177) of each solvent mixture is indicated.

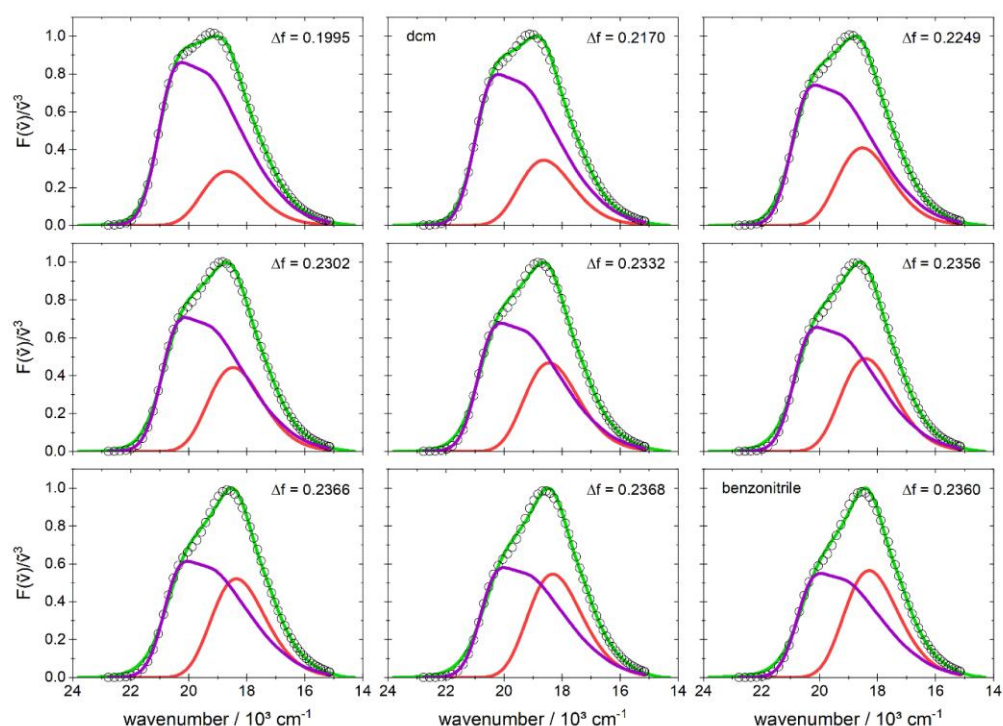


Figure S35: Linear combination fit (black circles) of the emission spectra of the 1:TOPO complex (green) in different solvent mixtures. The shifted spectrum of the complex in pure toluene (violet) and the log-normal function (refined HBIP, red) serve as the basis set. The Δf value (0.1995 to 0.236) of each solvent mixture is indicated.

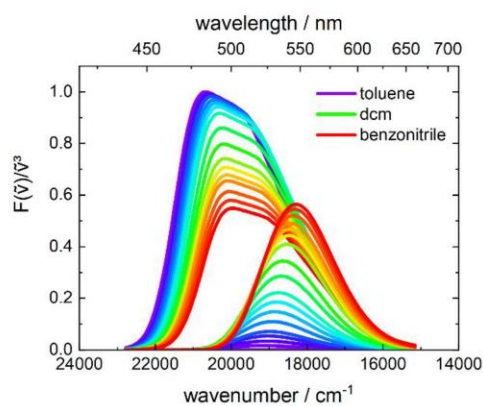


Figure S36: Overview of the two fitted bands from the deconvolution of the binary mixture measurements with the refined HBIP spectrum.

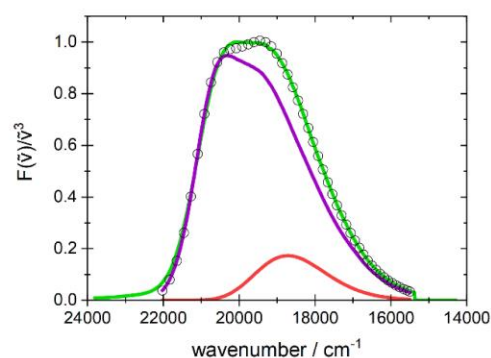


Figure S37: Fit of the complex emission spectrum in chlorobenzene analogous to the ones of the solvent mixtures. The intensities and shifts of the single bands suit to the fits of the solvent mixtures.

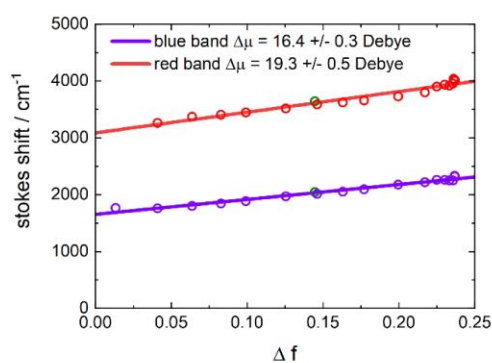


Figure S38: Lippert-Mataga-Plot of the complex band and the refined HBIP band. The two green dots correspond to the decomposition of chlorobenzene (Figure S37), which is in good agreement to the solvent mixtures.

It should be mentioned that the refined Lippert-Mataga-analysis even results in a significant difference in the change of the dipole moments between CPX and HBIP of 1.4 ± 0.4 D (~ 30 pm), if carried out very conservatively without the data points of the dcm/benzonitrile mixtures.

S4.6 Correlation with alternative parameter π^*

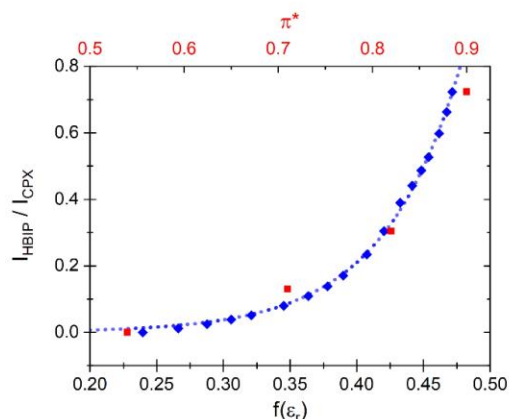


Figure S39: Correlation between the solvent parameters π^* and $f(\epsilon_r)$ and the ratio of the integrals I_{HBIP}/I_{CPX} (from Figure S36 and Figure S37).

Despite the limited datapoints, a correlation between the semiempirical Kamlet-Taft parameter π^* and the ratio I_{HBIP}/I_{CPX} is suggested, similar to the found one with $f(\epsilon_r)$ (see Figure S39). This hint is in good agreement with the linear correlation between π^* and $f(\epsilon_r) \cdot f(n)$ found by Bekárek²⁸, as for the used solvents $f(n)$ does not change significantly in comparison to $f(\epsilon_r)$. The solvent parameter $f(\epsilon_r)$, however, is the preferred description for our analysis because it reflects a physical model, based on Onsager's seminal work.²⁹

S5 Time-correlated single photon counting (TCSPC)

Fluorescence lifetimes were measured on a home-built setup, described in a previous publication.¹

Excitation was done with a pulsed laser diode at 405 nm (Pico-Quant, LDH-P-C-405, 20 MHz).

For each solvent, three measurements were executed: photoacid **1** with $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}476$ nm, **1**/TOPO in the short wavelength region with $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}476$ nm (toluene: $\lambda_{\text{det}} = 420\text{--}460$ nm) and **1**/TOPO in the long wavelength region with $\lambda_{\text{det}} = 555\text{--}625$ nm. The TOPO concentrations were adjusted for a complexation rate $> 97\%$ (see Table S1), whereas the concentration of the photoacid was adjusted for an optical density below 0.1. For the short wavelength regions, the instrument response function (IRF) was measured with a suspension of colloidal silica particles (Sigma Aldrich, TM 50 colloidal silica 50 wt. % suspension), whereas for the long wavelength region a solution of erythrosine B (Fluka, $\geq 95\%$) quenched by 5.5 M of potassium iodide (Grüssing, 99.5 %) was used to correct for color effects of the detector.³⁰ The FWHM of the IRFs are around ~ 100 ps for the quenched erythrosine B solution and ~ 300 ps for the one measured with silica particles, which were estimated as the error of the obtained fluorescence lifetimes τ , as long as the fit-error was smaller.

Table S2: Fluorescence lifetimes of photoacid **1** with and without TOPO (see Table S1).

solvent	1 $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}476$ nm	1 /TOPO $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}476$ nm	1 /TOPO $\lambda_{\text{det}} = 555\text{--}625$ nm	
	τ_1 / ns	τ_1 / ns	τ_1 / ns	τ_2 / ns
toluene	$3.7 \pm 0.3^*$	$3.9 \pm 0.3^*$	4.0 ± 0.1	-
chlorobenzene	3.5 ± 0.3	4.0 ± 0.3	4.1 ± 0.1	-
dcm	3.5 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.4 ± 0.1	-
benzonitrile	3.5 ± 0.3	4.0 ± 0.3	4.6 ± 0.1	-
acetonitrile	4.2 ± 0.3	4.1 ± 0.3	6.2 ± 0.1	$4.5 \pm 0.4^{**}$

* detection range $\lambda_{\text{det}} = 420\text{--}460$ nm instead of $\lambda_{\text{det}} = 417\text{--}476$ nm

** negative amplitude

S42

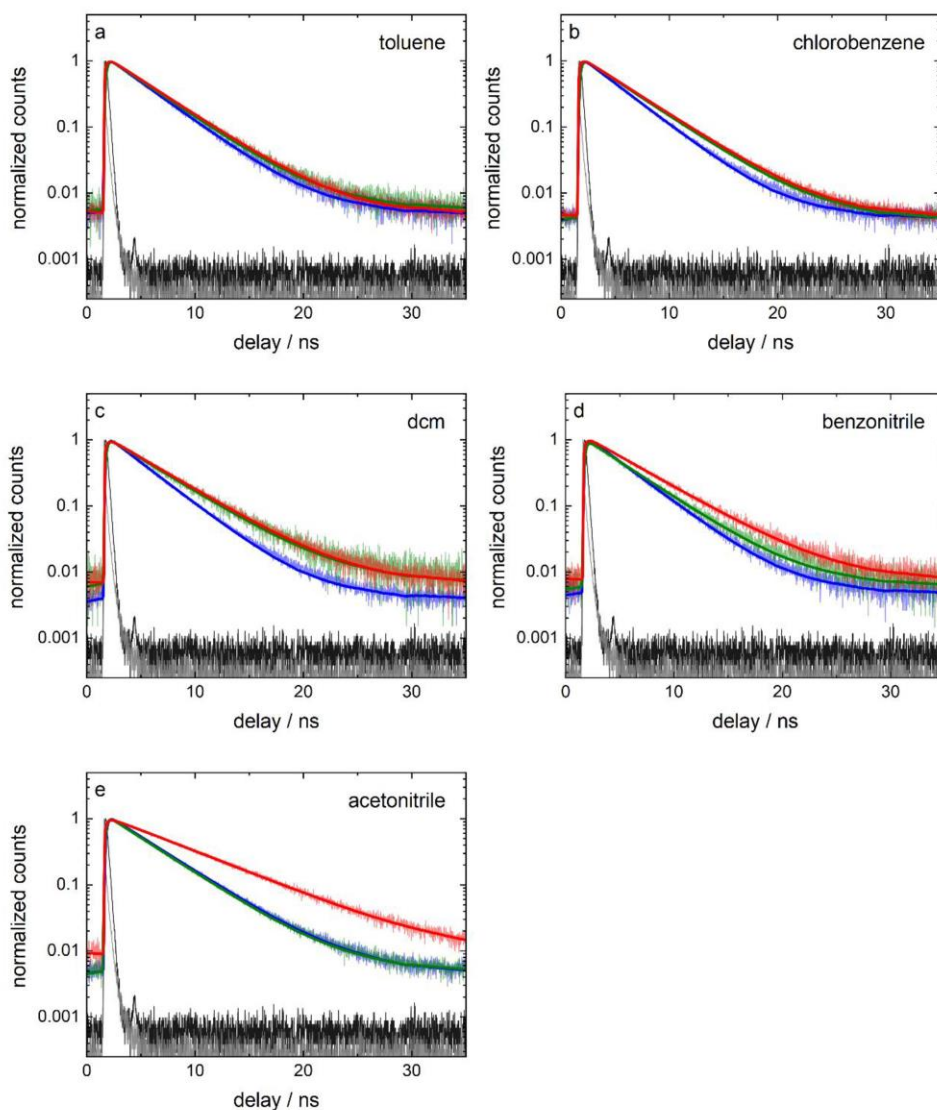


Figure S40: Fluorescence lifetime decays of photoacid 1 (blue) and 1/TOPO (green: short wavelength region, red: long wavelength region) in different solvents with $\lambda_{\text{exc}} = 405 \text{ nm}$. Experimental data is slightly transparent, whereas the solid lines are the deconvolution fits. IRFs are displayed in grey (quenched erythrosine B, $\sim 100 \text{ ps}$ FWHM) and black (suspension of silica particles, $\sim 300 \text{ ps}$ FWHM).

S43

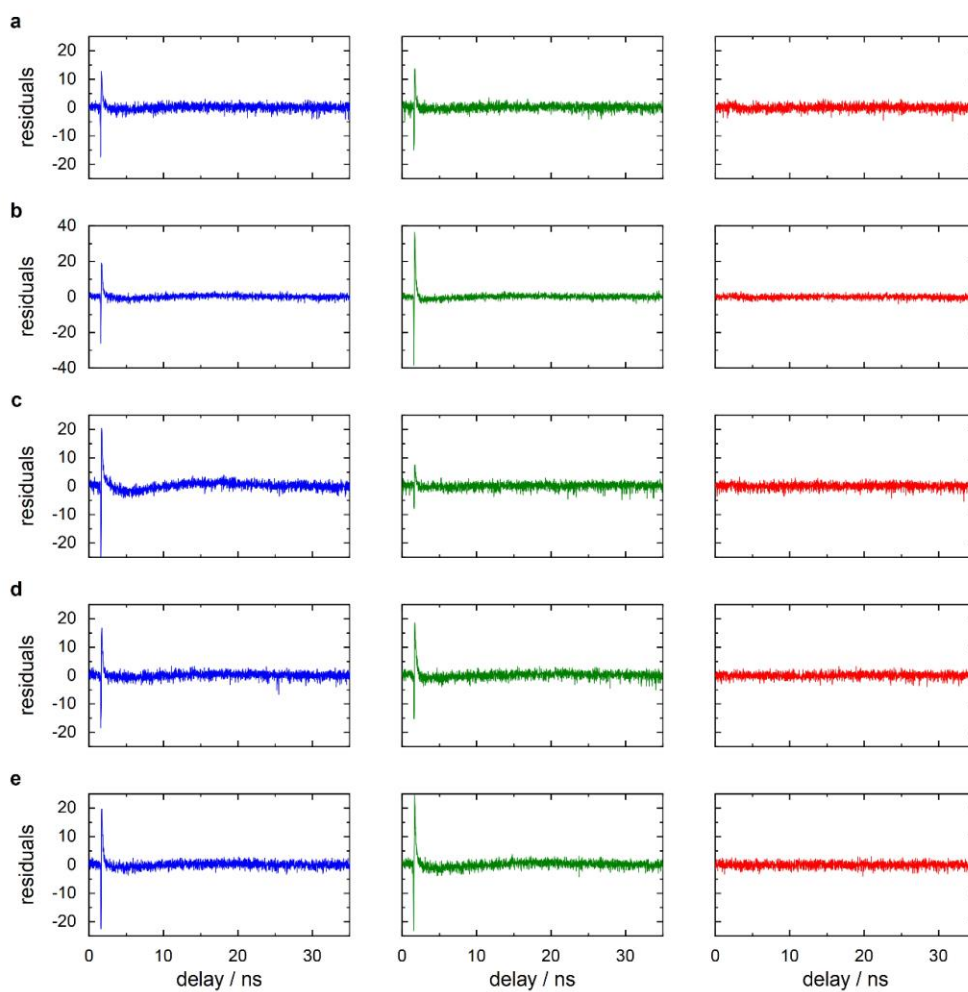


Figure S41: Residuals of the exponential fits for photoacid 1 (blue) and 1/TOPO (green: short wavelength region, red: long wavelength region) in different solvents: (a) toluene, (b) chlorobenzene, (c) dcm, (d) benzonitrile, (e) acetonitrile (see Figure S40).

For the fluorescence lifetime measurement of RO⁻, a sample of photoacid **1** in non-dried acetonitrile was excited at 530 nm with a tunable pulsed fiber laser (Toptica Photonics, FemtoFiber pro TVIS with a customized pulse picker add-on, 20 MHz). The detection range was 540-600 nm and the IRF was recorded with the suspension of silica particles (~50 ps FWHM). The monoexponential fit results in the fluorescence lifetime $\tau_{\text{RO}} = 6.2 \pm 0.1$ ns.

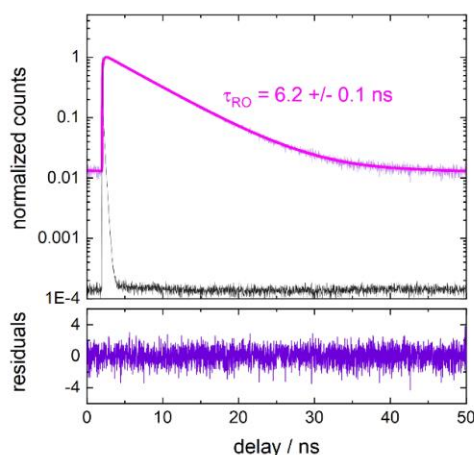


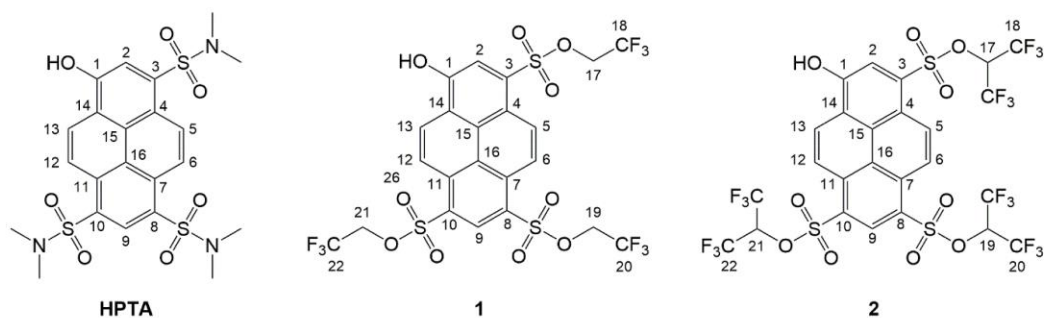
Figure S42: Fluorescence lifetime decay of RO⁻ (purple) and the corresponding monoexponential fit in pink (upper panel, $\lambda_{\text{exc}} = 530$ nm). The IRF is displayed in black (suspension of silica particles, ~50 ps FWHM). The lower panel shows the residuals of the fit.

All TCSPC measurements show a monoexponential decay, except for the long wavelength region of **1**/TOPO in acetonitrile. Here, the deconvolution results in a biexponential decay with $\tau_1 = 6.2 \pm 0.1$ ns, which matches with the fluorescence lifetime of RO⁻, and $\tau_2 = 4.5 \pm 0.1$ ns, which has a negative amplitude and fits to the lifetime of the short wavelength region (4.1 ± 0.3 ns). Therefore, the biexponential decay is attributed to the RO⁻ fraction of the sample, which is formed in the excited state via ESPT. Please note, that the lifetimes of the short wavelength region are calculated with a different IRF, than the one for the long wavelength region and the excitation wavelength in combination with the detection range can overrepresent the unbound ROH fraction

S45

in the short wavelength detection, resulting in slightly shorter fluorescence lifetimes, like in benzonitrile. Nevertheless, in general, the fluorescence lifetimes of **1**/TOPO match over the two wavelength regions. In addition with their monoexponential decays, we conclude that CPX and HBIP are in an excited-state equilibrium. The rate constants of the elementary proton transfer step are hidden in these monoexponential decay times around 4 ns, as they occur on a much faster time scale.^{15,31–33} An experimental setup with a better spectral resolution and a shorter time resolution may overcome this limitation (e.g. transient absorption or fluorescence up-conversion).

S6 ^1H -NMR characterization of the synthesized photoacids



Scheme S2: Chemical structures and H-assignment for NMR spectra.

HPTA, ^1H -NMR (400 MHz, $\text{dms}\text{-d}_6$): δ [ppm] = 2.80 (s, 6 H, $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$), 2.81 (s, 6 H, $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$), 2.82 (s, 6 H, $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$), 8.28 (s, 1 H, 2-H), 8.86 (d, $^3J = 9.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 8.97 (s, 1 H, 9-H), 8.99 (d, $^3J = 9.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.13 (d, $^3J = 9.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.26 (d, $^3J = 9.8$ Hz, 1 H, Ar-H).

1, ^1H -NMR (400 MHz, acetone-d_6): δ [ppm] = 4.87-4.95 (m, 6 H, 17-H, 19-H, 21-H), 8.63 (s, 1 H, 2-H), 9.01 (d, $^3J = 9.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.07 (d, $^3J = 9.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.17 (d, $^3J = 9.5$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.28 (d, $^3J = 9.8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.38 (s, 1 H, 9-H).

2, ^1H -NMR (400 MHz, acetone-d_6): δ [ppm] = 6.34-6.43 (m, 2 H, 19-H, 21-H), 6.48 (sept, $^3J = 5,6$ Hz, 1 H, 17-H), 8.68 (s, 1 H, 2-H), 9.09 (d, $^3J = 9,8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.11 (d, $^3J = 9,8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.28 (d, $^3J = 9,8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.40 (d, $^3J = 9,8$ Hz, 1 H, Ar-H), 9.42 (s, 1 H, 9-H).

S47

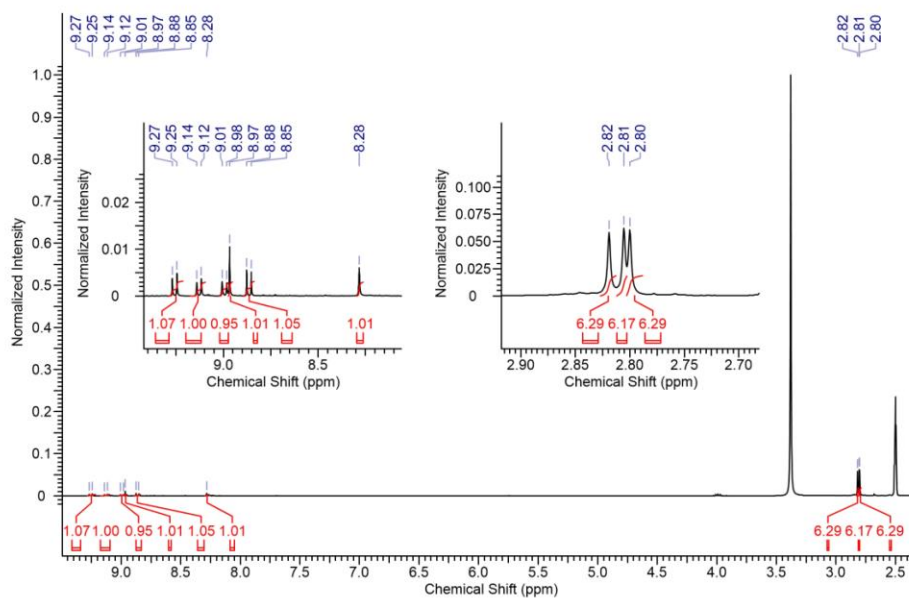


Figure S43: ^1H -NMR of HPTA in dms0-d_6 .

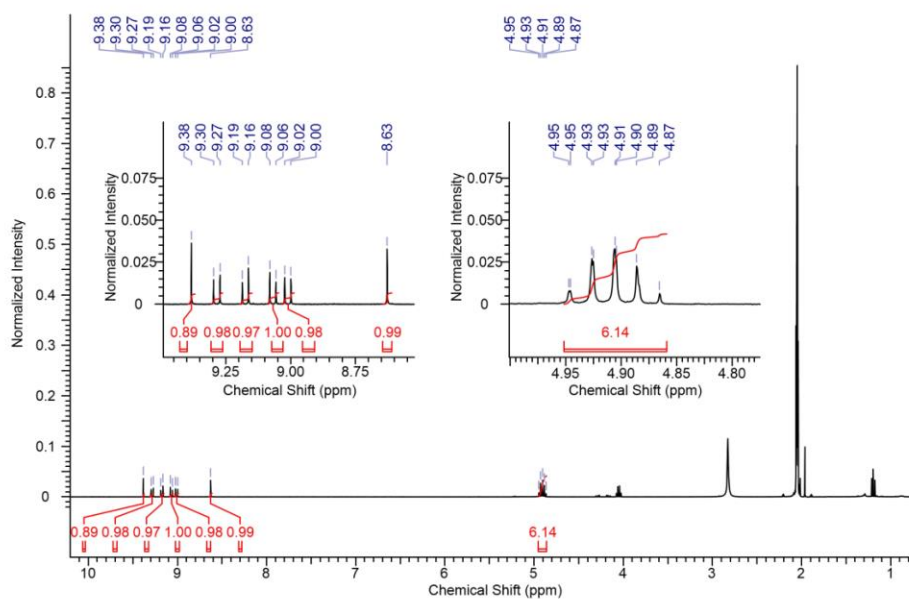


Figure S44: ^1H -NMR of photoacid 1 in acetone-d_6 .

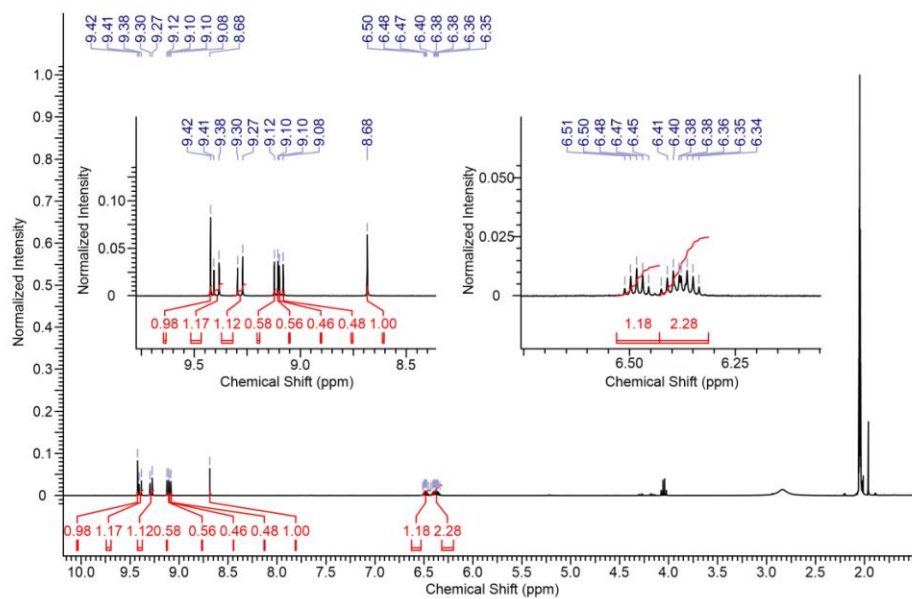


Figure S45: ^1H -NMR of photoacid 2 in acetone-d_6 .

References

- (1) Finkler, B.; Spies, C.; Vester, M.; Walte, F.; Omlor, K.; Riemann, I.; Zimmer, M.; Stracke, F.; Gerhards, M.; Jung, G. Highly Photostable “Super”-Photoacids for Ultrasensitive Fluorescence Spectroscopy. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13* (3), 548–562. <https://doi.org/10.1039/c3pp50404b>.
- (2) Gardecki, J. A.; Maroncelli, M. Set of Secondary Emission Standards for Calibration of the Spectral Responsivity in Emission Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **1998**, *52* (9), 1179–1189. <https://doi.org/10.1366/0003702981945192>.
- (3) Angulo, G.; Grampp, G.; Rosspeintner, A. Recalling the Appropriate Representation of Electronic Spectra. *Spectrochim. Acta, Part A* **2006**, *65* (3–4), 727–731. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.01.007>.
- (4) Thordarson, P. Determining Association Constants from Titration Experiments in Supramolecular Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (3), 1305–1323. <https://doi.org/10.1039/c0cs00062k>.
- (5) Spies, C.; Finkler, B.; Acar, N.; Jung, G. Solvatochromism of Pyranine-Derived Photoacids. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (45), 19893–19905. <https://doi.org/10.1039/c3cp53082e>.
- (6) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Abraham, M. H.; Taft, R. W. Linear Solvation Energy Relationships. 23. A Comprehensive Collection of the Solvatochromic Parameters, π^* , α , and β , and Some Methods for Simplifying the Generalized Solvatochromic Equation. *J. Org. Chem.* **1983**, *48* (17), 2877–2887. <https://doi.org/10.1021/jo00165a018>.
- (7) Laurence, C.; Nicolet, P.; Dalati, M. T.; Abboud, J. L. M.; Notario, R. The Empirical Treatment of Solvent-Solute Interactions: 15 Years of π . *J. Phys. Chem.* **1994**, *98* (23), 5807–5816. <https://doi.org/10.1021/j100074a003>.
- (8) Abraham, M. H.; Andonian-Haftvan, J.; Whiting, G. S.; Leo, A.; Taft, R. S. Hydrogen Bonding. Part 34. The Factors That Influence the Solubility of Gases and Vapours in Water at 298 K, and a New Method for Its Determination. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, No. 8, 1777. <https://doi.org/10.1039/p29940001777>.
- (9) Sherman, S. R.; Suleiman, D.; Hait, M. J.; Schiller, M.; Liotta, C. L.; Eckert, C. A.; Li, J.; Carr, P. W.; Poe, R. B.; Rutan, S. C. Correlation of Partial Molar Heats of Transfer at Infinite Dilution by a Linear Solvation Energy Relationship. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (28), 11239–11247. <https://doi.org/10.1021/j100028a027>.
- (10) Olson, E. J.; Bühlmann, P. Getting More Out of a Job Plot: Determination of Reactant to Product Stoichiometry in Cases of Displacement Reactions and n:N Complex Formation. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (20), 8406–8412. <https://doi.org/10.1021/jo201624p>.
- (11) Facchiano, A.; Ragone, R. Modification of Job’s Method for Determining the Stoichiometry of Protein-Protein Complexes. *Anal. Biochem.* **2003**, *313* (1), 170–172. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00562-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00562-6).

- (12) Kharel, S.; Bhuvanesh, N.; Gladysz, J. A.; Blümel, J. New Hydrogen Bonding Motifs of Phosphine Oxides with a Silanediol, a Phenol, and Chloroform. *Inorganica Chim. Acta* **2019**, *490* (February), 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2019.03.019>.
- (13) Vester, M.; Grueter, A.; Finkler, B.; Becker, R.; Jung, G. Biexponential Photon Antibunching: Recombination Kinetics within the Förster-Cycle in DMSO. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10281–10288. <https://doi.org/10.1039/C6CP00718J>.
- (14) Lide, D. R. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 87th ed.; CRC Press: Florida, 2006.
- (15) Kumpulainen, T.; Rosspeintner, A.; Dereka, B.; Vauthey, E. Influence of Solvent Relaxation on Ultrafast Excited-State Proton Transfer to Solvent. *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 4516–4521. <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.7b01956>.
- (16) van Wilderen, L. J. G. W.; Messmer, A. T.; Bredenbeck, J. Mixed IR/Vis Two-Dimensional Spectroscopy: Chemical Exchange beyond the Vibrational Lifetime and Sub-Ensemble Selective Photochemistry. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53* (10), 2667–2672. <https://doi.org/10.1002/anie.201305950>.
- (17) Lippert, E. Dipolmoment Und Elektronenstruktur von Angeregten Molekülen. *Zeitschrift für Naturforsch. A* **1955**, *10* (7), 541–545. <https://doi.org/10.1515/zna-1955-0707>.
- (18) Lippert, E. Spektroskopische Bestimmung Des Dipolmomentes Aromatischer Verbindungen Im Ersten Angeregten Singulettzustand. *Zeitschrift für Elektrochemie* **1957**, *61* (8), 962–975. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19570610819>.
- (19) Mataga, N.; Kaifu, Y.; Koizumi, M. Solvent Effects upon Fluorescence Spectra and the Dipolemoments of Excited Molecules. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, *29* (4), 465–470. <https://doi.org/10.1246/bcsj.29.465>.
- (20) Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed.; Springer Science+Business Media: New York, 2006.
- (21) Pal, S. K.; Devi, A.; Ghosh, S. K. Size-Specific ZnO Quantum Dots as Onsager Cavity in Ooshika–Mataga–Lippert Equation. *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121* (9), 5324–5334. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b12359>.
- (22) Mataga, N.; Kubota, T. Solvent Effect on the Electronic Spectra. In *Molecular Interactions and Electronic Spectra*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1970; pp 371–410. <https://doi.org/10.1063/1.3127907>.
- (23) Buep, A. H. Dielectric Properties of Binary Systems 10. Ideal Dielectric Behavior and Excess Dielectric Properties. *J. Mol. Liq.* **1992**, *51* (3–4), 279–306. [https://doi.org/10.1016/0167-7322\(92\)80089-Z](https://doi.org/10.1016/0167-7322(92)80089-Z).
- (24) Buep, A. H. Dielectric Properties of Liquid Systems: The Ideal Complex Permittivity in Liquid Mixtures. *Turkish J. Phys.* **2009**, *33* (5), 243–247. <https://doi.org/10.3906/fiz-0905-1>.
- (25) Reis, J. C. R.; Iglesias, T. P.; Douhéret, G.; Davis, M. I. The Permittivity of

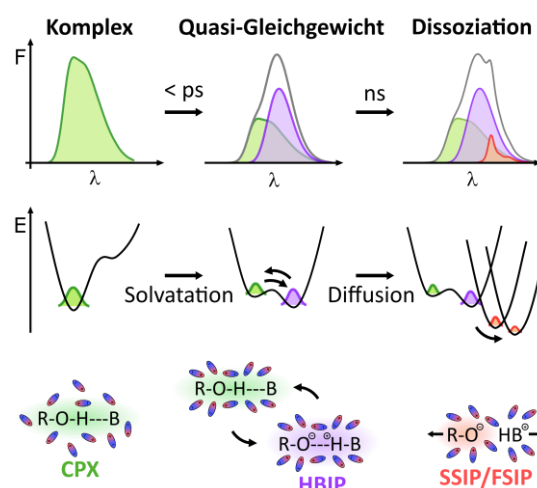
Thermodynamically Ideal Liquid Mixtures and the Excess Relative Permittivity of Binary Dielectrics. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11* (20), 3977–3986. <https://doi.org/10.1039/b820613a>.

- (26) Reis, J. C. R.; Lampreia, I. M. S.; Santos, Â. F. S.; Moita, M. L. C. J.; Douhéret, G. Refractive Index of Liquid Mixtures: Theory and Experiment. *ChemPhysChem* **2010**, *11* (17), 3722–3733. <https://doi.org/10.1002/cphc.201000566>.
- (27) Bingemann, D.; Ernsting, N. P. Femtosecond Solvation Dynamics Determining the Band Shape of Stimulated Emission from a Polar Styryl Dye. *J. Chem. Phys.* **1995**, *102* (7), 2691–2700. <https://doi.org/10.1063/1.468645>.
- (28) Bekarek, V. Contribution to the Interpretation of a General Scale of Solvent Polarities. *J. Phys. Chem.* **1981**, *85* (6), 722–723. <https://doi.org/10.1021/j150606a023>.
- (29) Onsager, L. Electric Moments of Molecules in Liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58* (8), 1486–1493. <https://doi.org/10.1021/ja01299a050>.
- (30) Szabelski, M.; Ilijev, D.; Sarkar, P.; Luchowski, R.; Gryczynski, Z.; Kapusta, P.; Erdmann, R.; Gryczynski, I. Collisional Quenching of Erythrosine B as a Potential Reference Dye for Impulse Response Function Evaluation. *Appl. Spectrosc.* **2009**, *63* (3), 363–368. <https://doi.org/10.1366/000370209787598979>.
- (31) Pérez-Lustres, J. L.; Rodriguez-Prieto, F.; Mosquera, M.; Senyushkina, T. A.; Ernsting, N. P.; Kovalenko, S. A. Ultrafast Proton Transfer to Solvent: Molecularly and Intermediates from Solvation- and Diffusion-Controlled Regimes. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (17), 5408–5418. <https://doi.org/10.1021/ja0664990>.
- (32) Rini, M.; Magnes, B.-Z.; Pines, E.; Nibbering, E. T. J. Real-Time Observation of Bimodal Proton Transfer in Acid-Base Pairs in Water. *Science* **2003**, *301*, 349–352. <https://doi.org/10.1126/science.1085762>.
- (33) Spry, D. B.; Goun, A.; Fayer, M. D. Deprotonation Dynamics and Stokes Shift of Pyranine (HPTS). *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111* (2), 230–237. <https://doi.org/10.1021/jp066041k>.

S52

5.3. Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns

Alexander Grandjean, J. Luis Pérez Lustres, Gregor Jung,
ChemPhotoChem **2021**, 5, 1094-1105.



Special
Collection

Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns

Alexander Grandjean,^[a] J. Luis Pérez Lustres,^{*,[b]} and Gregor Jung^{*,[a]}*In memory of Prof. Dr. Markus Gerhards (Fachbereich Chemie, Technische Universität Kaiserslautern, Germany)*

Intermolecular Proton Transfer (PT) dynamics can be best studied by optical spectroscopy, which can cover the vast timescale spanned by the process. PT in a hydrogen bonding complex between a pyranine-based photoacid and a trialkyl-phosphine oxide is addressed. The photoreaction is traced with the help of femtosecond transient absorption and picosecond-resolved fluorescence. Characteristic kinetics and spectra of the intervening species are isolated by global analysis and spectral decomposition of time-resolved fluorescence. It is found that

the shared proton shifts towards the phosphine site upon photoexcitation in acetonitrile. The process occurs on the subpicosecond timescale, essentially, under solvent control. Despite the ultrafast rate, an equilibrium between the complex and the hydrogen-bonded ion pair (HBIP) is established. Further reaction steps are delayed to the nanosecond timescale, where formation of the excited deprotonated form is observed. The far-reaching consistency between the various methods supports an irreversible Eigen-Weller mechanism in the excited state.

1. Introduction

Fluorescent photoacids become much more acidic upon optical excitation and constitute a mighty tool to study intermolecular proton transfer in the excited-state (ESPT). The latter process can be triggered by ultrafast laser excitation of a pre-established hydrogen-bonded pair between the photoacid and a base. Since optical properties change during deprotonation, the dynamics of all participating species can be monitored precisely by time-resolved fluorescence and transient absorption spectroscopy in the optical spectral region.

ESPT was first reported by Weber in 1931.^[1] Later on, Förster introduced the so-called Förster-Cycle, which relates the proton transfer free energies in ground- and excited states to the transition energies of protonated and deprotonated forms.^[2] A strong reduction of the pK_a value of the photoacid ROH upon optical excitation may induce ultrafast proton transfer to the

solvent or to a basic species in the neighborhood, which is accompanied by strongly red-shifted emission of the deprotonated form RO^- . Eigen and Weller found experimental evidences for further reaction stages involving formation of an encounter complex and a contact ion pair just before and after the elementary proton transfer step.^[3–7] The formation of these species was confirmed by ultrafast spectroscopy.^[8–14] Proton transfer to solvent (PTTS) dynamics was found to be very complex. In 1988, Pines et al. addressed 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid (HPTS, also called pyranine), which dissociates in water and alcohols on the picosecond timescale.^[15] The process was monitored by picosecond-resolved fluorescence. The latter was explained by the diffusional motion of a proton in the proximity of an ion. Solution of the corresponding Debye-Smoluchowski-Equation (DSE) models picosecond PTTS dynamics successfully, suggesting that geminate proton recombination plays a major role in the photodissociation of strongly charged HPTS. Further experiments exposed apparent inconsistencies with the exact solution of the DSE.^[16,17] The model was refined by introducing the solvent-separated ion pair (SSIP) as additional reaction intermediate. The SSIP is conjectured as a loosely bound complex of charged conjugated acid and base, which are separated by several solvent molecules. The hydrogen bonding interaction would be responsible for spectral differences between the hydrogen-bonded ion pair (HBIP) and the SSIP. The fully-separated ion pair (FSIP) is formed when the distance between the conjugated base and the proton becomes so large that Coulomb interactions vanish completely.^[17–20]

The role of the solvent coordinate as promoter of the PTTS reaction has been emphasized in several studies,^[21–23] where proton transfer from strong photoacids to accepting solvents was monitored at high time resolution. It was found that ultrafast proton transfer occurs in a non-equilibrated solvent environment. Consequently, dynamic spectral shifts of the

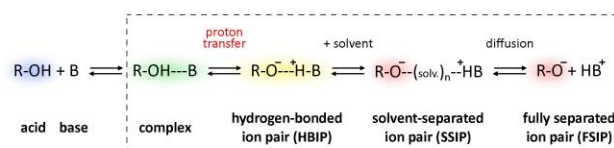
[a] A. Grandjean, Prof. Dr. G. Jung
Biophysikalische Chemie, Universität des Saarlandes, FR Chemie, Gebäude B2 2, Postfach 151150, D-66041 Saarbrücken (Germany)
E-mail: g.jung@mx.uni-saarland.de

[b] Dr. J. L. Pérez Lustres
Current Address: Fachbereich Physik, Freie Universität Berlin, Arnimallee 14, 14195 Berlin (Germany)
and
Experimental work conducted at former affiliation: Physikalisch Chemisches Institut, Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 229, D-69120 Heidelberg (Germany)
E-mail: perez.lustres@fu-berlin.de

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cptc.202100177>

An invited contribution to the "GDCh and ChemPhotoChem: 5-Year Anniversary" Special Collection

© 2021 The Authors. ChemPhotoChem published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.



Scheme 1. Reaction stages in the Eigen-Weller Model. The dashed line contains the reaction steps addressed in this work.

involved species also contribute to the time-resolved fluorescence and transient absorption signals measured at single wavelengths. Therefore, corrections have to be applied to extract true PTTS population dynamics from the fluorescence and transient absorption signals. This uncovers a reaction mechanism in which the elementary proton transfer step is controlled by solvent dynamics, whereas slower proton ejection out of the solvent shell occurs exponentially in water and alcohols.^[21,22] The mechanism applies in weaker acids too.^[24] Considering all these studies, a most general five stage model is envisioned for the description of intermolecular proton transfer reactions (Scheme 1): the neat protonated acid (ROH), the encounter/reactive complex (CPX), the hydrogen-bonded ion pair (HBIP), the solvent-separated ion pair (SSIP) and the fully separated ion pair (FSIP) interconvert in a broad range of timescales in a consecutive manner. Strong spectral overlap, vastly different timescales and fleeting populations of many intermediates make PTTS experimentally challenging. The problem demands broadband detection methods with high time and spectral resolution.

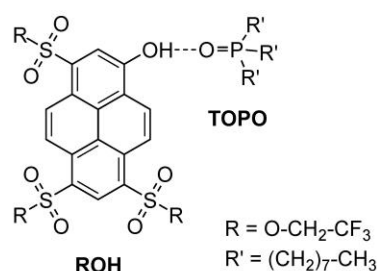
The influence of the environment on the proton transfer reaction remains unclear. Much previous work concentrates on PTTS, where the roles of the solvent as proton acceptor and as the environment facilitating the proton transfer reaction can not be separated.^[11,14–17,25] Acetate buffers were also employed,^[8–10] but competition of acetate ion and water as proton acceptors complicates the analysis. A different strategy is here followed: optical excitation of a pre-established hydrogen-bonded complex between a photoacid and a base should trigger intermolecular proton transfer in a non-basic solvent. The approach was successfully applied by a number of groups,^[19,26–29] demonstrating that such molecular systems are ideally suited to monitor intermolecular proton transfer dynamics. Under optimal conditions, optical spectra of the various intermediates can be determined by global analysis of fluorescence and transient absorption data. This also opens the way to analyze temperature dependencies and obtain characteristic activation parameters.

Ideally, proton-transfer complexes for intermolecular proton transfer must fulfill a series of requirements as high photostability and fluorescence quantum yield, high association constants in the ground state, single complexation sites, high spectral contrast between bound and unbound species and be electrically neutral to favor good solubility in a broad range of solvents. The molecular system presented in our previous publication^[30] fulfills these conditions. A pyrene-based photoacid (ROH, with $pK_a = 4.7$ and $pK_a^* = -2.7$) binds a tri-*n*-octyl-phosphine oxide (TOPO) in the ground

electronic state, see Scheme 2.^[30,31] Excited-state proton transfer occurs along the hydrogen-bond of the complex. The fluorescence bandshapes of the involved species were isolated via steady-state spectroscopy and associated solvatochromic analysis. Here, complementary time-resolved work is presented. A combination of broadband ultrafast transient-absorption and time-resolved fluorescence spectroscopy at single wavelengths is applied. Reference spectra from steady-state spectroscopy help to expose the underlying proton transfer dynamics.

2. Results

Stationary spectroscopy of all species involved in the ROH:TOPO proton transfer system was analyzed in Reference [30]. UV-Vis absorption spectra of ROH (maximum at 428 nm) and complex (441 nm) forms were measured directly in titration experiments. The UV-Vis spectrum of the deprotonated anionic form (564 nm) was measured in non-dried acetonitrile, where ROH dissociates in the presence of small amounts of water. Fluorescence spectra are, however, difficult to isolate, because of the proton transfer reaction occurring to various extents in different solvents. Thus, ROH emits with maximal intensity at 477 nm in extra-dry acetonitrile. Note that, in this work, fluorescence is analyzed in the form of stimulated emission (SE) cross-section. The latter is calculated by multiplying the spectrally corrected fluorescence quantum distribution over wavelengths by λ^4 .^[32] The deprotonated form shows very sharp emission centered at 572 nm in the same solvent, as determined by optical excitation of the deprotonated form in the ground state. However, the emission spectrum observed upon



Scheme 2. Expected molecular structure of the hydrogen bonding complex between the pyrene photoacid (ROH) and the tri-*n*-octyl-phosphine oxide base (TOPO).

photoexcitation of the complex exhibits an involved solvent dependence. This behavior was interpreted, first, as the result of the proton transfer reaction in the excited state, the extent of which is solvent dependent. Thus, the emission spectrum is the sum of individual spectra of the hydrogen-bonded ROH:TOPO complex and the HBIP in a ratio given by the solvent polarity and acid-base properties. For polar solvents, as acetonitrile, emission of the deprotonated form is also detected (see Figure SI 3). Second, the spectral position of the individual forms depends on solvent polarity, too. These two manifestations of the solvent effect were modeled in Reference [30], where emission maxima of 505 and 547 nm were deduced for the complex and the HBIP forms, respectively, in acetonitrile. The so-deduced stationary species-associated optical spectra (SAS) are collected in Figure 1.

The transient absorption spectrum of ROH in acetonitrile shows a blue shift of the excited-state absorption (ESA) signal between 500 and 550 nm during the first 1 ps. The signal decays simultaneously on the blue edge of the stimulated emission band (SE) around 450 nm. This spectral evolution still continues in the 10 ps window but with much smaller amplitude, Figure 2. After that, the spectrum virtually stays and decays on the nanosecond timescale with constant shape (not shown).

Fluorescence decay was measured in the nanosecond timescale across the emission band in 10 nm steps by time-correlated single-photon counting (TCSPC). The fluorescence decay is non trivial: a three exponential function with an additional impulsive contribution is needed to fit the data globally, Figure 3. The impulsive contribution accounts for an ultrafast decay of the signal on the blue edge of the emission band, suggesting an unresolved spectral red-shift. Decay times τ_{1-2} of 0.62(9) ns and 2.1(2) ns show small overall amplitude (< 10%). Remarkably, they show negative and positive contributions, respectively, on the blue flank of the fluorescence band, which suggests a reversible process of small amplitude (see Supporting Information, Figure SI 4). Finally, the main decay time is $\tau_3 = 4.31(1)$ ns and its amplitude resembles the spectral distribution of the stationary fluorescence spectrum.

The transient absorption of the hydrogen-bonded complex ROH:TOPO develops on a broad time range. In the picosecond timescale a red shifted SE band peaking initially at about 575 nm grows and blue shifts within 5 ps, see upper panel of Figure 4. Concomitantly, an ESA band narrows, blue-shifts and rises until it reaches its maximum at 470 nm by 5 ps delay. These spectral changes also affect the apparent bleach contribution on the blue side of our spectral window, which decays and blue shifts. The spectrum shows a distinct phase in the nanosecond timescale, where sharp isosbestic points suggest a state-to-state interconversion. This later phase of the excited-state dynamics is insufficiently resolved in the femto-second transient absorption experiment.

The picosecond time-resolved fluorescence signal was measured across the fluorescence band of the ROH:TOPO complex in 10 nm steps, see Figure 5. This experiment addresses the slow dynamics just sensed in the femtosecond transient absorption discussed previously. It is important to

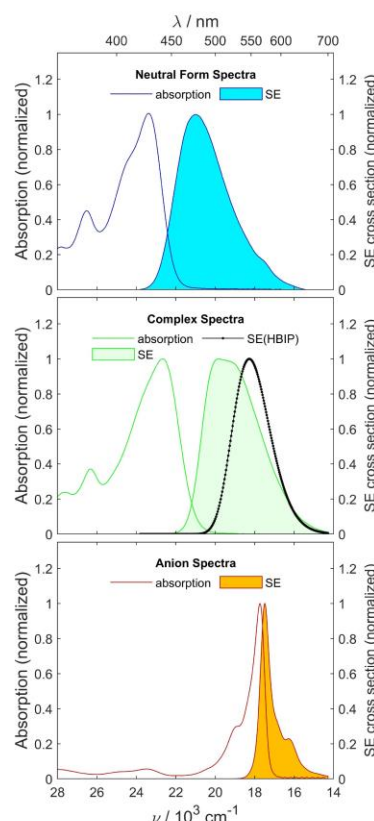


Figure 1. Stationary UV-Vis absorption and fluorescence spectra of the neutral (ROH, top panel) and deprotonated (anion RO⁻, bottom panel) forms in acetonitrile, as determined experimentally. All fluorescence spectra were transformed into cross-section for SE. Emission spectra of the hydrogen-bonded ROH:TOPO complex and the hydrogen-bonded ion pair (HBIP) are also shown in the middle panel together with the corresponding absorption spectrum of the complex. Both were derived from a solvatochromic analysis of the fluorescence emission spectrum of ROH:TOPO in solvent mixtures as shown in reference [30]. Note, excitation of the complex results in a steady-state emission spectrum with contributions of all four shown species (see Figure SI 3), since ROH concentration is estimated to be 3% in the ground state. The composition of emission spectrum depends on the solvent properties. Spectra are color-coded as indicated by the corresponding legends in each panel.

note that, at the TOPO concentration of 30 mM, about 3% of the ground-state population still remains as free ROH. For the excited state, this ratio is further modulated by the excitation wavelength and the corresponding extinction coefficients of the two species. This means that ROH emission is expected to contribute significantly at wavelengths below 480 nm. Therefore, fourteen different wavelengths between 490 and 620 nm were fitted globally, in order to avoid contamination of proton transfer dynamics in the ROH:TOPO complex by residual emission of the free ROH form. A complex spectral dependence is observed. Three-exponential functions were used. An

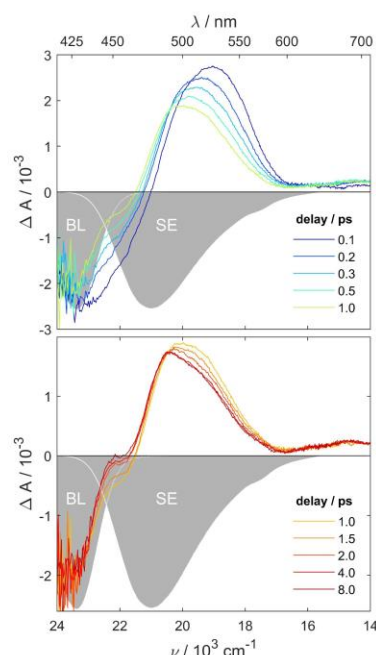


Figure 2. Transient absorption signal of the photoacid ROH measured in acetonitrile at magic angle polarization ($\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm). The upper panel shows the evolution during the first 1 ps, while the lower panel addresses the next 8 ps. The time delays are indicated by the legend. Gray-filled areas show normalized negative absorption of the photoacid (BL) and its fluorescence bandshape converted to cross-section of stimulated emission (SE), as indicated by the labels.

impulsive component following the instrument response function in time was considered too. The spectral distributions

of the three exponentials are summarized next, Figure 6. First, the impulsive component is consistent with an spectral broadening occurring at earliest time. Next, between impulsive and ns stages, an intermediate small-amplitude time constant τ_1 of 0.58(3) ns is deduced. Finally, decay components τ_{2-3} of 4.65(2) ns and 6.09(6) ns were determined. The corresponding spectral amplitudes, the DAS, are shown in Figure 6. Remarkably, τ_3 matches the decay time of the deprotonated form in pure acetonitrile: 6.15 ns.^[30] Furthermore, its associated amplitude matches the SE bandshape of RO^- , indicating that the latter is formed non-reversibly in the excited-state.

The time-resolved fluorescence signal of the ROH:TOPO complex was analyzed separately in the range between 440 and 480 nm. As stated above, residual emission of free ROH is expected here (Figures SI 3, 7 and 14). This spectral area overlaps the absorption spectrum of the complex too (see Figure 1, middle panel). Five wavelengths were fitted globally (Figures SI 5 and 6). This results in decay times τ_{1-2} of 3.3(1) and 4.56(4) ns. Remarkably, the decay times and the spectral distribution (see Figure SI 6) resemble those deduced for the ROH form in acetonitrile (Figure SI 4), suggesting that emission at wavelengths shorter than 490 nm stems mostly from the free ROH form. In support, the normalized χ^2 values obtained for the global fits increase slightly at around 490 nm, where an approximate border between the blue emitting free ROH form and the red-shifted ROH:TOPO complex emission may be traced. See section 7 of the Supporting Information for further details.

Summarizing, complexation with TOPO induces prominent spectral dynamics spanning the femtosecond to nanosecond timescale, as observed by broadband femtosecond transient absorption spectroscopy. The signature of the RO^- form is identified clearly at late times but slow dynamics could not be resolved faithfully due to insufficient time coverage in the transient absorption experiment. Complementary TCSPC measurements are not precise enough to capture ultrafast dynamics

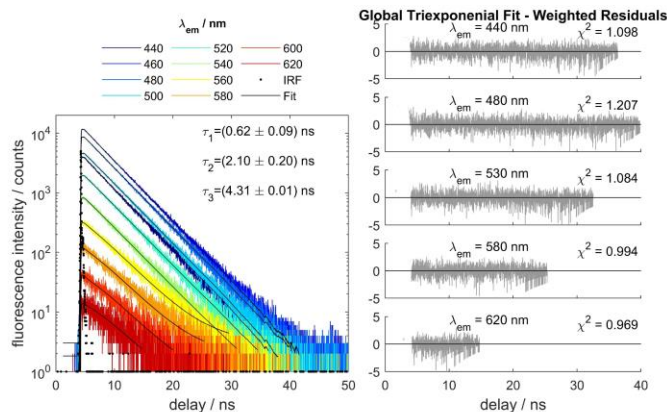


Figure 3. Exemplary TCSPC fluorescence decay traces of ROH in acetonitrile at the indicated wavelengths. The traces were globally fitted to three exponential functions (black solid lines) convoluted with the IRF (black dots). The right panels show exemplary the residual distributions for selected wavelengths with indication of the normalized χ^2 values.

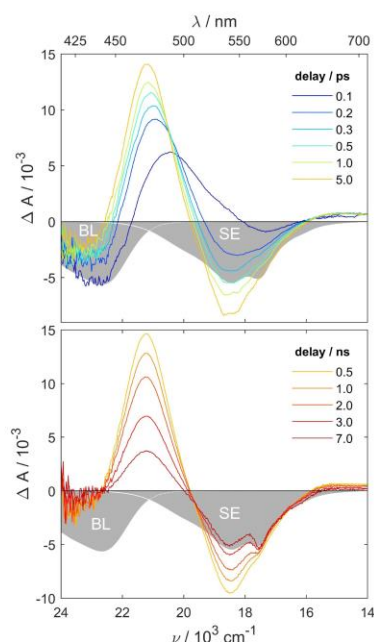


Figure 4. Femtosecond transient absorption spectra of the complex ROH:TOPO in acetonitrile ($\lambda_{\text{exc}} = 410$ nm). The upper panel shows the spectral evolution in the 5 ps time window at the delay times indicated in the legend. Later spectral changes are delayed until the ns time scale (lower panel). The gray-filled areas show normalized BL and SE bands obtained from the stationary absorption and fluorescence spectra of the ROH:TOPO complex in acetonitrile. See also Figure S13 for a spectral decomposition of the SE band.

but, in turn, expose undoubtedly slower irreversible dynamics involving the anionic species. This rules out *geminate* recombination in the excited state, the only protonation process conceivable at acid concentrations in the molar range. We discuss in the following global analysis addressing transient absorption and fluorescence time-resolved data to *model* reaction dynamics, extract *characteristic* rate constants and species-associated spectra of the molecular structures contributing to the proton-transfer reaction.

3. Discussion

Proton transfer dynamics of the ROH:TOPO complex was traced with TA measurements on the 10 ps, 1 ns and 8 ns time windows. The three datasets were analyzed globally with a three-exponential function, for which decay times are treated as global parameters and amplitudes are optimized locally. The resulting decay times τ_{1-3} are 0.82(1) ps, 31.5(2) ps and 4.93(3) ns (see Figure S18–12). A consecutive kinetic model was assumed and the Species-Associated-Difference-Spectra (SADS) were calculated analytically. The general procedure was previously described in Reference [24] and it is briefly sketched in the SI (section 1). The so-obtained SADS are shown in Figure 7 exemplary for two sets of data and in Figure S12 for all three datasets. Comparison with SE spectra extracted from steady-state fluorescence measurements, discloses the underlying reaction steps.

On a few picosecond timescale, a SE band rises around 540 nm (Figure 4, top panel). The ESA band peaking at about 475 nm at earliest time, blue shifts and rises in this time window too. This strong increase of ESA and SE signals cannot be due to a growing excited state population because it occurs much slower than the time duration of the excitation pulse (see Figure S12). Instead, spectral changes either affecting oscillator

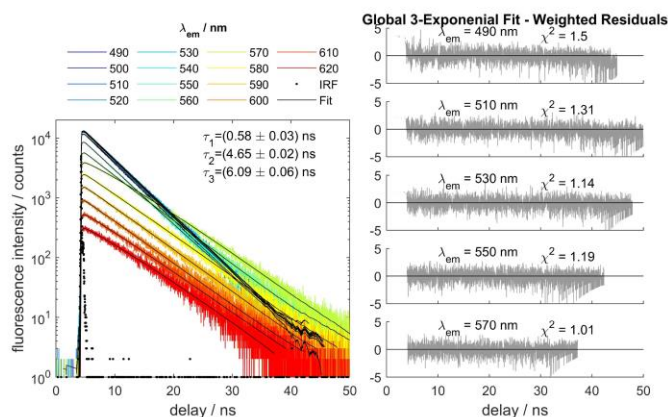


Figure 5. Time-resolved fluorescence decay of the ROH:TOPO complex measured at the indicated wavelengths in acetonitrile. The curves were fitted globally with a three-exponential function (black solid lines) convoluted with the instrument response function (IRF, black dots). The fitted decay times are shown in the inset. The panels on the right show the residuals distributions for some selected examples with indication of the normalized local χ^2 values corresponding to each wavelength.

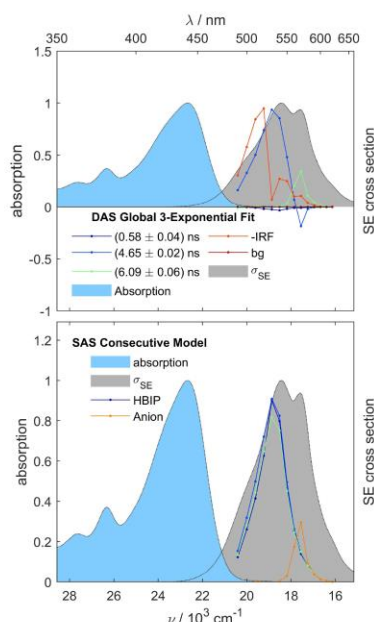


Figure 6. Spectral amplitudes of the exponential and impulsive contributions obtained in the three-exponential global fit of the time-resolved fluorescence, as indicated in the legend (top panel). Note that the impulsive contribution (IRF) was multiplied by -1 . The background amplitude (bg) is also shown for completeness. The latter contributes negligibly and shows no spectral dependence. Steady-state absorption (cyan-filled curve) and SE (gray-filled curve) bandshapes are shown in the background for comparison. The DAS have been converted to cross-section of SE for consistency. The bottom panel shows the species-associated spectra (SAS) under the assumption of a consecutive kinetic model (see SI section 1 for details). Light blue, dark blue and light green spectra are assigned to the HBIP, which thus evolves in time in the nanosecond timescale. Note that the legend only refers to the dark blue spectrum for simplicity. Stationary absorption and SE bandshapes are shown as filled curves for comparison.

strength or band overlap have to be invoked. Inspection of the SE bandshapes deduced for the complex and the HBIP suggests that the transformation of the complex into HBIP could be behind the observed behavior. Thus, decay of the complex SE (which bears negative sign and is shown as a green-filled bandshape in Figure 7) may at least qualitatively explain the rise of the ESA band and its blue shift. Concomitantly, rise of the HBIP SE band would naturally explain the increase of negative signal around 550 nm. A more quantitative analysis would demand knowledge about the spectral shape of the overlapping ESA band, which is not available. Despite, the process occurring with a time constant of 0.82(2) ps can be assigned to the intermolecular proton transfer reaction in the electronically-excited hydrogen-bonded complex. Since the spectral changes concentrate on the SE signals, while all other contributions remain essentially unaffected, proton transfer is most probably adiabatic, i.e. occurs on the same excited electronic surface.

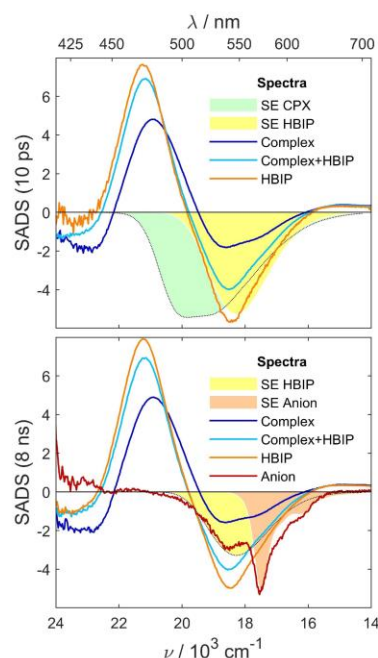


Figure 7. Species-Associated Difference Spectra (SADS) obtained from a global fit of three transient absorption datasets in the 10 ps, 1 ns (results not shown) and 8 ns timescales. The decay times were fitted as global parameters. The top frame shows the SADS for the measurements in the 10 ps timescale, scanned linearly with 20 fs steps. The bottom panel shows the SADS determined on the 8 ns timescale with logarithmic sampling of the pump-probe delay. Spectral assignment is indicated in the legend. Results for the 1 ns timescale are fully consistent with the data presented here (see Figure SI 12). Filled-spectra are SE bandshapes obtained from solvatochromic analysis of stationary fluorescence and are shown for comparison. The dotted lines trace the spectral flanks covered by overlapping spectra. See Reference [30] for further details.

Remarkably, the SE bandshapes shown in the top panel of Figure 7 were obtained by spectral decomposition and solvatochromic analysis of the stationary fluorescence spectra of the ROH:TOPO complex in an ample number of solvents.^[30] This affords polarity-dependent SE spectra of complex and HBIP. The SE bandshapes match the positions of the SE bands in the TA spectra almost perfectly, which is taken as further confirmation of the solvatochromic analysis performed in our previous publication.^[30]

The attention is now turned to the time-constant of the intermolecular proton transfer, $\tau_1 = 0.82(2)$ ps. The solvation response of acetonitrile was resolved by Ernsting and co-workers,^[33] and was addressed later on in connection with intramolecular electron transfer.^[34] These authors concluded a biphasic acetonitrile response with characteristic times of 70 fs and 0.60 ps, consistent with previous measurements.^[35] Therefore, the close resemblance of the proton transfer rate constant and the slowest solvation component (0.82(2) ps versus 0.60 ps, respectively) indicates that the proton transfer reaction may

occur under solvent control.^[21–23] Further, earliest contribution of the HBIP SE band would result from proton transfer during the ultrafast solvent relaxation component (60 fs), which remains unresolved in our experiment. In support, the spectral evolution of the transient absorption signal at delays when pump and probe pulses overlap is shown in Figure SI 13. These spectra show neither clear SE of the complex nor ESA at the leading edge of the pump pulse. Since SE must be present at earliest time after optical excitation via a dipole-allowed transition of the complex, one concludes that negative SE of the complex and positive ESA cancel out almost perfectly. As time increases, the ESA band develops and shows an earliest maximum at around 500 nm, suggesting that the underlying complex SE band decays. A red shifted SE band develops simultaneously at about 600 nm. Both bands continue to blue shift and grow as the pump pulse fades out. Thus, the spectral evolution resolved in the sub-picosecond timescale sets in at even faster timescales and is compatible with solvent controlled PT during the ultrafast component of solvent relaxation. While ultrafast stages of the process could not be time-resolved, observation of HBIP fluorescence at earliest time suggests that part of the ESPT reaction takes place on timescales compatible with the inertial part of the solvent relaxation function. Summarizing, intermolecular adiabatic proton transfer is demonstrated for the hydrogen-bonded ROH:TOPO complex and is consistent with ESPT occurring under solvent control.

Succeeding dynamics implies a further increase (10–20%) of the ESA and SE features of the transient spectrum. This occurs with a time constant τ_2 of 31.5(2) ps. The spectral evolution appears to be a continuation of the ultrafast stages analyzed above and is understood as an additional, slower transfer of population towards the HBIP configuration. It is however unclear at this stage which coordinate may explain this slower dynamics. Vibrational cooling is expected to occur after the PT reaction but the 31.5(2) ps time constant seems to be long for vibrational cooling.^[36–38] Troe and co-workers reported a similarly high 20 ps cooling time constant for internal conversion of azulene in the halogenated solvent 1,1,2-trichloro-trifluoro-ethane,^[39] suggesting that the halogenated alkyl side chains of ROH and TOPO decelerate to some extent energy transfer to the solvent. Alternatively, this time constant could result from reorientation of the hydrogen bond in complexes with unfavorable donor-acceptor (i.e. acid-base) geometries. However, it is conceivable that various unresolved processes hide behind this later small-amplitude stage for which a phenomenological time constant of 31.5(2) ps is deduced. Once this stage is completed, after ca. 50 ps delay, the spectrum stays practically constant until the nanosecond timescale, where signal decays and additional spectral changes are observed.

The global analysis on the 8 ns timescale reveals the increase of the characteristic SE of the anion with a time constant τ_3 of 4.93(3) ns. In this experiment, which scans delay times up to 8 ns, the contribution of the anion is obtained in a mixture with the HBIP, see lower panel of Figure 7. The later spectrum is resolved as a non-decaying component as the

result of insufficient time coverage. To address this later stage of the process, picosecond-resolved fluorescence measurements were analyzed globally (see Figures 5 and 6). Remarkably, the fit shows main contributions for decay times of 4.65(2) and 6.09(6) ns. Two important observations are here underlined. First, the 4.65(2) ns component matches τ_3 , the longest component detected in the TA experiment, while $\tau_4 = 6.09(6)$ ns mirrors the fluorescence decay time of the anionic form.^[30] Second, the spectral amplitude associated to $\tau_4 = 6.09(6)$ ns in the time-resolved fluorescence matches the fluorescence spectrum of the anionic form too. Both observations confirm deprotonation of ROH in the ROH:TOPO complex, i.e. formation of the SSIP or FSIP in a process where no indication of geminate recombination could be found for the deprotonated form in the excited state.

We summarize the most important elements of the mechanism deduced up to now. Analysis of TA has demonstrated that, first, formation of the HBIP occurs in several stages extending from the femtosecond to 50 ps time window. During this full timescale no SE of the complex could be clearly detected because of the spectral overlap with the strong ESA band peaking at 470 nm at later times. Thus, it remains unclear whether complex SE disappeared completely in the 50 ps time window or some rest of it could still be hidden behind the strong ESA, as the shoulder of the SE spectrum at 475 nm suggests (Figure 6). Second, formation of the anion occurs in the nanosecond timescale with a time constant τ_3 of 4.93(3) ns. The decay of the anion population remains unresolved in the TA experiment, but time-resolved fluorescence indicates that it is formed with a time constant of 4.65(2) ns and decays with a time constant τ_4 of 6.09(6) ns. Formation and decay of RO^- are irreversible.

The analysis of the time-resolved fluorescence spectra is performed by spectral decomposition with the SAS deduced for the ROH, complex, HBIP and RO^- forms in reference [30]. Alternatively, a multiexponential fit might be used. Under the assumption of a consecutive kinetic model, the DAS would be converted into SAS (Figure 6). However, this latter method becomes unreliable in this case. It is affected by overlapping signals of the free ROH and the dissociating complex, which show comparable decay times and are thus very difficult to disentangle. This can be overcome by a time-dependent decomposition of the fluorescence spectra, from which time-dependent concentrations of all species are obtained, as it is discussed next (Figure 8). For this purpose, reconstructed fluorescence spectra were converted into SE cross-section and fitted at each delay time to a linear combination of the SE spectra of ROH, complex, HBIP and anion. The fits are excellent and answer the questions still open from the femtosecond TA analysis: a) unbound fluorescence of the ROH form is dominant below 480 nm and detectable up to at least 550 nm; b) fluorescence of the complex is non negligible in the nanosecond timescale and finally, c) complex and HBIP appear to be in constant ratio (Figure 9).

Time-dependent contributions to the TRES spectra were fitted to biexponential functions. Results are shown in Figure 9. The leading edge of the pump pulse is ignored

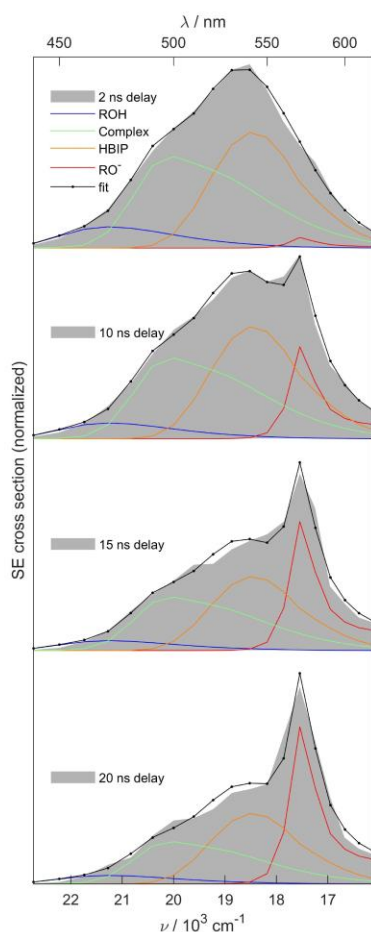


Figure 8. Spectral decomposition of the time-resolved fluorescence spectra, converted to SE cross section, as a linear combination of the basis spectra of the ROH, Complex, HBIP and RO^- forms. Delay times and contributions of the corresponding species are indicated in the legend.

since the fits are affected by the weak amplitude of the signal, the wavelength-dependent time-shift of the instrument response function and the use of SAS determined from stationary spectroscopy,^[30] which may not be adequate for early times. The contribution of the anionic form evolves biexponentially with decay times of 4(2) ns and 7(4) ns. Note the much higher error in the decay time constants when fitting the contributions to the TRES data. Importantly, both exponential amplitudes are equal and bear opposite signs, confirming that the anion builds up in the excited state in an irreversible manner. The small negative dip at early times is seen as an artifact, due to minor shortcomings of the SAS for this timescale. HBIP evolves essentially monoexponentially with a time constant of 5(2) ns coincidental with the build-up time of the anionic form and thus demonstrating that the

HBIP is the precursor of the anion. The ROH form evolves biexponentially too and the decay times of 3(2) ns and 4(2) ns. The latter and their associated amplitudes are somewhat coincidental with those deduced for ROH in pure acetonitrile (see Figure 3 and Figures SI 4 and 7), strongly suggesting that the dynamics of the ROH form is not affected by the presence of free TOPO, *i.e.* free ROH form contributes to the TRES data of the complex. Last, the complex contribution shows a biexponential evolution with decay times of 3(3) ns and 5(2) ns. The decay times are coincidental with those obtained for the ROH form, which can be taken as an indication of a reversible process connecting ROH and the complex. This is improbable: first, as already pointed out, the ROH form follows the same dynamics as already found in pure acetonitrile; second, if the complex would evolve biexponentially, much more involved dynamics should be observed for the PT reaction products HBIP and anion, contrary to observation. Therefore, we conclude that: a) complexation of free ROH in the excited-state lifetime can be excluded and b) the biexponential behavior suggested by the fit of the complex contribution in Figure 9 is an artifact resulting from the entanglement of complex and ROH form contributions, which overlap strongly spectrally and in time. Remarkably, the contributions of complex and HBIP are found to be in constant ratio already at the trailing edge of the 100 ps excitation pulse, indicating that an equilibrium between complex and HBIP is established. Assuming that the cross-sections for SE of complex and HBIP are approximately the same, an excited-state equilibrium constant $K_{PT} = \frac{[\text{HBIP}]}{[\text{CPX}]} \approx 1.2$ is estimated.

One last point to discuss is the fate of the anionic RO^- form and whether it is observed as SSIP or FSIP. The question can be answered semiquantitatively by analysis of TA data in the late nanosecond timescale. See Figure 10, where TA spectra averaged over 1 ns are shown. The transient spectrum at 100 ns delay shows the contribution of the ground-state anionic form, which remains long-living after deprotonation in the excited electronic state. It is expected that any RO^- in the form of SSIP immediately reprotonates in the ground state (on this timescale), so that long-living transient concentration of the ground state RO^- form is assigned to the FSIP. Consequently, the transient absorption at 100 ns delay would actually correspond to FSIP and is proportional to $\epsilon_{\text{RO}^-} \cdot [\text{RO}^-] \cdot \Phi_{\text{FSIP}}$. Here, ϵ_{RO^-} is the molar absorption coefficient of RO^- , $[\text{RO}^-]$ is the molar concentration of RO^- reaching the ground state as result of the ESPT reaction, either as SSIP or FSIP, and Φ_{FSIP} is the quantum yield for the formation of the FSIP. Similarly, the transient absorption at 1 ns delay is assigned to the equilibrium distribution of CPX and HBIP forms in the excited state. Note that this delay is essentially prior to the ESPT reaction. Semiquantitatively, one may assume that the oscillator strength of $S_1 \rightarrow S_0$ SE is the same as that for $S_1 \leftarrow S_0$ absorption, for CPX and HBIP. Thus, the SE signal at 1 ns delay (Figure 10) is proportional to $\epsilon_{\text{CPX}} \cdot ([\text{CPX}^*] + [\text{HBIP}^*])$. Note that ϵ_{CPX} corresponds to the ground-state absorption but it is assumed to be the same as that for SE in the S_1 state. Next, from the analysis of the linear

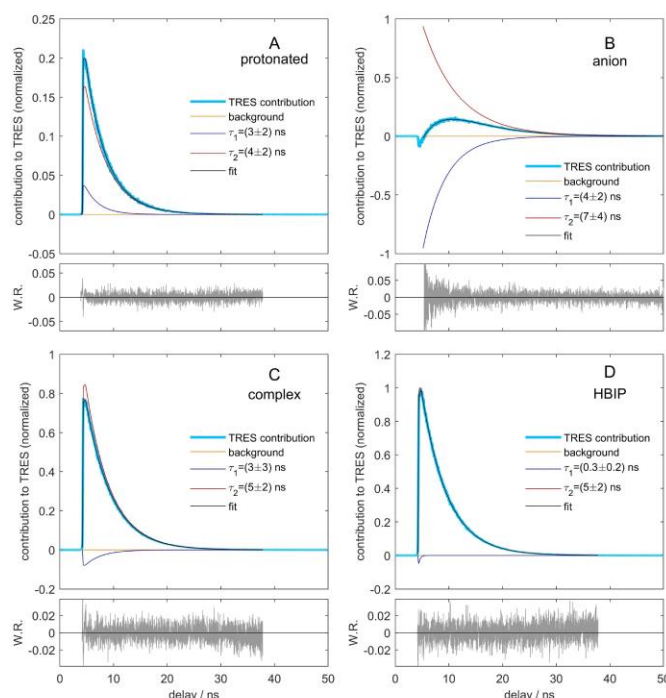


Figure 9. Biexponential fit of the contributions obtained by spectral decomposition of the time-resolved fluorescence spectra, as shown in Figure 8. The upper A–D panels show the contributions of each spectral species to the TRES data, the fits (black solid line) and the contributions of the exponentials and the background, as indicated in the legend. The distribution of weighted residuals is displayed underneath each one of the panels A–D. Spectral contributions were normalized by the maximum contribution of HBIP, which is the species contributing most to the time-resolved fluorescence spectra.

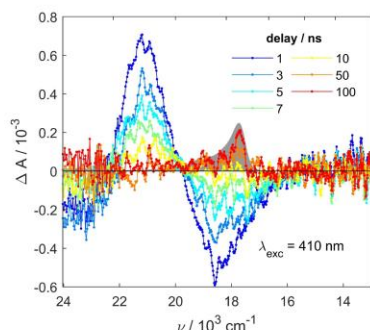


Figure 10. Transient absorption of complex in acetonitrile measured in the nanosecond timescale. Delay times are indicated in the legend. The stationary absorption spectrum of the deprotonated form is shown as a gray-filled curve. The excitation wavelength was tuned to 410 nm.

absorption spectra of the anion and the complex in the lowest energy absorption band, a ratio of maximal molar absorption coefficients of $\frac{\epsilon_{\text{ROH}}^{\text{max}}}{\epsilon_{\text{CPIX}}^{\text{max}}} = \frac{67\,240\,\text{dm}^3\,\text{mol}^{-1}\,\text{cm}^{-1}}{20\,530\,\text{dm}^3\,\text{mol}^{-1}\,\text{cm}^{-1}} \approx 3.3$ is deduced. Therefore, the ratio between the transient absorption

at 564 nm and 100 ns delay and the SE signal at 540 nm and

1 ns delay reads $-\frac{\epsilon_{\text{ROH}}^{\text{max}}[\text{RO}^-] \cdot \Phi_{\text{FSIP}}}{\epsilon_{\text{CPIX}}^{\text{max}}([\text{CPIX}^*] + [\text{HBIP}^*])}$. This quantity is approximately 0.2 ± 0.1 (see Figure 10). Therefore, since the photodissociation quantum yield is found to be $\Phi_{\text{diss}} = \frac{[\text{RO}^-]}{[\text{CPIX}^*] + [\text{HBIP}^*]} = 0.3 \pm 0.6$ (see Supporting Information, section 2), the TA ratio becomes

$$\frac{0.2 \pm 0.1}{0.5 \pm 0.1} = \frac{\epsilon_{\text{ROH}}^{\text{max}}}{\epsilon_{\text{CPIX}}^{\text{max}}} \cdot \frac{[\text{RO}^-]}{[\text{CPIX}^*] + [\text{HBIP}^*]} \cdot \Phi_{\text{FSIP}} \approx 3.3 \cdot (0.3 \pm 0.6) \cdot \Phi_{\text{FSIP}}$$

This leads to an estimated quantum yield for the formation of the excited-state FSIP of (0.4 ± 0.9) . While this estimate is affected by large errors, the recapture of the proton by the left negative charge is consistent with previous findings in anti-bunching experiments in dimethylsulfoxide,^[18] suggesting that solvent properties may not only affect the photodissociation rate, the composition of the ensuing complex/HBIP equilibrium but also the amount of free conjugated base formed too.

Once the behavior of the complex has been discussed, the time-resolved spectroscopy of the photoacid ROH in pure acetonitrile is briefly considered (Figures 2 and 3). The transient spectra evolve during the timescale of solvent relaxation, 1 ps. This evolution mirrors the one discussed for the ROH:TOPO complex: a SE band assigned to a ROH:

acetonitrile hydrogen-bonded complex develops at about 600 nm and the prominent ESA band first decays and then blue shifts in the 8 ps timescale. The spectrum remains essentially constant afterwards. In light of the discussion above, formation of the HBIP is deduced. The amplitude of the HBIP SE band is however much smaller than in the ROH:TOPO case and no indication of anion formation could be found. Therefore, proton transfer continues to occur under solvent control in pure acetonitrile but the complex/HBIP equilibrium is strongly shifted towards the complex side as consequence of the lower proton affinity of acetonitrile as complexation partner as compared to TOPO. This also prevents anion formation. Despite all efforts to reduce water content in acetonitrile, it remains open whether formation of HBIP in "pure" acetonitrile occurs via water traces in the solvent.

4. Conclusions

The photoinduced intermolecular proton transfer reaction in the photoacid-TOPO complex depicted in Scheme 2 was studied with the help of broadband femtosecond transient absorption and picosecond-resolved fluorescence at single wavelengths in acetonitrile. Results are interpreted with the help of global analysis and stimulated emission bandshapes isolated from stationary fluorescence spectra in a series of solvents.^[30] The following picture emerges (Scheme 3): Photoexcitation of the complex triggers the proton transfer reaction, which occurs under solvent control in the sub-picosecond timescale. A quasi-equilibrium between the complex and the HBIP is established with an estimated constant K_{PT} of 1.2. This leads to the formation of the deprotonated form with a characteristic time constant of 4.65(2) ns. The latter is however the time constant accounting for the decay of the equilibrium populations of complex and HBIP. Under consideration of the equilibrium constant and the estimated decay times of both species, a microscopic time constant of about 13 ns for the dissociation of HBIP and the formation of RO^- is expected. The corresponding quantum yield is in the order of 30%. Finally, analysis of the long-living population of the anion form in the ground state suggests that about 40% of the anion molecules evolve towards the FSIP in the excited state. The majority of ion pairs seems to recombine.

This work discussed a set of experimental and analytical tools to address solvent effects on the dynamics of intermolecular proton transfer. The various stages of the intermolecular

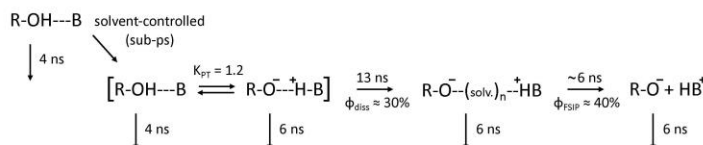
proton transfer reaction analyzed here extend from the femto-second to the nanosecond timescale. Data interpretation is strongly hindered by the presence of free ROH form on the one hand, and by the spectral overlap of strong ESA and SE of the complex, on the other. Both factors prevent a complete elucidation of the ROH:TOPO decay dynamics and quantification of the complex/HBIP equilibrium populations. This also affects quantification of the quantum yield for the formation of the SSIP and thus the assessment of the quantum yield for the formation of the FSIP. Therefore, further experiments should aim to a better photoselection of the complex and higher spectro-temporal resolution with precise broadband fluorescence as the method of choice. In spite of those limitations, the equilibrium between the complex and HBIP is demonstrated. The latter is established within a few picoseconds and decays in the nanosecond timescale. This opens a broad time window to address the molecular structure of both intermediates with the help of vibrational spectroscopy, in particular, to understand whether proton's wavefunction shows bound or delocalized character.

To close, this work highlights the various levels at which solvent properties affect intermolecular proton transfer. They control the rate at which intrinsic proton transfer of strong photoacids takes place. They also influence the equilibrium populations of the complex and the HBIP, the dissociation of the HBIP to generate the SSIP and the escape probability of the conjugated acid to form the FSIP. All these effects condition the overall quantum yield of the proton transfer reaction.

Experimental Section

Sample Preparation. The photoacid tris-(2',2',2'-trifluoroethyl)-8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate (ROH) was prepared starting from 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate (HPTS) as described in Reference [31]. Acetonitrile (Acros Organics, 99.9% extra-dry, water content $\leq 0.001\%$), trifluoroacetic acid (TFA, Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$ anhydrous, water content $\leq 0.05\%$) and tri-*n*-octylphosphine oxide (TOPO, Acros Organics, 99%) were used as received. Further purification of acetonitrile or handling under inert gas atmosphere showed no difference in the absorption and fluorescence spectra. The water content in the solutions here investigated is estimated to be at most 0.6 μM as deduced from the detection limit of the used Karl-Fischer titration.

For the steady-state spectra, solutions with 3 μM of photoacid ROH in extra-dry acetonitrile were prepared. Additionally, 30 mM TOPO were added for the complex solutions to ensure a complexation of the photoacid $\geq 97\%$.^[30] To compensate for water impurities and to shift the ground state equilibrium of the photoacid to the ROH form, 300 μM TFA were added to the



Scheme 3. Mechanism proposed for the photodissociation reaction of the ROH:TOPO complex in acetonitrile. Estimated time constants, excited-state equilibrium constant and quantum yields are indicated.

extra-dry acetonitrile. As shown before, trifluoroacetate does not serve as an ligand in polar solvents.^[30] The solutions for the time-resolved fluorescence spectra and transient absorption measurements were prepared analogous but with a dye concentration of 18 μM and 300 μM , respectively. Optical spectra of the deprotonated form RO^- were determined in a ROH solution of non-dried acetonitrile (Fisher-Scientific, 99.9%).

Stationary Optical Spectroscopy. UV-Vis absorption spectra were measured with a Jasco V 650 spectrometer. A Jasco FP 6500 spectrofluorometer was used to obtain the fluorescence spectra. The latter were corrected for experimental factors with the function supplied by the manufacturer. The correction function was specifically tailored to our fluorometer.

Time-resolved fluorescence. Time-resolved fluorescence measurements were performed by the time-correlated single-photon counting (TCSPC) technique in an Edinburgh Instruments LifeSpec II system with 375 nm excitation (EPL-375), right angle geometry and at magic-angle polarization. Emitted fluorescence is spectrally selected with a double subtractive spectrometer and detected with a MCP-PMT. The instrument response function (FWHM) is about 100 ps broad, from which a time-resolution of 10 to 20 ps is estimated after deconvolution. 1 cm-thick quartz cuvettes (Starna) were used.

Femtosecond Broadband Transient Absorption Spectroscopy. Transient absorption measurements were performed in a 2 mm-thick quartz cells (Starna) and under continuous stirring. Optical excitation was performed with a tunable ≈ 100 fs laser pulse delivered by a commercial parametric amplifier (TOPAS Prime, Light Conversion), which was pumped with the fundamental of a Ti:Sa amplified laser system (Coherent Astrella F-5K). Transient absorption was measured with the Helios spectrograph (Ultrafast Systems) for parallel, perpendicular and magic angle pump-probe polarizations. The information was used to double-check complexation of ROH and TOPO: the rotational diffusion time obtained in anisotropy measurements increases from 62 ps in ROH to 121 ps in ROH:TOPO, indicating a larger hydrodynamic volume for the complex (Figure SI 15).^[30] For the nanosecond to microsecond timescale, the EOS Spectrograph (Ultrafast Systems) was used. We provide here only a brief account of the main experimental parameters. A thorough description is given in Reference [40]. The excitation pulse was tuned to 410 nm for the photoacid and the complex. Typically, 100 nJ to 250 nJ pump energies were employed with pump spot sizes on the order of 250 μm from which fluences on the range of $2 \times 10^{-4} \text{ J cm}^{-2}$ result. A white-light continuum was generated on a sapphire substrate and used as probe. Data registration is performed at 4 kHz repetition rate with independent signal and reference spectrographs. Pump-probe time delays were varied with a high-speed computer-controlled linear translation stage (Thorlabs DDS300) combined with reflective optics for path multiplication. The average pump-probe cross-correlation amounts to 100 fs in this experiment. Spectra were corrected for the chirp of the white-light continuum.

Acknowledgments

The authors thank Prof. Dr. Karsten Heyne (Institut für Experimentelle Physik, Freie Universität Berlin, Germany), Prof. Dr. Marcus Motzkus (deceased on January 5, 2020) and Dr. Tiago Backup (both at Physikalisch-Chemisches Institut, Universität Heidelberg, Germany) for support at the various stages of the project. This work was financed via the project JU650/8-1 and the Collaborative Research Center SFB 1078 (Project B7) of the

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). We thank Viktoria Kiefer (Universität des Saarlandes, Germany) and Prof. Dr. Manuel Mosquera (Universidade de Santiago de Compostela, Spain) for a critical reading of the manuscript. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Keywords: Eigen-Weller model • excited states • proton transfer • solvent relaxation • transient absorption spectroscopy

- [1] K. Weber, *Z. Phys. Chem.* **1931**, *15*, 18–44.
- [2] T. Förster, *Z. Elektrochem.* **1950**, *54*, 42–46.
- [3] M. Eigen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1964**, *3*(1), 1–19.
- [4] A. Weller, *Z. Elektrochem.* **1952**, *56*, 662–668.
- [5] A. Weller, *Z. Elektrochem.* **1954**, *58*, 849–853.
- [6] A. Weller, *Z. Phys. Chem. (München Ger.)* **1958**, *17*, 224–245.
- [7] A. Weller, *Progress in Reaction Kinetics*, Pergamon Press, London, **1961**.
- [8] M. Rini, B.-Z. Magnes, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Science* **2003**, *301*, 349–352.
- [9] M. Rini, D. Pines, B.-Z. Magnes, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*(19), 9593–9610.
- [10] O. F. Mohammed, D. Pines, J. Dreyer, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Science* **2005**, *310*(5745), 83–86.
- [11] D. B. Spry, A. Goun, M. D. Fayer, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*(2), 230–237.
- [12] W. Liu, F. Han, C. Smith, C. Fang, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*(35), 10535–10550.
- [13] F. Han, W. Liu, C. Fang, *Chem. Phys.* **2013**, *422*, 204–219.
- [14] P. Verma, A. Rosspeintner, B. Dereka, E. Vauthey, T. Kumpulainen, *Chem. Sci.* **2020**, *11*(30), 7963–7971.
- [15] E. Pines, D. Huppert, N. Agmon, *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*(9), 5620–5630.
- [16] R. Gepshtein, P. Leiderman, L. Genosar, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*(42), 9674–9684.
- [17] P. Leiderman, L. Genosar, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*(27), 5965–5977.
- [18] M. Vester, A. Grueter, B. Finkler, R. Becker, G. Jung, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 10281–10288.
- [19] T. Kumpulainen, B. H. Bakker, A. M. Brouwer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*(32), 20715–20724.
- [20] T. Kumpulainen, A. M. Brouwer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*(37), 13019–13026.
- [21] J. L. Pérez-Lustres, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, T. A. Senyushkina, N. P. Ernsting, S. A. Kovalenko, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*(17), 5408–5418.
- [22] M. Veiga-Gutiérrez, A. Brenlla, C. C. Blanco, B. Fernandez, S. A. Kovalenko, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, J. L. Pérez-Lustres, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*(45), 14065–14078.
- [23] T. Kumpulainen, A. Rosspeintner, B. Dereka, E. Vauthey, *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 4516–4521.
- [24] A. Brenlla, M. Veiga Gutiérrez, M. C. Ríos Rodríguez, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, J. L. Pérez Lustres, *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*(6), 989–994.
- [25] Z. Qu, P. Li, X. Zhang, E. Wang, Y. Wang, P. Zhou, *J. Lumin.* **2016**, *177*, 197–203.
- [26] J. C. Penedo, M. Mosquera, F. Rodríguez-Prieto, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*(32), 7429–7441.
- [27] L. Biczók, P. Valat, V. Wintgens, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, *2*(3), 230–235.
- [28] Y. M. Lee, S.-Y. Park, H. Kim, T. G. Kim, O.-H. Kwon, *Methods Appl. Fluoresc.* **2016**, *4*(2), 24004.
- [29] P. Verma, A. Rosspeintner, T. Kumpulainen, *RSC Adv.* **2020**, *10*, 23682–23689.
- [30] A. Grandjean, J. L. Pérez Lustres, S. Muth, D. Maus, G. Jung, *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, *12*(6), 1683–1689.
- [31] B. Finkler, C. Spies, M. Vester, F. Walte, K. Omlor, I. Riemann, M. Zimmer, F. Stracke, M. Gerhards, G. Jung, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*(3), 548–562.

- [32] J. B. Birks, *Photophysics of aromatic molecules* / John B. Birks. Wiley monographs in chemical physics. Wiley, London, 1970.
- [33] J. Ruthmann, S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, D. Ouw, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*(13), 5466–5468.
- [34] S. A. Kovalenko, J. L. Pérez Lustres, N. P. Ernsting, W. Rettig, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*(48), 10228–10232.
- [35] M. L. Horng, J. A. Gardecki, A. Papazyan, M. Maroncelli, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*(48), 17311–17337.
- [36] S. A. Kovalenko, R. Schanz, V. M. Farztdinov, H. Hennig, N. P. Ernsting, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *323*(3–4), 312–322.
- [37] V. M. Farztdinov, R. Schanz, S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*(49), 11486–11496.
- [38] P. Hamm, S. M. Ohline, W. Zinth, *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*(2), 519–529.
- [39] D. Schwarzer, C. Hanisch, P. Kutne, J. Troe, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*(35), 8019–8028.
- [40] N. Alagna, J. L. P. Lustres, N. Wollscheid, Q. Q. Luo, J. Han, A. Dreuw, F. L. Geyer, V. Brosius, U. H. F. Bunz, T. Buckup, M. Motzkus, *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*(50), 10780–10793.

Manuscript received: August 20, 2021
Revised manuscript received: September 28, 2021
Accepted manuscript online: September 29, 2021
Version of record online: November 8, 2021

ChemPhotoChem

Supporting Information

Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns

Alexander Grandjean, J. Luis Pérez Lustres,* and Gregor Jung*

Contents

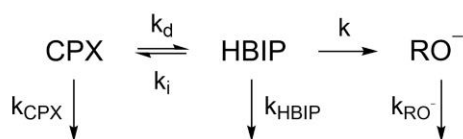
1	Relationship between Species Associated Spectra (SAS) and Decay Associated Spectra (DAS)	3
2	Degree of Dissociation	3
3	Time-Dependence of the Transient Absorption Band Integral	7
4	Spectral Decomposition of the Stationary Fluorescence Spectrum of the Complex	8
5	Global Fit of the Time-Resolved Fluorescence of ROH in Acetonitrile	9
6	Global Fit of the Time-Resolved Fluorescence of the Complex in Acetonitrile	10
7	Comparison of TRES Contributions of the Complex and ROH Fluorescence Decay	12
8	Global Fit of the Transient Absorption of the Complex in Acetonitrile	13
9	Earliest Transient Absorption of the Complex in Acetonitrile	18
10	Excitation-Wavelength Dependence of Complex Fluorescence in Acetonitrile	19
11	Time-Resolved Fluorescence Anisotropy of ROH and Complex in Acetonitrile	20

1 Relationship between Species Associated Spectra (SAS) and Decay Associated Spectra (DAS)

A set of time-resolved optical spectra measured at n_λ wavelengths and n_t delay times can be expressed in matrix form as ${}_{(n_\lambda \times n_t)}^{\mathbf{Y}}$, where the spectra measured at each one of the n_t delay times are arranged in columns of length n_λ . ${}_{(n_\lambda \times n_t)}^{\mathbf{Y}}$ is fitted with n exponential functions, so that model time-resolved spectra ${}_{(n_\lambda \times n_t)}^{\hat{\mathbf{Y}}}$ are obtained. The latter are thus equal to ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{DAS}} \cdot {}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{E}}$, where ${}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{E}}$ is a matrix containing the n exponential functions of the fit at all times t . Consequently, ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{DAS}}$ is a matrix containing, in columns, the amplitudes of each of the n exponential functions at all wavelengths λ . The latter are the Decay-Associated Spectra (DAS). In a similar manner, model time-resolved spectra can be obtained as ${}_{(n_\lambda \times n_t)}^{\hat{\mathbf{Y}}} = {}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{SAS}} \cdot {}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{C}}$, where ${}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{C}}$ contains the time-dependent concentrations of the n molecular species/states involved in the mechanism and whose associated spectra are arranged in columns and collected in the matrix ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{SAS}}$. These are the so-called Species-Associated Spectra. Under assumption of a kinetic mechanism the matrix ${}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{C}}$ can be expressed as ${}_{(n \times n)}^K \cdot {}_{(n \times n_t)}^{\mathbf{E}}$, where the matrix ${}_{(n \times n)}^K$ can be normally calculated analytically for a given kinetic model. It is straightforward to show that the matrices ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{DAS}}$ (obtained in the fitting procedure) and ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{SAS}}$ are related to each other by ${}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{SAS}} = {}_{(n_\lambda \times n)}^{\mathbf{DAS}} \cdot {}_{(n \times n)}^{K^{-1}}$. The matrix K^{-1} converting the fitted Decay-Associated Spectra into the Species-Associated Spectra is given by the kinetic mechanism assumed.

For completeness, it is customary to use the forms **DADS** and **SADS** in the description of transient absorption measurements. This highlights that those spectra are obtained as difference: DADS stays for Decay-Associated Difference Spectrum and SADS for Species-Associated Difference Spectrum.

2 Degree of Dissociation



Scheme SI 1: Kinetic model for approximated degree of dissociation.

In the following, the microscopic rate constant for excited-state RO^- formation (k) and the associated degree of dissociation Φ_{diss} are estimated. It is assumed that the excited-state equilibrium between complex and HBIP is rapidly established. This means that the microscopic rate constants for the complex-to-HBIP

interconversion are much larger than their deactivation and dissociation time constants, i.e. $k_d, k_i \gg k_{\text{CPX}}, k_{\text{HBIP}}, k$ (Scheme SI 1). The equilibrium concentrations of complex and HBIP are abbreviated as C and I , respectively, and the total concentration of both species is $T = I + C$. The complexation equilibrium constant K_{PT} at earliest time is given by:

$$K_{PT} = \frac{k_d}{k_i} = \frac{I_0}{C_0} = \frac{I_0}{(T_0 - I_0)} \quad (\text{SI-1})$$

Where C_0 is equal to $T_0 - I_0$. T_0 is the total concentration once the equilibrium is established on an approximate timescale of 50 ps. While the concentrations are going to decrease in the course of time as consequence of deactivation and HBIP dissociation, the ratio between the concentrations of complex and HBIP remains constant because of the equilibrium condition. Therefore, at any time t , the concentration ratio between $C(t)$, $I(t)$ and $T(t)$ remains the same. This is supported by the spectral decomposition of the time-resolved fluorescence data. Equation SI-1 can be transposed to equations SI-2 and SI-3, which provide the equilibrium concentrations of complex and HBIP at any time t .

$$I(t) = \frac{K_{PT} \cdot T(t)}{1 + K_{PT}} \quad (\text{SI-2})$$

$$C(t) = T(t) - I(t) = \frac{T(t)}{1 + K_{PT}} \quad (\text{SI-3})$$

The reaction rate equation for the equilibrium populations is thus:

$$\frac{dT(t)}{dt} = \frac{dC(t)}{dt} + \frac{dI(t)}{dt} = -k_{\text{CPX}} \cdot C(t) - k_{\text{HBIP}} \cdot I(t) - k \cdot I(t) \quad (\text{SI-4})$$

Note that the terms $k_d \cdot C(t)$ and $k_i \cdot I(t)$ cancel at any time t each other out. Substitution with equations SI-2 and SI-3 leads to:

$$\frac{dT(t)}{dt} = -k_{\text{CPX}} \cdot \frac{T(t)}{1 + K_{PT}} - k_{\text{HBIP}} \cdot \frac{K_{PT} \cdot T(t)}{1 + K_{PT}} - k \cdot \frac{K_{PT} \cdot T(t)}{1 + K_{PT}} \quad (\text{SI-5})$$

$$\frac{dT(t)}{dt} = -\frac{T(t)}{1 + K_{PT}} \cdot (k_{\text{CPX}} + (k_{\text{HBIP}} + k) \cdot K_{PT}) \quad (\text{SI-6})$$

Which results in equation SI-7 after integration:

$$T(t) = T_0 \cdot e^{-k_{obs} \cdot t} \quad (\text{SI-7})$$

with

$$k_{obs}^{-1} = \frac{1 + K_{PT}}{k_{CPX} + (k_{HBIP} + k) \cdot K_{PT}} \quad (\text{SI-8})$$

Thus, once the equilibrium is rapidly established, the RO^- form builds up exponentially with a characteristic rate constant k_{obs} . The latter is measured experimentally, $k_{obs} \approx \frac{1}{(4.0 \pm 0.5)} \text{ ns}^{-1}$, and can be further used to estimate the microscopic rate constant for dissociation k . For this purpose, the equilibrium constant $K_{PT} \approx 1.2 \pm 0.2$ is obtained from the analysis of the time-resolved SE spectra under the assumption that the transition dipole moments of complex and HBIP are the same, i.e. that the areas of the SE cross-sections mirror their relative concentrations in equilibrium. The unknown deactivation constants k_{CPX} and k_{HBIP} are assumed to be approximately equal to the deactivation constants of ROH and RO^- : $\frac{1}{4 \text{ ns}}$ and $\frac{1}{6 \text{ ns}}$, respectively. Their errors are expected to be $(\pm 0.5 \text{ ns})^{-1}$. With these values, one can obtain an estimate for k and Φ_{diss} . Errors are calculated by the Gaussian error propagation method (equations SI-9 and SI-10).

$$k = (0.08 \pm 0.06) \text{ ns}^{-1} \implies \tau_{diss} = (13 \pm 9) \text{ ns} \quad (\text{SI-9})$$

$$\Phi_{diss} = \frac{k}{k_{obs}} \approx \frac{\frac{1}{(13 \pm 9) \text{ ns}}}{\frac{1}{(4.0 \pm 0.5) \text{ ns}}} \approx (30 \pm 60)\% \quad (\text{SI-10})$$

For completeness, the time-dependent concentrations after complex-HBIP equilibrium has been reached are collected in equations SI-11 to SI-14 and represented in Figure SI 1:

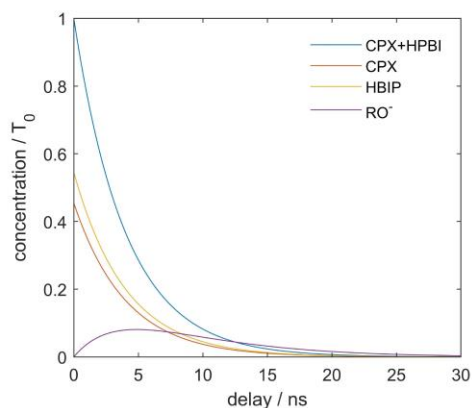


Figure SI 1: Time-dependent concentrations calculated for the kinetic model in Scheme SI 1 under the assumption of equilibrium for the complex-to-HBIP conversion. The rate constants employed are: $k_{obs} = 1/4 \text{ ns}^{-1}$, $k_{RO^-} = 1/6 \text{ ns}^{-1}$, $k_{CPX} = 1/4 \text{ ns}^{-1}$, $k_{HBIP} = 1/6 \text{ ns}^{-1}$ and the equilibrium constant $K_{PT} = 1.2$.

$$T(t) = T_0 \cdot e^{-k_{obs} t} \quad (\text{SI-11})$$

$$C(t) = \frac{T_0}{1 + K_{PT}} \cdot e^{-k_{obs} t} \quad (\text{SI-12})$$

$$I(t) = \frac{K_{PT} T_0}{1 + K_{PT}} \cdot e^{-k_{obs} t} \quad (\text{SI-13})$$

$$A(t) = -\frac{k \cdot K_{PT} \cdot T_0}{(k_{obs} - k_{RO^-})(1 + K_{PT})} \cdot \{e^{-k_{obs} t} - e^{-k_{RO^-} t}\} \quad (\text{SI-14})$$

3 Time-Dependence of the Transient Absorption Band Integral

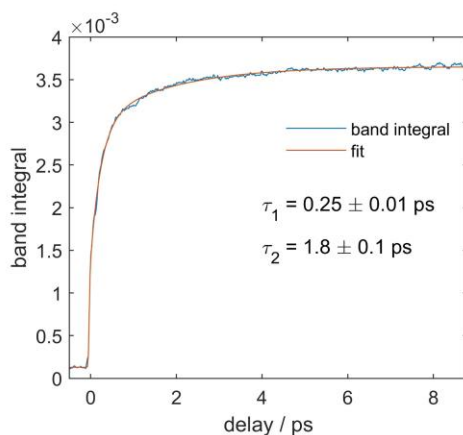


Figure SI 2: Time-evolution of the transient absorption band integral calculated across the full spectral window according to the definition $BI(\lambda_1, \lambda_2; t) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \frac{|TA(\lambda, t)|}{\lambda} d\lambda$. This quantity is approximately proportional to the sum of the squared transition dipole moments sampled by the spectral window in the transient absorption (TA) measurement. The absolute value of the TA signal was used in order to avoid cancellation of ESA and bleach, SE signals, which appear with different signs. The time-evolution was fitted with a biexponential function, an offset and a background. The optimized (phenomenological) time constants are shown in the inset. The increase of signal on a time scale clearly slower than the instrument response function indicates that the increase of signal is not due to the growth of excited-state population but to an excited-state reaction or to changes in the oscillator strength or band overlap.

4 Spectral Decomposition of the Stationary Fluorescence Spectrum of the Complex

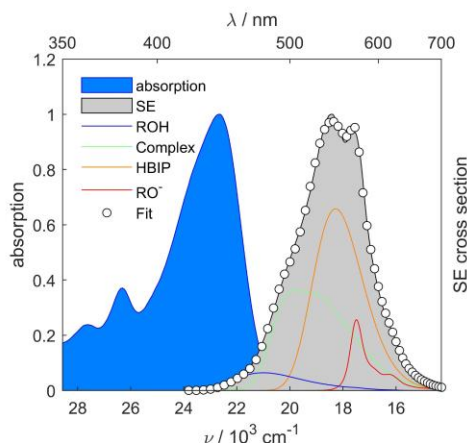


Figure SI 3: Spectral decomposition of the stimulated emission cross-section measured for the ROH:TOPO complex in acetonitrile. The filled curves show the absorption and fluorescence steady-state spectra (blue and gray, respectively). The contributions of the neutral, complex, HBIP and RO⁻ forms are shown as solid lines. Finally, the fit of the steady-state fluorescence with the spectra of the various forms contributing to the proton transfer reaction is shown as white circles. Data already published by us in Reference [30] of the main text.

5 Global Fit of the Time-Resolved Fluorescence of ROH in Acetonitrile

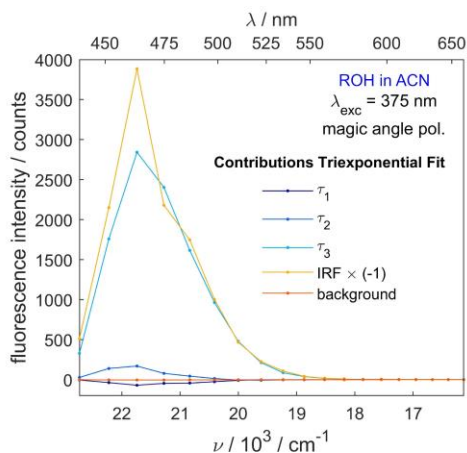


Figure SI 4: Spectral amplitudes obtained in the global analysis of fluorescence decay traces of ROH in acetonitrile. A triexponential function was used. The amplitudes of the various decay times as color-coded as indicated in the legend. The amplitude of the instrument response function was multiplied by -1 . This accounts for all processes occurring at rates much faster than the instrumental time resolution.

6 Global Fit of the Time-Resolved Fluorescence of the Complex in Acetonitrile

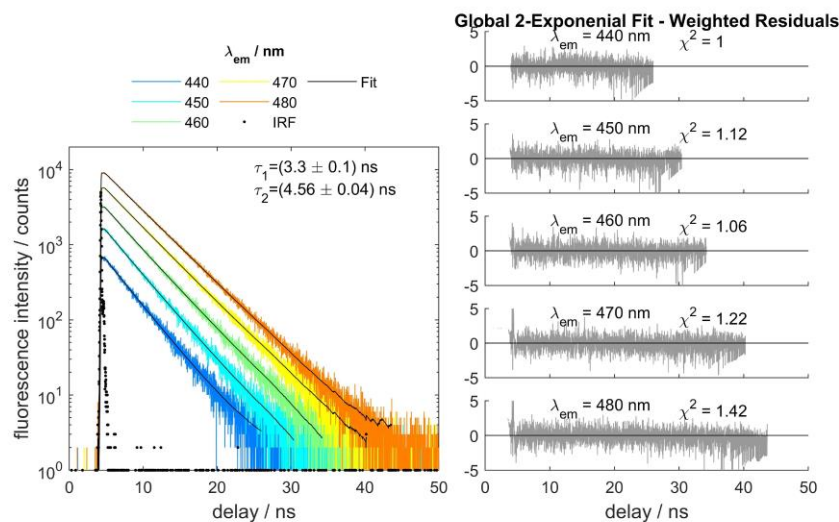


Figure SI 5: Biexponential global fit of the fluorescence decay traces of the complex in acetonitrile for wavelengths shorter than 490 nm. The various wavelengths are identified by different colors as indicated in the legend. The fit results are superimposed (black solid lines) together with the IRF (black dots). The right panels show the distribution of weighted residuals for each of the analyzed wavelengths.

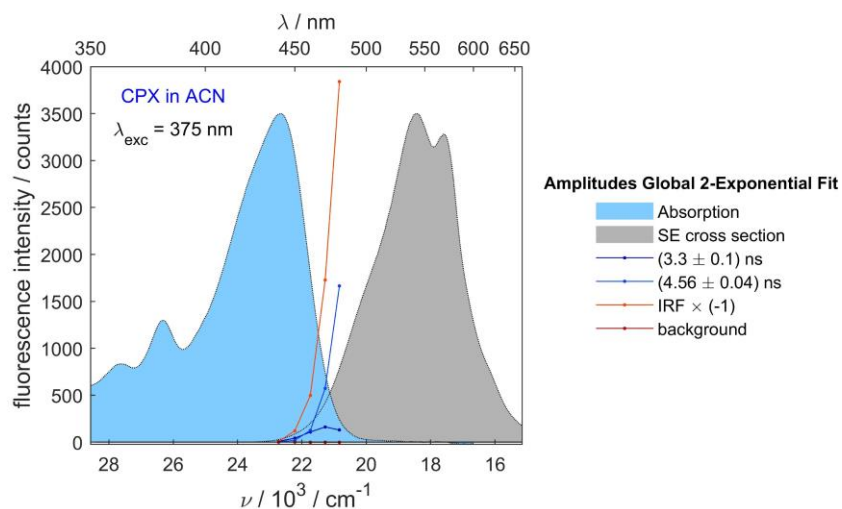


Figure SI 6: Spectral amplitudes corresponding to the fits shown in Figure SI 5 as indicated in the legend. The absorption and SE spectra of the complex are shown in the background as filled curves. The spectral region analyzed here overlaps the red and blue tails of the absorption and fluorescence spectra, respectively. Furthermore, the free ROH form emits in this spectral region (see Figure 1, top panel).

7 Comparison of TRES Contributions of the Complex and ROH Fluorescence Decay

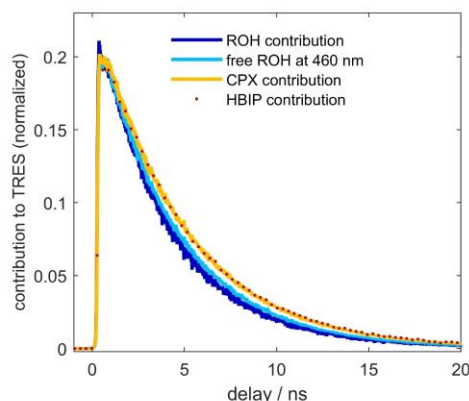


Figure SI 7: The fluorescence decay of the ROH form (light blue) measured at an emission wavelength of 460 nm is compared with the contribution of the ROH form to the time-resolved fluorescence emission spectra of the complex in the same solvent (dark blue, also shown in Panel A of Figure 9 in the main text). The latter is extracted from the fits shown on Figure 8 of the manuscript. Both curves are nearly identical. Also shown are the contributions of complex (dark yellow) and HBIP (orange dots) to the fluorescence emission of complex in acetonitrile. These datasets are also shown in Figure 9 of the main text, panels C and D. It is observed that complex and HBIP show the very same time dependence, supporting the equilibrium assumption. In turn, the time-evolution of free ROH matches quantitatively the contribution of ROH to the fluorescence measured upon complex photoexcitation and deviates from the excited-state dynamics of complex and HBIP. This strongly suggests that ROH dynamics occurs in parallel to those of complex, HBIP and RO^- and they are not kinetically connected. Unfortunately, dynamics of ROH, complex, HBIP are accidentally very similar and, consequently, difficult to disentangle.

8 Global Fit of the Transient Absorption of the Complex in Acetonitrile

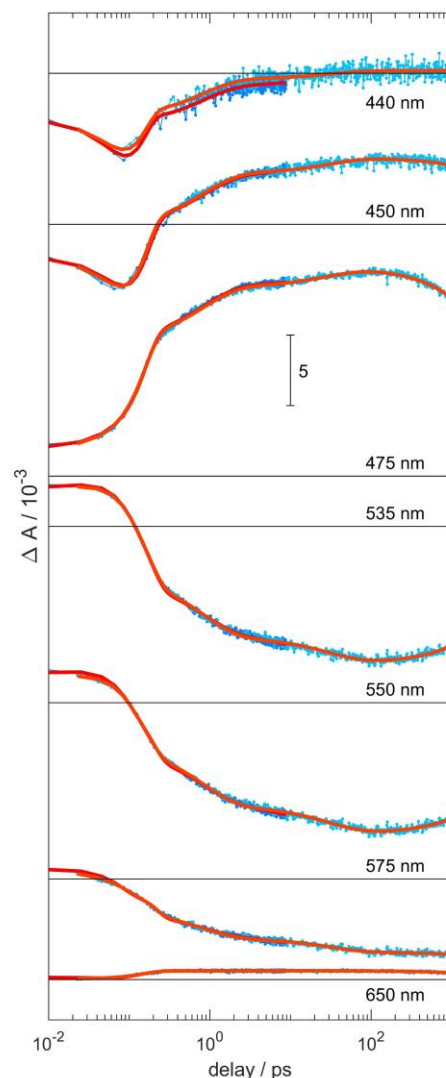


Figure SI 8: Results of the global triexponential fit performed on the transient absorption datasets measured in the 10 ps timescale with linear scaling (dark blue dots and red solid line as fit) and in the 1 and 8 ns timescales (light blue dots and orange solid line as fit) with logarithmic scaling. The probe wavelengths are indicated as insets. Horizontal lines mark the level of zero signal and the signal amplitude can be quantified with the help of the inner gauge. SADS are shown in Figure 7 of the main text and in Figure SI 12. The decay times are τ_{1-3} are (0.82 ± 0.01) ps, (31.5 ± 0.2) ps and (4.93 ± 0.03) ns, as already quoted in the main text.

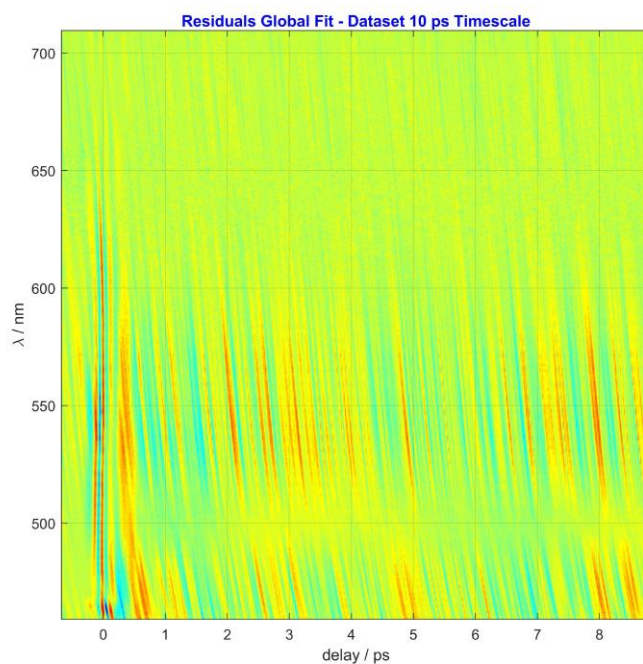


Figure SI 9: Contour plot of the residuals resulting from the global triexponential fit of the transient absorption data in the 10 ps timescale.

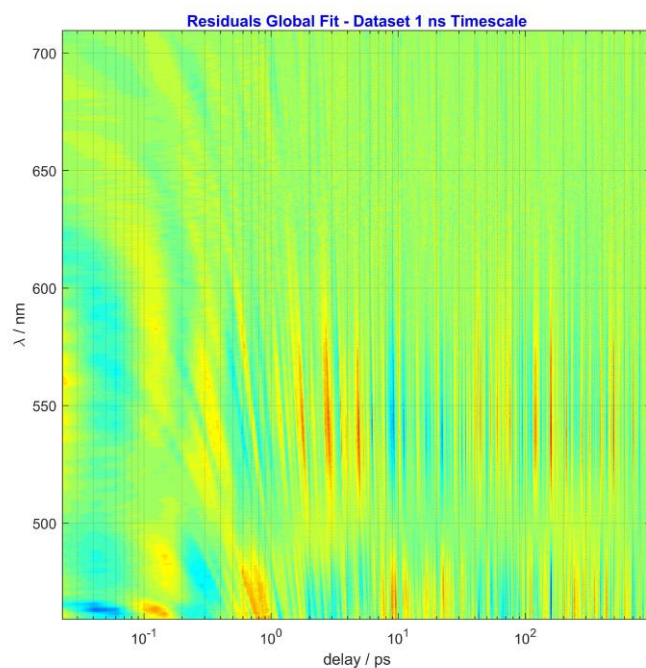


Figure SI 10: Contour plot of the residuals resulting from the global triexponential fit of the transient absorption data in the 1 ns timescale. Note the logarithmic scaling in the time axis.

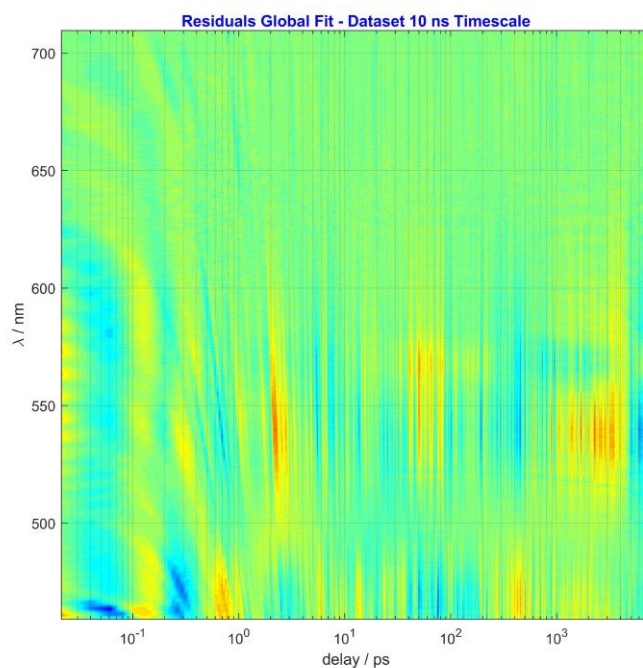


Figure SI 11: Contour plot of the residuals resulting from the global triexponential fit of the transient absorption data in the 10 ns timescale. Note the logarithmic scaling in the time axis.

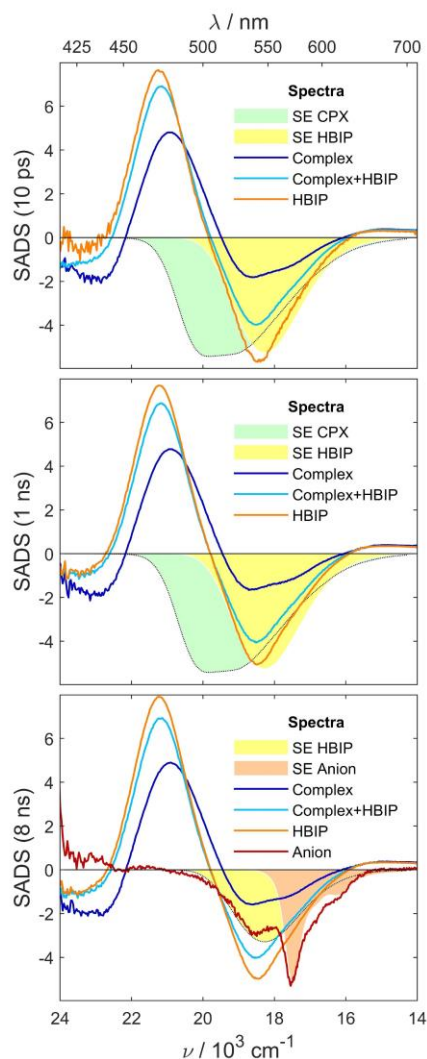


Figure SI 12: Species-Associated Difference Spectra (SADS) obtained from a global fit of three transient absorption datasets. The decay times were fitted as global parameters. The top frame shows the SADS for the measurements in the 10 ps timescale, scanned linearly with 20 fs steps. The middle panel shows the SADS determined on the 1 ns timescale with logarithmic sampling, while the bottom panel shows the results for the 8 ns timescale also by logarithmic sampling of the pump-probe delay. Spectral assignment is indicated in the legend. Filled-spectra are SE bandshapes obtained from solvatochromic analysis of stationary fluorescence and are shown for comparison. The dotted lines trace the spectral flanks covered by overlapping spectra. See Reference 30 for further details.

9 Earliest Transient Absorption of the Complex in Acetonitrile

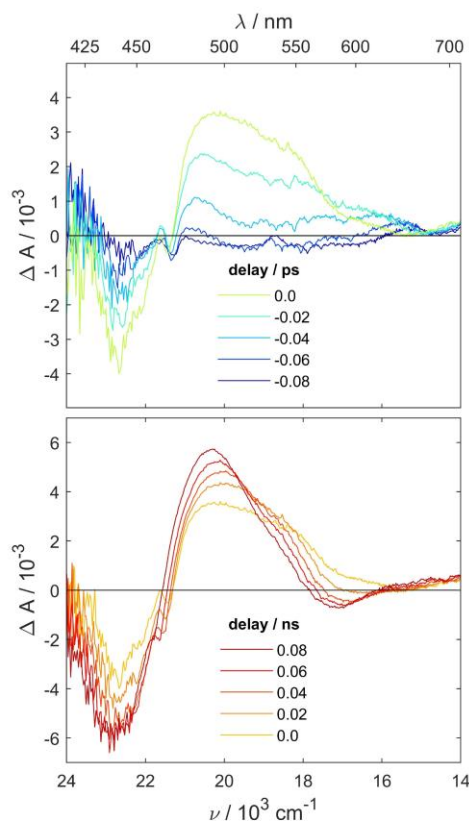


Figure SI 13: Time evolution of the transient absorption spectrum of the ROH:TOPO complex in acetonitrile at pump-probe overlap times. The upper panel shows the leading part of the pump pulse while the lower panel focuses on the trailing edge of the pulse. The ESA band around 500 nm grows as the negative contribution of SE around 600 nm develops, blue-shifts and sharpens.

10 Excitation-Wavelength Dependence of Complex Fluorescence in Acetonitrile

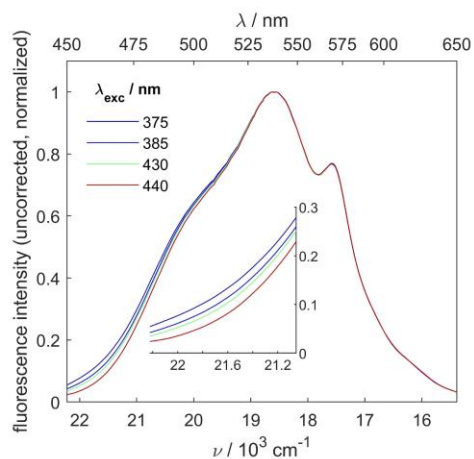


Figure SI 14: Fluorescence emission spectra of the ROH:TOPO complex recorded at various excitation wavelengths. A small but systematic increase of the blue shifted fluorescence is observed upon excitation at shorter wavelengths within the first absorption band because of the increasing contribution of the ROH form.

11 Time-Resolved Fluorescence Anisotropy of ROH and Complex in Acetonitrile

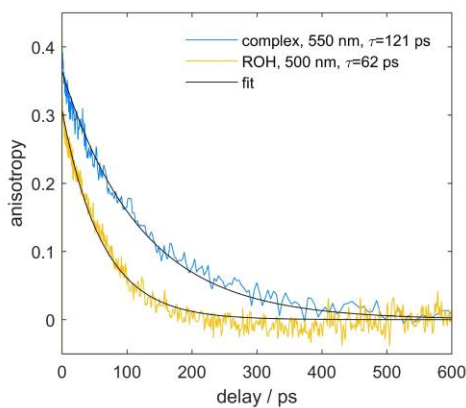
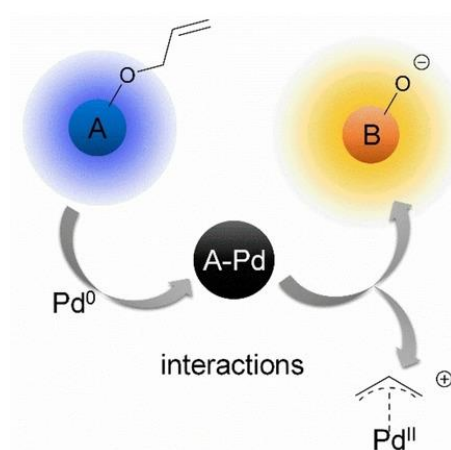


Figure SI 15: Transient absorption anisotropy signals obtained at the indicated probe wavelengths of the complex and the ROH forms. The signals were fitted with an exponential function, from which decay times of 121 ps (complex) and 62 ps (ROH) result. The longer anisotropy decay time of the complex is consistent with its much larger molecular volume.

5.4. Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy

Johannes A. Menges, Alexander Grandjean, Anne Clasen, Gregor Jung,
ChemCatChem **2020**, 12, 2630-2637.



Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy

Johannes A. Menges,^[a] Alexander Grandjean,^[a] Anne Clasen,^[a] and Gregor Jung^{*,[a]}

In memoriam Prof. Marcus Motzkus, Heidelberg University.

Single-molecule (SM) chemistry is devoted to unravel reaction steps which are hidden in cuvette experiments. Controversies about the substrate activation during the Tsuji-Trost deallylation motivated us to study, on the single-molecule level, the kinetics of the catalyst precursor Pd(PPh₃)₄ with our recently designed two-color fluorescent probes. Photochemical, metal-free bypass reactions were found and taken into account by the combina-

tion of spectrally separated single-molecule TIRF-microscopy and state-of-the-art analysis procedures. Unselective π -complex formation ($K_D \approx 10^3 \text{ M}^{-1}$) precedes the insertion of the active catalyst into the C–OR bond (RO[−] = leaving group), indicated by the lacking immediate change of fluorescence color. The formed intermediate then decomposes on a time scale of $\geq 2 - 3 \text{ s}$ to the deallylated product.

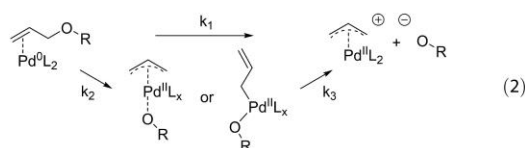
Introduction

Over the last decade, single-molecule fluorescence spectroscopy (SMFS) emerged as a tool to bring insights into the microscopic behavior of molecular, chemical systems.^[1–5] When ensemble measurements conceal uncommon events, single-molecule observation has the potential to provide a deeper understanding of chemical processes.^[6–8] In these first studies, it was shown that even text book reactions can show furcations of reaction pathways, still leading to an identical product.^[9] Hidden intermediates^[10] or static disorder is revealed for single nanoparticles and enzymes.^[11,12] Reactivity mapping of heterogeneous catalysts has been accomplished with spatial resolution.^[13] Ligand exchange^[14,15] and polymerization^[16] reactions have been investigated in model systems for homogeneous catalysis.^[17] To further advance this field in direction of recent synthetic chemistry, we previously introduced multi-emissive probes for the so-called participant approach.^[18–21] The Tsuji-Trost allylic substitution provides an example of a well-known and widely-used organometallic reaction.^[22–24] We have chosen to study this reaction as only few components are involved and there are still some mechanistic details under discussion. The putative active catalyst is PdL₂ (L = Ligand, e.g. PPh₃), which is formed during dissociation from a Pd⁰-

precursor like Pd(PPh₃)₄.^[25] The catalytic cycle then consists of two separable reactions, the displacement of allylic substrates,^[26] also utilized for cleavage of allyl protective groups,^[27] and the allylic alkylation.^[28,29] This second half of the catalytic cycle is described by the nucleophilic attack of a wide variety of nucleophiles^[22] on the Pd-allyl-complex, finally forming C–C, C–N and C–O bonds.^[30] In our study, we focus on the primary activation step. Here, the catalytic active Pd⁰L₂ species stands in equilibrium with a Pd- η^1 -allyl-complex in equation (1).



Via this transient complex, a cationic η^3 -allyl-complex is yielded. Especially for this part of the reaction, the Pd-mediated deallylation, ambiguity exists regarding the progression of the oxidative addition of allylic substrates to Pd⁰. The latter step may proceed similar to a S_N2 reaction^[31] with immediate release of the leaving group [eq. (2)].



Alternatively, the Pd-center may insert into the C–OR-bond^[30,32] (RO[−] = leaving group). Here, an oxidative association with formation of either a π -allylic η^3 -intermediate or a η^1 -Pd-complex^[33,34] are proposed, with the leaving group temporarily bound in the ligand sphere. From these intermediates a consecutive dissociation step then is expected.^[35] With the aim of obtaining new insights into the mechanisms of leaving group release, we studied the

[a] J. A. Menges, A. Grandjean, A. Clasen, Prof. G. Jung
Department of Biophysical Chemistry
Saarland University
Building B2 2
66123 Saarbrücken (Germany)
E-mail: g.jung@mx.uni-saarland.de

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cctc.202000032>

© 2020 The Authors. Published by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

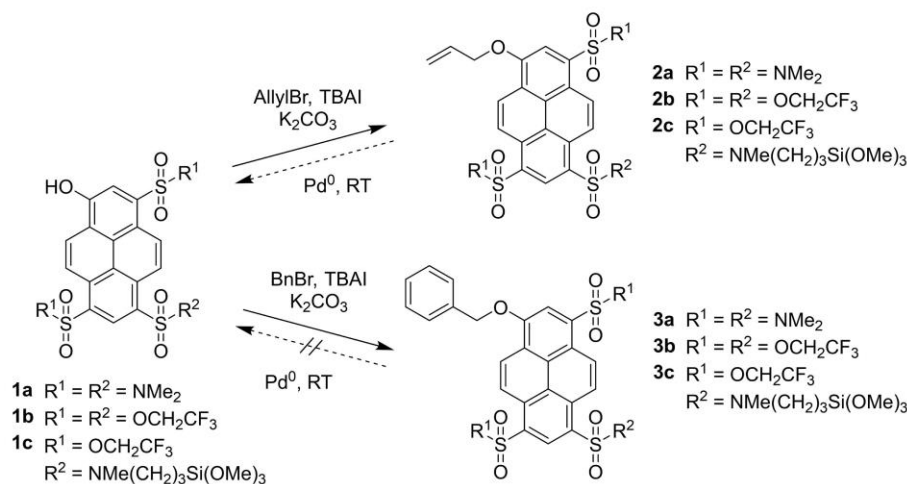
interactions of Pd^0 with our recently introduced, dual-emissive and immobilizable substrates.^[36] During this reaction, tetrakis(triphenylphosphine)-palladium(0) (Pd^0) causes a strong bathochromic shift in substrate fluorescence (SI Figure S2).

To probe the early events during the interaction of Pd^0 with the substrate, i.e. the equilibrium of complex formation, we used time-correlated single photon counting (TCSPC)^[37] and analyzed the quenching behavior by a Stern-Volmer (SV)-analysis. Monitoring fluorescence emission of individual reactive chromophores with two-channel detection in total-internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM)^[38] should then enable conclusions about the role of Pd during chemical transformation. In addition, we investigated several data analysis routines for adaption to irreversible reactions. Hidden Markov modelling^[39] or Bayesian statistical analysis,^[40] very well suited for the analysis of Förster resonance energy transfer (FRET) trajectories in equilibria, allow for extracting kinetic or mechanistic data from two channel SM fluorescence trajectories. Problems may occur when applied to a single reaction step with superimposed fluorescence quenching. We therefore searched for an unbiased statistical analysis of obtained single-molecule data. At first, we pursued noise-cancelling auto- and cross-correlation analyses of single particle emission^[41] for extraction of substrate decay and product rise. Subsequently, we compared the outcome with the results from analyzing the histograms of substrate fluorescence termination and product fluorescence formation events. With these methods, kinetic information of the reaction steps in equation (1) and (2) could be extracted, but photochemical bypass reactions were deciphered as well.

Results and Discussion

We synthesized pyrene-based, reactive fluorophores **2a**, **2b** and **2c** from **1a**, **1b** and **1c** according to existing procedures^[36,37] (scheme 1). The benzylated probes **3a**, **3b** and **3c** were synthesized in a similar fashion (SI pp.: 4–7). Compounds **2a,b** and **3a,b** were used for kinetic experiments in cuvette whereas **2c** and **3c** were used for immobilization on quartz surfaces prior to SM visualization.^[36] All probes **2a**, **2b**, **3a** and **3b** were stable in ethanol at standard conditions in the time span of these experiments. In steady-state experiments with **3a** and **3b**, no product formation at RT was noticed, neither in presence of Pd^0 , nor in combination with Pd^0 and the nucleophiles ethylmalonate and acetoacetate^[28] (SI Figure S3). Due to the lacking reactivity at RT towards Pd^0 , the benzylated derivatives served as control probes in this study. Electronic spectra and photophysical properties of all compounds were determined and are compiled in table S1 (SI Figure S1).

We performed steady-state and time resolved measurements in solution for characterizing the Pd^0 interaction with the substrate prior to the reaction. With addition of various amounts of Pd^0 up to a saturated solution (150 μM), fluorescence emission of unreactive **3a**, **3b** and **1b** was quenched (SI Figure S4). Association constants K_{SV} of $\sim 10^3 \text{ M}^{-1}$ were obtained from a SV plot^[42] (Figure 1a). Fluorescence lifetimes of **2a**, **2b** and **3a**, **3b**, on the other hand, remained unchanged shortly after addition of Pd^0 (SI Figure S5). These findings indicate static quenching by Pd^0 , i.e. complex formation.^[43]



Scheme 1. Synthesis of reactive (**2a,b,c**) and reference probes (**3a,b,c**) for the Tsuji-Trost deallylation reaction^[36,37] performed in acetone or dimethylformamide.

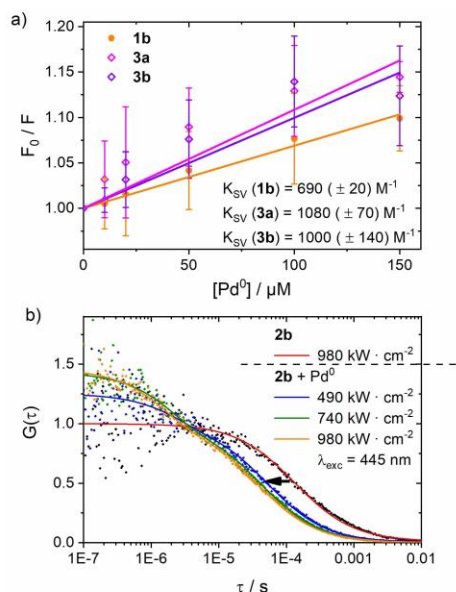


Figure 1. a) Stern-Volmer plots of the fluorescence quenching of **3a**, **3b** and **1b** by Pd^0 ; b) Fluorescence correlation functions of **2b**, the arrow depicts the change from pure ethanol to measurements with Pd^0 , dependent on varying illumination intensities (extracted from SI Figure S7), solid lines represent fits with equation (3).

Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS)

FCS was performed in oxygen-free ethanol to further determine the underlying kinetics (SI pp. 17). We used compounds **3b** and **1b** as control probes, with enough brightness and photostability for FCS under short wavelength excitation ($\lambda_{\text{exc}} = 445 \text{ nm}$ and 488 nm ; SI Figure S7). Moreover, reactive **2b** was investigated as well, shortly after addition of Pd^0 . As the measurement time was limited due to the consumption of **2b**, we exploited high excitation intensities for obtaining reasonable FCS curves (Figure 1b). Autocorrelation curves revealed a dark state in the presence of Pd^0 , the ligand PPh_3 (1 mM) and only in the absence of oxygen. Consequently, strong fluorescence fluctuations cannot unambiguously be traced back to the interaction with the catalyst.

Moreover, since the amplitude and the contrast of the fast fluctuations depend on illumination intensities, these observations point to typical light driven processes.^[44] However, photochemical release of a phosphine ligand^[45] could not be excluded. Equation (3) therefore represents the kinetic description of a reversible dark state formation from autocorrelation curves.

$$G(\tau) = \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \left(\frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_{\text{diff}}}} \right) \cdot \left(1 + \frac{k_{\text{dark, eff}}}{k_{\text{bright}}} \cdot e^{-(k_{\text{dark, eff}} + k_{\text{bright}}) \cdot \tau} \right) \quad (3)$$

Through application of equation (3), effective dark state formation and decomposition rates $k_{\text{dark, eff}}$ and k_{bright} in the μs -time regime were obtained. While on the μs -time scale hardly any significant differences between **3b** and **2b** are found in FCS, we noticed a distinct reduction of apparent diffusion time τ_{diff} from $160 (\pm 36) \mu\text{s}$ to $< 40 (\pm 4) \mu\text{s}$ upon addition of Pd^0 only in **2b**. Although the interpretation of apparent τ_{diff} requires caution,^[46] we conclude that the extracted $k \approx 1.5 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$, that is k_1 or k_2 in equation (2), appears as the upper limit for the reaction of **2b** with Pd^0L_x . Still, this upper limit is several orders of magnitude above the rate constants of the conversion in cuvette experiments ($k \approx 2 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$),^[36] and thus may not reflect the putative $\text{S}_{\text{N}}2$ -like short cut in equation (2). In summary, the only specific interaction with Pd^0 , which is not seen in the control experiment, is the reduction of τ_{diff} . Due to resulting limited observation time window, that is the diffusion time through the detection volume, FCS in solution can neither clearly distinguish between the pathways of fluorescence loss in eq. (2) nor does provide the kinetics of eq. (1) in its present configuration.

TIRF-microscopy

For exploring the Pd^0 interaction during chemical conversion, the deallylation reaction was visualized on the SM level. Simultaneous observation of substrate and product with low background was achieved with a prism-based TIR^[38] excitation in a custom built setup^[36,47] and dual-channel detection. Excitation and emission spectra of silanes **1c** and **2c** in solution as well as utilized laser lines and detection channels are shown in Figure 2a. Dyes **1c**, **2c** and **3c** were immobilized on a, with methylsilane passivated quartz surface, as described before,^[36] leading to **1_{imm}** (product), **2_{imm}** (reactive substrate), and **3_{imm}** (reference substrate) (SI Figure S10). Movies (100 ms/frame) of immobilized substrates **2_{imm}** and **3_{imm}** were recorded in ethanol before, during and after addition of $100 \mu\text{M}$ Pd^0 . With **2_{imm}**, a clear shift of emitting molecules from the “blue” (417–477 nm) to the “orange” (500–600 nm) detection channel was observed, which was initiated by $\text{Pd}^0(\text{PPh}_3)_4$ (Figure 2b). Single-molecule fluorescence trajectories with apparent noise were extracted with the selection criterion of single bleaching steps. Finally, 1741 SM-trajectories from 9 samples of 3 independent preparations of **2_{imm}** from movies during addition of Pd^0 were collected (amount of all trajectories: see SI p. 24).

To attain the temporal evolution from the starting material to product without any data preselection (except

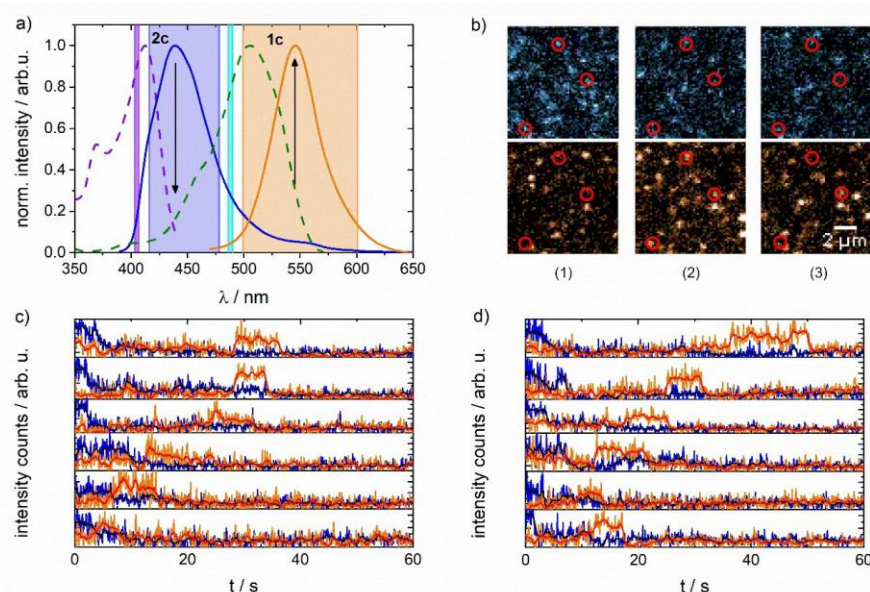


Figure 2. a) Fluorescence excitation (dashed lines) and emission (solid lines) spectra of soluted compounds **2c** (purple, blue) and **1c** (green, orange) in ethanol. Also, the utilized laser lines at 405 nm (purple) and 488 nm (cyan) are shown and spectral ranges of collected emission light from 417–477 nm (blue channel) and from 500–600 nm (orange channel); b) Images of visualized surface areas with immobilized **2_{imm}**, top: blue channel, bottom: orange channel, (1) with initiation of the reaction through Pd^0 , (2) after 5 s with Pd^0 solution, (3) after 7 s with Pd^0 solution, binned for 1 s (10 frames) (product molecules in first frame formed through photochemical reaction); c) Dual-Channel fluorescence trajectories of **2_{imm}** with Pd^0 with visible color change; d) Dual-Channel fluorescence trajectories of **2_{imm}** without Pd^0 with generation of „orange“ fluorescence (solid lines represent sliding average of fluorescence trajectories with time resolution of 1 s).

the mentioned single step in the blue channel), correlation analyses^[41] were conducted. Autocorrelation decays provide the time constant for molecule disappearance (due to reaction or photobleaching) as in FCS but also do not distinguish between these processes. Cross-correlation analysis, in contrast, is specific for the reaction and yields the time constant for product formation once a substrate molecule is identified. Moreover, artifacts and random noise are cancelled out in correlation functions^[48] and the time resolution of the acquisition frequency (10 Hz \approx 100 ms) is sustained in contrast to our later analyses based on binning. Emission trajectory pairs of each measurement were aligned into single paired data series. Subsequently, the overall correlation curves were calculated, which were corrected for spectral cross-talk according to the method described by Bacia et.al.^[49] (SI pp.25). The obtained corrected cross-correlation $G(\tau_{ij})$ curves of measurements with introduction of Pd^0 show positive amplitudes (Figure 3a). In the conversion of **2_{imm}** by Pd^0 a pronounced maximum is seen, while corresponding curves of **3_{imm}** only show a weak maximum (Figure 3a and SI Figure S11b). Kinetic constants were derived from mono- or biexponential fits of these curves, in which the rising component is interpreted as product formation. A time constant of $\tau_{\text{form, orange}}$ of $15.7 (\pm 1.5)$ s of

2_{imm} with presence of Pd^0 results from this analysis (SI Figure S16). This time constant is considerably lower, by a factor 4, than the previously determined time constant of product formation in a fluorogenic approach, that is when only the formed product molecules were excited.^[36] However, if we take the competing photobleaching of the substrate **2_{imm}** into account (i.e. the decay of the blue autocorrelation functions of control **3_{imm}** and **2_{imm}** without Pd^0 , see Figure 4 and SI Figure S11), then a reduced time constant $\tau_{\text{red}} = 6.2 (\pm 1.9)$ s is expected (SI p.34). The significant retardation from the expected 6 to the observed 16 s putatively points to an intermediate, specific to an interaction with Pd^0 , before **1_{imm}** is produced in the reaction. However, no conclusions about its nature or any reaction branching as inferred from eq. (2) can be drawn from these correlation analyses. If fluorescent intermediates with a different emission spectrum were present, then signal-pair histograms^[48,50] (SI Figure S14), created from the paired emission trajectories, could suggest their presence. However, such an analysis provided no unambiguous indication for spectrally shifted intermediates specific to the presence of Pd^0 . We therefore interpret any putative intermediate as dark state in the reaction from **2_{imm}** to **1_{imm}**. Please note that even the cross-correlation curves of **2_{imm}** without Pd^0 shows

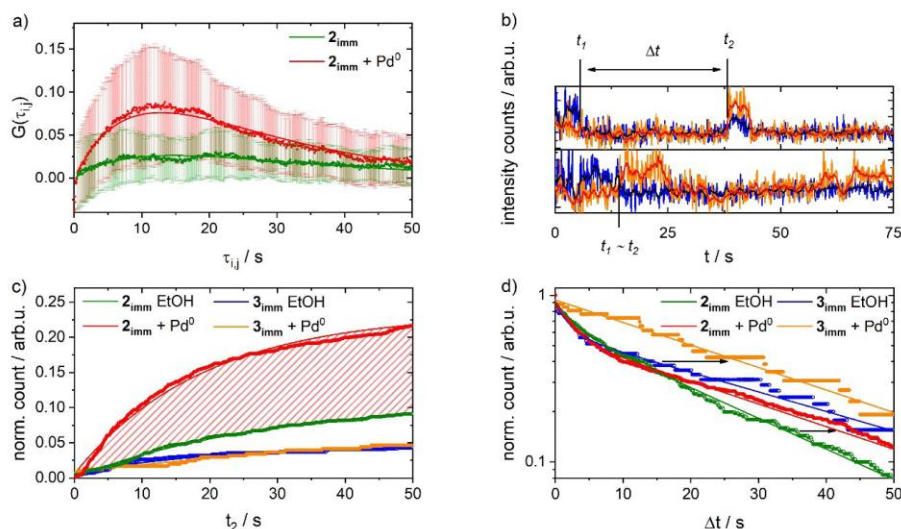


Figure 3. a) Mean cross-correlation of fluorescence intensities in the „blue“ and „orange“ channel of compound 2_{imm} without and with Pd^0 with standard deviations from 9 measurements (SI Figure S11); b) exemplary SM trajectories with sliding average over 1 s; scheme of extracted t_1 , t_2 and delay time Δt ; c) histogram of normalized product formation events t_2 regarding 2_{imm} and 3_{imm} with and without Pd^0 . The shaded area represents the additional amount of formed product 1_{imm} through influence of Pd^0 on 2_{imm} resp. the Tsuji-Trost deallylation reaction; d) histogram of lag times Δt ; arrows indicate the shift in kinetics upon addition of Pd^0 (SI Figure S16).

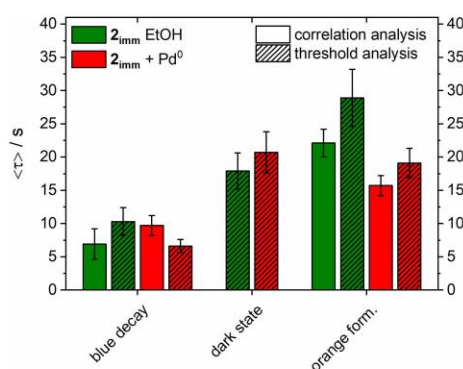


Figure 4. Obtained kinetic constants $\tau_{1/e}$ for 1. decay of blue fluorescence, 2. the lag time, i.e. dark state, 3. orange fluorescence formation from SM trajectory correlation and thresholding analyses of experiments with 2_{imm} . All data is shown in SI Figure S16.

a rising component (as does 3_{imm} with Pd^0). These latter findings are in contrast to the cuvette experiments, where only Pd^0 was able to convert **2** into **1**. A photochemical side reaction is the most likely explanation.

We subsequently chose an analysis method for extracting information out of individual trajectories, finally yielding conventional histograms. In contrast to the former analyses, any dark state is directly detected as discontinuity of fluorescence to agree with the outcome of the former

analyses. A simple algorithm was used to sort trajectories into groups of reactive and non-reactive molecules. At first, normalized intensity trajectories were transformed into a binary signal via a threshold to exclude 99% of data points, which may correspond to zero emission (SI Figure S12). Then, for recognition of product formation, the orange intensity had to exceed the corresponding threshold for at least one second (Figure 2c, d). Consecutively, all trajectories showing conversion were selected and the number of reactive molecules was determined. Roughly 28% of trajectories of 2_{imm} ($\cong 487$ of 1741 trajectories) with Pd^0 was deemed reactive with a significant rise in orange fluorescence during the observation window (Figure 2c), whereas the rest of molecules were considered to photobleach. We certainly lost a wealth of trajectories by these strict criteria and, therefore, overestimated photobleaching. In the first control experiment, that is 2_{imm} in ethanol, but without Pd^0 , however, also around 12% of fluorescence trajectories with similar behavior ($\cong 280$ of 2330 trajectories) were identified (Figure 2d). Moreover, experiments with benzylated dye 3_{imm} , also revealed approximately 6% of trajectories with rising orange fluorescence, independent of Pd^0 influence ($\cong 25$ trajectories with Pd^0 and 51 without Pd^0). These findings are in agreement with the almost vanishing cross-correlations (see Figure 3a and SI Figure S11). Interestingly, and most significant for the reaction mechanism, only a minor fraction of trajectories ($\cong 60$ of 487 reactive trajectories or 12%) exhibited a sudden color shift (~ 0.1 s).

The timepoints of substrate emission termination t_1 and product fluorescence formation t_2 were resolved from the binary fluorescence trajectories and accumulated (Figure 3b). The resulting histograms were subsequently fitted with monoexponential functions (SI p. 33 and Figure 3c, extracted from Figure S13). The kinetics of the decay of 2_{imm} expressed by equation (4) shows a faint acceleration by Pd^0 as expected (Figure 4).

$$\langle \tau_{\text{blue decay}} \rangle = \frac{1}{k_{\text{blue decay}}} \quad (4)$$

The influence of Pd^0 on 3_{imm} is less clear, as the error margins hide any measurable effect. Altogether, the obtained rate constants are in a similar range like those of the correlation analysis (Figure 4). Conversion of $2_{\text{imm}}/3_{\text{imm}}$ to the fluorescent product support a photochemical bypass reaction for both substrates to 1_{imm} with an apparent quantum yield of about $\Phi_{\text{ph, reac}} \sim 5.5 \cdot 10^{-6}$ and $2.8 \cdot 10^{-6}$ for 2_{imm} and 3_{imm} , respectively. The most likely interpretation therefore is a photoinduced deprotection reaction, presumably via homolytic C–O cleavage^[51] or photoionization reaction^[52] (SI Scheme S2 p. 36). Its competition to the metal-organic reaction of 2_{imm} (SI p. 34) causes the seeming acceleration compared to the experiments in a fluorogenic approach.^[36]

More relevant for mechanistic insight is the analysis of the lag time Δt between the disappearance of the blue fluorescence and appearance of orange fluorescence, that is, the lifetime of the dark intermediate (Figure 3b,d). To perform an unbiased analysis of dark state evolution in regard to its mechanism, an empirical biexponential fit of Δt was utilized.

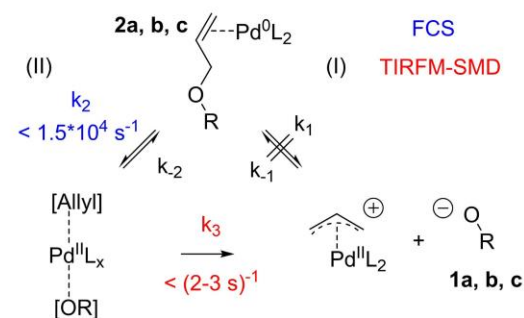
Firstly, the relative amplitudes of a fast (A_{short}) and a slow (A_{long}) decay component are resolved, normalized on the absolute number of reactive trajectories (SI Figure S16). For inert substrate 3_{imm} , addition of Pd^0 makes the short component disappear, leading to a monoexponential decay. This behavior is opposed to the reactive substrate 2_{imm} , where the amplitude of the faster decay component of the allylated 2_{imm} absolutely increases (Figure 3d). Although the relative amplitude A_{short} of the biexponential fit increases only by \sim one third (from 0.28 to 0.38), the absolute raise corresponds to 7% of all trajectories of 2_{imm} during the presence of Pd^0 (~ 120 trajectories of 487 reactive trajectories) and, hence, to roughly half of the increase of reactive trajectories upon addition of Pd^0 . Thus, this faster process is related to the synthetic reaction mechanism, although it competes here with photochemical conversion. An absolute increase of the slow component is noticed as well.

Secondly, the obtained rate constants are compared. Addition of Pd^0 extends the dark state lifetime of inert substrate 3_{imm} to a single value $\tau_{\text{dark}} \approx 30 (\pm 5)$ s (Figure 3d). This time constant, however, may not necessarily reflect the binding time of Pd^0 to the substrate. Considering the benzylated derivatives **3** are not prone to conversion by Pd^0 , this latter, slower process is not related to the catalytic

cycle. This interpretation becomes important, as the same lifetime is found for the reactive substrate 2_{imm} as well. Here, Pd^0 also elongates the long component of dark state lifetime (denoted by horizontal arrow in Figure 3d). At the same time, its short component lifetime slightly shortens upon addition of Pd^0 from $\tau_{\text{short}} = 3.1 (\pm 0.5)$ s to $\tau_{\text{short, Pd}} = 2.4 (\pm 0.4)$ s opposed to its absence in the reaction of benzylated counterpart 3_{imm} (SI Figure S16b). Still, the observation of (at least) two lifetimes may also hint to more than one process being involved. The question therefore arises whether a distribution of rate constants is here a more appropriate description.

For analysis of kinetics with an intrinsic dispersion of rate constants, a Weibull analysis is employed.^[53] Here, a β -value results from a stretched exponential fit of the dataset with an effective rate constant k_{eff} . The larger the discrepancy of β from 1 is, the more pronounced is the distribution of rates around k_{eff} . Applied on the presented data, this analysis shows an increase of complexity of dark state kinetics of 2_{imm} through addition of Pd^0 , indicated by a decrease of the corresponding β -value. With the inert substrate 3_{imm} , Pd^0 exerts the opposite effect with a β -value close to one with the transition metal present (SI Figure S13d,e). One interpretation are additional contributions to reactive trajectories by e.g. the reaction of a mixture of various reactive Pd-ligand species^[25,54] or the presence of different intermediate states like η^1 or η^3 -complexes.^[33,34] In summary, no more evidence for a distinct, sudden change than before results from the kinetics dispersion.

Nevertheless, having the previously discussed lack of a fast rising component in the cross-correlation (Figure 3a) and in the t_2 -histogram (Figure 3c) as well as in direct color shifts of trajectories in mind, we therefore conclude that the vast majority of chemically relevant intermediate in the catalytic cycle has a lifetime of $2.4 (\pm 0.4)$ s or longer (scheme 2). This interpretation is further supported from the kinetics obtained from FCS experiments, which disagrees with the expected rate constants of the fluorogenic approach, and excludes a S_N2 -like shortcut from 2_{imm} to 1_{imm}



Scheme 2. Mechanism of deallylation reaction for **2a,b** and 2_{imm} with derived kinetic constants (I): allylic substitution through Pd^0 ; (II): Pd-insertion into C–O-bond.

in equation (2), rather pointing to the proposed mechanisms involving a Pd⁰ insertion into the C–O-bond.^[33,35]

Conclusion

The interaction of Pd⁰ with allyl-protected substrate molecules **2** and its chemically inert, benzylated counterpart **3** has been studied by fluorescence spectroscopy and microscopy. Steady-state unselective fluorescence quenching provides evidence for formation of a π -complex with Pd⁰L_x moieties. The reduced τ_{diff} in FCS, only observed in the allylated compounds, is suggestive of formation of a chemically relevant intermediate. SM experiments with two-channel detection were performed to cover the time regime well above 0.1 s. Noise insensitive correlation analyses and noise affected analysis of fluorescence event histograms result in similar time-constants for the substrate decay and product formation, but only the latter method shows the kinetics of presumably photoinduced dark states and reveals the existence of a Pd^I intermediate with a lifetime of 2–3 s. The present experiments are more in line with insertion of Pd⁰ into the C–O-bond (in a S_N2-like mechanism we would expect an instantaneous release of the product **1**_{imm}), but may reflect a selected mechanism for the Tsuji–Trost-deallylation. As our pyrene derivatives provide an excellent leaving group, the result may only be transferred to comparable substituents. Experiments with other allylated fluorophores^[55,56] are a convenient way to find out distinctions. It is yet unclear to which extent the investigated conversion, with simultaneous excitation of product and substrate agrees with the findings of our previous study based on a fluorogenic approach.^[36]

However, an intermediate, as found here with a lifetime $\ll 60$ s, would hardly be detected in a conventional fluorogenic approach or kinetic analyses in an ensemble and underpins the benefits of single-molecule studies.

To finally elucidate the mechanism, which takes place in synthesis, we therefore have to avoid any light-driven activation of the metal with its immediate ligand sphere, e.g. by using red labeled ligands.^[14,18,53,57] Labeled ligands, used for enantioselective chemistry, may be employed as well.^[33,34] With this development and some technical improvements, e.g. for accessing the ms-time regime,^[58] we head for resolving this widely applied metal-organic reaction on the SM-level.

Acknowledgements

This work was supported by the German Research Foundation, (DFG, project number JU650/10-1). The authors thank Reiner Wintringer (†) and Dr. Klaus Hollemeyer (Service Center Mass Spectrometry, Saarland University) for ESI-MS analysis. Also, the technical design of implemented measurement chamber and microfluidic cell by Rudolf Richter is gratefully acknowledged and Matthias Jourdain for carefully reading the manuscript.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Keywords: fluorescence spectroscopy • single-molecule detection • palladium • Tsuji–Trost reaction • reaction mechanisms

- [1] M. Orrit, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 8004–8005; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 8116–8117.
- [2] M. Orrit, T. Ha, V. Sandoghdar, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 973.
- [3] N. G. Walter, C.-Y. Huang, A. J. Manzo, M. Sobhy, *Nat. Methods* **2008**, *5*, 475–489.
- [4] T. Cordes, S. A. Blum, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 993.
- [5] J. C. Scaiano, A. E. Lanterna, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5011–5019.
- [6] Q. T. Easter, S. A. Blum, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 12027–12032; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 12203–12208.
- [7] Y. Zhang, P. Song, Q. Fu, M. Ruan, W. Xu, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 1–8.
- [8] S. Dery, E. Amit, E. Gross, *Top. Catal.* **2018**, *61*, 923–939.
- [9] A. Rybina, C. Lang, M. Wirtz, K. Grubmayer, A. Kurz, F. Maier, A. Schmitt, O. Trapp, G. Jung, D. P. Herten, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6322–6325; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 6445–6449.
- [10] H. Shen, X. Zhou, N. Zou, P. Chen, *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 26902–26911.
- [11] R. Ye, X. Mao, X. Sun, P. Chen, *ACS Catal.* **2019**, *9*, 1985–1992.
- [12] R. Lieberr, H. Gorris, *Molecules* **2014**, *19*, 14417–14445.
- [13] K. P. F. Janssen, G. De Cremer, R. K. Neely, A. V. Kubarev, J. Van Loon, J. A. Martens, D. E. De Vos, M. B. J. Roelfaers, J. Hofkens, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 990–1006.
- [14] J. D. Ng, S. P. Upadhyay, A. N. Marquard, K. M. Lupo, D. A. Hinton, N. A. Padilla, D. M. Bates, R. H. Goldsmith, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3876–3883.
- [15] A. Kiel, J. Kovacs, A. Mokhir, R. Krämer, D.-P. Herten, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3363–6; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 3427–3430.
- [16] Q. T. Easter, S. A. Blum, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1572–1575; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 1588–1591.
- [17] T. Chen, B. Dong, K. Chen, F. Zhao, X. Cheng, C. Ma, S. Lee, P. Zhang, S. H. Kang, J. W. Ha, W. Xu, N. Fang, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 7510–7537.
- [18] M. Wirtz, A. Grüter, F. Heib, V. Huch, J. Zapp, D.-P. Herten, M. Schmitt, G. Jung, *Methods Appl. Fluoresc.* **2015**, *3*, 44001.
- [19] M. Wirtz, A. Grüter, P. Rebmann, T. Dier, D. A. Volmer, V. Huch, G. Jung, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12694–12697.
- [20] B. Finkler, I. Riemann, M. Vester, A. Grüter, F. Stracke, G. Jung, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2016**, *15*, 1544–1557.
- [21] G. Jung, A. Schmitt, M. Jacob, B. Hinkeldey, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2008**, *1130*, 131–137.
- [22] K. C. Nicolaou, P. G. Bulger, D. Sarlah, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442–4489; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4516–4563.
- [23] B. M. Trost, M. L. Crawley, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2921–2943.
- [24] D. C. Behenna, B. M. Stoltz, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15044–15045.
- [25] M. S. G. Ahlquist, P. O. Norrby, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11794–11797; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11998–12001.
- [26] R. O. Hutchins, K. Learn, R. P. Fulton, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 27–30.
- [27] O. Dangles, F. Guibé, G. Balavoine, S. Lavielle, A. Marquet, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4984–4993.
- [28] T. Kajimoto, H. Takahashi, J. Tsuji, *J. Organomet. Chem.* **1970**, *23*, 275–280.
- [29] B. M. Trost, T. J. Fullerton, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 292–294.
- [30] K. Tsurugi, N. Nomura, K. Aoi, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 469–472.
- [31] B. M. Trost, D. L. Van Vranken, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 395–422.
- [32] D. R. Vutukuri, P. Bharathi, Z. Yu, K. Rajasekaran, M. H. Tran, S. Thayumanavan, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1146–1149.
- [33] N. H. Sherden, D. C. Behenna, S. C. Virgil, B. M. Stoltz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6840–6843; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6972–6975.
- [34] M. Kollmar, B. Goldfuss, M. Reggelin, F. Rominger, G. Helmchen, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4913–4927.
- [35] A. Miyake, G. Hata, K. Takahashi, A. Miyake, *Chem. Commun.* **1970**, *2*, 1392–1393.
- [36] J. A. Menges, A. Clasen, M. Jourdain, J. Beckmann, C. Hoffmann, J. König, G. Jung, *Langmuir* **2019**, *35*, 2506–2516.

- [37] B. Finkler, C. Spies, M. Vester, F. Walte, K. Omlor, I. Riemann, M. Zimmer, F. Stracke, M. Gerhards, G. Jung, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 548–562.
- [38] W. P. Ambrose, P. M. Goodwin, J. P. Nolan, *Cytometry* **1999**, *36*, 224–31.
- [39] I. Sgouralis, S. Pressé, *Biophys. J.* **2017**, *112*, 2021–2029.
- [40] E. Lerner, T. Cordes, A. Ingargiola, Y. Alhadid, S. Chung, X. Michalet, S. Weiss, *Science* **2018**, *359*, 1–12.
- [41] R. M. Dickson, A. B. Cubitt, R. Y. Tsien, W. E. Moerner, *Nature* **1997**, *388*, 355–358.
- [42] O. Stern, M. Volmer, *Phys. Z.* **1919**, *20*, 183–188.
- [43] J. Panchompoo, L. Aldous, M. Baker, M. I. Wallace, R. G. Compton, *Analyst* **2012**, *137*, 2054–2062.
- [44] J. Widengren, U. Mets, R. Rigler, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 13368–13379.
- [45] P. Karagiannidis, S. K. Hadjikakou, P. Aslanidis, A. Hountas, *Inorg. Chim. Acta* **1990**, *178*, 27–34.
- [46] B. Hinkeldey, A. Schmitt, G. Jung, *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 2019–2027.
- [47] A. M. Huynh, J. Menges, M. Vester, T. Dier, V. Huch, D. A. Volmer, G. Jung, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 433–442.
- [48] A. Hoffmann, M. T. Woodside, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12643–12646; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12854–12857.
- [49] K. Bacia, Z. Petrásek, P. Schwillie, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 1221–1231.
- [50] H. Yuan, M. Orrit, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 681–683.
- [51] J. P. Fouassier, F. Morlet-Savary, J. Lalevée, X. Allonas, C. Ley, *Materials* **2010**, *3*, 5130–5142.
- [52] T. Cordes, J. Vogelsang, P. Tinnefeld, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5018–5019.
- [53] K. Kitagawa, S. A. Blum, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 3786–3791.
- [54] A. Biffis, P. Centomo, A. Del Zotto, M. Zecca, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 2249–2295.
- [55] P. Wang, J. Xia, Y. Gu, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 6491–6494.
- [56] J. Yan, X. Wang, L. Zhou, L. Zhang, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 20369–20372.
- [57] M. Navarro, S. Wang, H. Müller-Bunz, G. Redmond, P. Farràs, M. Albrecht, *Organometallics* **2017**, *36*, 1469–1478.
- [58] S. Sehayek, Y. Gidi, V. Glembockyte, H. B. Brandaõ, P. François, G. Cosa, P. W. Wiseman, *ACS Nano* **2019**, *13*, 11955–11966.

Manuscript received: January 7, 2020
Revised manuscript received: February 15, 2020
Accepted manuscript online: February 18, 2020
Version of record online: April 1, 2020

ChemCatChem

Supporting Information

Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy

Johannes A. Menges, Alexander Grandjean, Anne Clasen, and Gregor Jung*© 2020 The Authors. Published by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Author Contributions

J.M. Writing - Original Draft:Lead
A.G. Data acquisition and analysis:Supporting
A.C. Synthesis and Characterization of Compounds:Supporting
G.J. Supervision:Lead; Writing - Review & Editing:Lead

Contents

1. General Information	3
2. Experimental procedures for the synthesis of utilized compounds.....	4
3. Characterization of substrates via optical spectroscopy.....	8
4. Ensemble experiments with synthesized dyes and Pd ⁰	11
5. Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) experiments	16
6. Single-molecule (SM) microscopy.....	21
Correlation analyses	25
Threshold analysis	27
Signal-pair analysis.....	30
7. NMR-Spectra	37

1. General Information

Chemicals and Materials

Spectroscopic grade solvents water (Fisher Scientific), methanol (VWR), ethanol (Fisher Scientific), acetone (Fisher Scientific), N,N-dimethylformamide anhydrous (Fisher Scientific) were used as received. Only trichloro methane (Roth Carl) was dried over 4 Å molecular sieve for the immobilization procedure. Methyl trimethoxy silane (Fisher Scientific) was freshly distilled prior to use. Tetrakis(triphenylphosphine)-palladium(0) (VWR) was stored under nitrogen in -20 °C, not longer than for one month. Other chemicals, acetic acid (Fisher Scientific), anhydrous triethylamine (Fisher Scientific) benzyl bromide and allyl bromide (Fisher Scientific) were used as received.

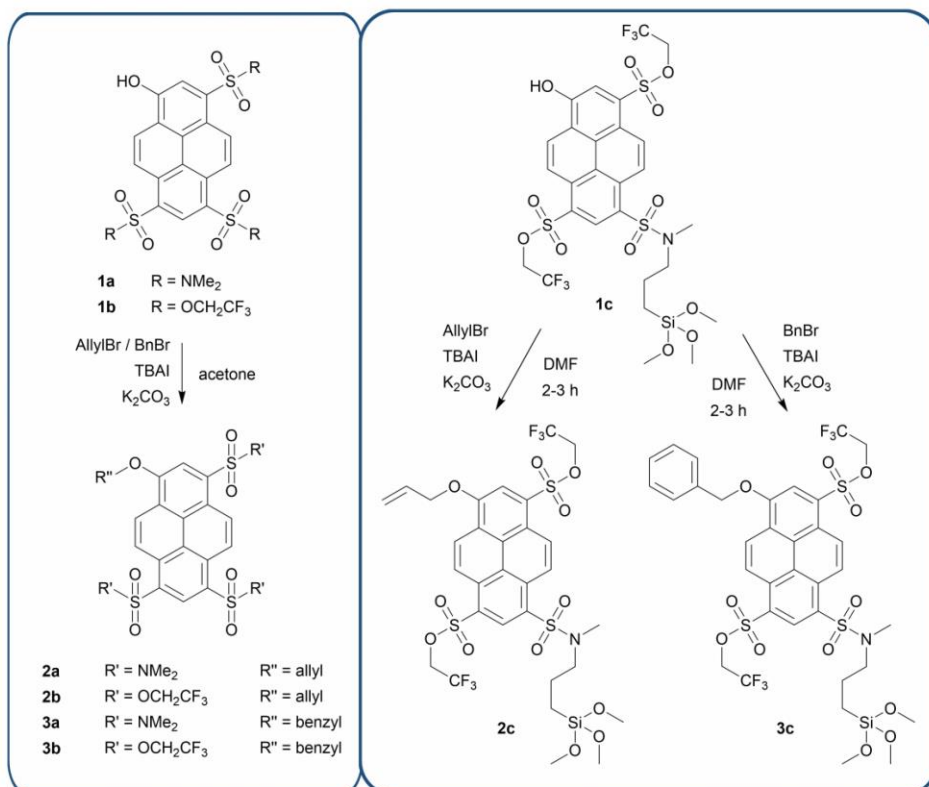
NMR Spectroscopy

^1H , ^{19}F , and ^{13}C NMR spectra were recorded with a Bruker Avance 2 spectrometer (400, 376, or 100 MHz) at ambient temperature with reference to solvent standard. Chemicals shifts were recorded as δ values in ppm units.

Mass Spectrometry

Mass spectra were recorded with a 5500 QTRAP (AB Sciex GmbH) with ESI in positive or negative mode according to the measured substrate.

2. Experimental procedures for the synthesis of utilized compounds



Scheme S1. Synthesis of allyloxy ensemble probes **2a** and **2b**, benzyloxy ensemble probes **3a** and **3b**, as well as substrates **2c** and **3c** for immobilization and single-molecule measurements.^[S1]

Synthesis of photoacids **8-hydroxypyrene-N,N,N',N'',N''',N'''-hexamethyl-1,3,6-trisulfonamide (HPTA) (1a)** and **tris(2,2,2-trifluoroethyl) 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonate (1b)** was done as reported by Finkler et. al.^[S2]

Synthesis of **8-allyloxypyren-N,N,N',N'',N'''-hexamethyl-1,3,6-trisulfon-amide (2a)** and synthesis of **tris(2,2,2-trifluoroethyl) 8-(allyloxy)pyrene-1,3,6-trisulfonate (2b)** was done according to existing procedures.^[S1]

Synthesis of **8-benzyloxypyren-N,N,N',N'',N'''-hexamethyl-1,3,6-trisulfon-amide (3a)** (scheme 1, main text) was done by dissolving **1** (0.20 g, 0.37 mmol), potassium carbonate (0.29 g, 2.1 mmol), tetrabutylammonium iodide (0.02 g, 0.05 mmol) and benzyl bromide (82 mg, 57 μ l, 0.48 mmol) in acetone (35 ml, 0.48 mol) and stirring this solution for 3 d under ambient conditions. Afterwards, additional benzyl bromide (58 mg, 40 μ l, 0.34 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for another 4 d. The solvent was removed in high vacuum and solid residues were dissolved in small amounts of ethyl acetate. The solution was extracted three times with 1 M hydrochloric acid, three times with deionized water and another two times with brine. The organic phase was dried over sodium sulfate and the solvent was removed. Purification of reaction product was conducted via column chromatography (silica, DCM/PE = 96:4, R_f = 0.1) and yielded the product as a yellow solid (0.103 g, 0.16 mmol, 44 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 9.32 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 9.28 (d, 3J = 9.54 Hz, 1H), 9.19 (s, 1H), 9.12 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 8.97 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.60 (m, 2H), 7.45 (m, 2H), 7.38 (m, 1H), 5.61 (s, 2H), 2.93 (s, 6H), 2.93 (s, 6H), 2.74 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 153.63, 135.52, 133.46, 132.68, 131.96, 129.98, 129.76, 129.72, 128.94 (s, 2C), 128.60, 128.39, 127.54 (s, 2C), 125.79, 125.68, 125.17, 125.14, 123.20, 123.18, 121.81, 113.26, 71.41, 37.63 (s, 2C), 37.61 (s, 2C), 37.45 (s, 2C). MS (ESI): m/z calc. for $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_3$: 630.13 $[\text{M} + \text{H}]^+$, found: 629.9.

Synthesis of **tris(2,2,2-trifluoroethyl) 8-(benzyloxy)pyrene-1,3,6-trisulfonate (3b)** was done by dissolving compound **1** (76.3 mg, 0.11 mmol), potassium carbonate (70.8 mg, 0.51 mmol), tetrabutylammonium iodide (7.0 mg, 0.02 mmol) and benzyl bromide (20 mg, 14 μ l, 0.12 mmol) in acetone (9 ml, 0.12 mol) and stirring this solution for 4 d under ambient conditions. Afterwards, additional benzyl bromide (12 mg, 8 μ l, 0.07 mmol) was

added and the reaction mixture was stirred for another 7 d. The solvent was removed in high vacuum and solid residues were dissolved in roughly 10 ml of ethyl acetate. The solution was extracted three times with 1 M hydrochloric acid, three times with deionized water and another two times with brine. The organic phase was dried over sodium sulfate and the solvent was removed. Purification of reaction product was conducted via column chromatography (silica, DCM/PE = 96:4, R_f = 0.7) and yielded the product as a yellow solid (53.7 mg, 0.07 mmol, 64 %). ^1H NMR (400 MHz, acetone- d_6) δ (ppm) = 9.40 (s, 1H), 9.31 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 9.25 (d, 3J = 9.54 Hz, 1H), 9.12 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 9.05 (d, 3J = 9.79 Hz, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.76 (m, 2H), 7.52 (m, 2H), 7.44 (m, 1H), 5.87 (s, 2H) 4.89 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, acetone- d_6) δ (ppm) = 156.49, 136.82, 134.94, 134.13, 132.38, 130.43 (s, 2C), 129.79 (s, 3C), 129.51, 128.98 (s, 2C), 128.88, 127.62, 126.00, 125.90, 124.67, 124.15, 122.02, 123.35 (q, 1J (C,F) = 265.00 Hz, 3 CF_3), 115.33, 72.83, 66.63 (q, 2J (C,F) = 37.00 Hz, 3 CH_2CF_3). MS (ESI): m/z calc. for $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{F}_9\text{O}_{10}\text{S}_3$: 794.00 $[\text{M} - \text{H}]^-$, found: 794.1.

Bis(2,2,2-trifluoroethyl)3-hydroxy-8-(N-methyl-N-(3-(trimethoxysilyl)propyl)-sulfamoyl)-pyrene-1,6-disulfonate (1c). Compound **1c** was synthesized according to existing procedures.^[S1] MS (ESI): m/z calc. for $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{F}_6\text{NO}_{12}\text{S}_3\text{Si}$: 796.05 $[\text{M} - \text{H}]^-$, found: 795.9.

Bis(2,2,2-trifluoroethyl)3-allyloxy-8-(N-methyl-N-(3-(trimethoxysilyl)propyl)-sulfamoyl)-pyrene-1,6-disulfonate (2c). 2 ml of the solution of compound **1c** in anhydrous DMF (2 ml, 26.0 mmol) were added to potassium carbonate (200 mg, 1.44 mmol) and tetrabutylammonium iodide (30 mg, 0.09 mmol), stored under inert atmosphere. Then an excess amount of allyl bromide (140 mg, 100 μl , 1.14 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 2–3 h at 60 °C. Reaction progression was followed by fluorescence spectroscopy, i.e. loss of orange fluorescence.

Bis(2,2,2-trifluoroethyl)3-benzyloxy-8-(N-methyl-N-(3-(trimethoxysilyl)propyl)-sulfamoyl)-pyrene-1,6-disulfonate (3c). 2 ml of the solution of compound **1c** in anhydrous DMF (2 ml, 26.0 mmol) were added to potassium carbonate (200 mg, 1.44 mmol) and tetrabutylammonium iodide (30 mg, 0.09 mmol), stored under inert atmosphere. Then an excess amount of benzyl bromide (144 mg, 100 μ l, 0.84 mmol) was added. The reaction mixture was stirred for 2–3 h at 60 °C. Reaction progression was followed by fluorescence spectroscopy, i.e. loss of orange fluorescence.

3. Characterization of substrates via optical spectroscopy

UV/Vis and Fluorescence Spectroscopy

Absorption spectra were recorded using a commercial spectrophotometer (Jasco, V-650), and fluorescence emission and excitation spectra with a commercial spectrofluorometer (Jasco, FP-6500) at micromolar concentrations, if not stated otherwise. Resolution was set to 1 nm.

Time-correlated single-photon counting

TCSPC measurements were performed as reported elsewhere^[2] with a home-built setup. Excitation was done with pulsed (40 MHz) laser diodes (Pico-Quant, LDH-P-C-405, λ = 405 nm and PicoQuant, LDH-P-C-470, λ = 470 nm respectively) which were controlled by a diode laser driver unit (PDL 808 MC SEPIA, PicoQuant). A single-photon avalanche detector (PDM 100ct SPAD, Micro Photon Devices) in combination with a photon counting device (PicoHarp 300, PicoQuant) was used for detection. The overall instrumental response function was ~300 ps (FWHM). Experimental data were analysed using the SymPhoTime (PicoQuant) software. IRF was taken with LUDOX solution.

Fluorescence quantum yield measurements

Determinations of fluorescence quantum yield were conducted in a commercial quantum yield spectrometer (Quantaaurus-QY, Hamamatsu) at micromolar dye concentrations. The wavelengths of absorption were scanned in 10 nm steps and the median of measured values around the peak of absorbance was taken.

Optical properties and spectra of substrates

Optical spectra of fluorescent dyes **3a** and **3b** were taken at 1 micromolar concentration in ethanol and are shown in figure S1. Furthermore, fluorescence spectra of dye **6** were obtained. Quantified values of optical properties of all utilized compounds are shown in table S1.

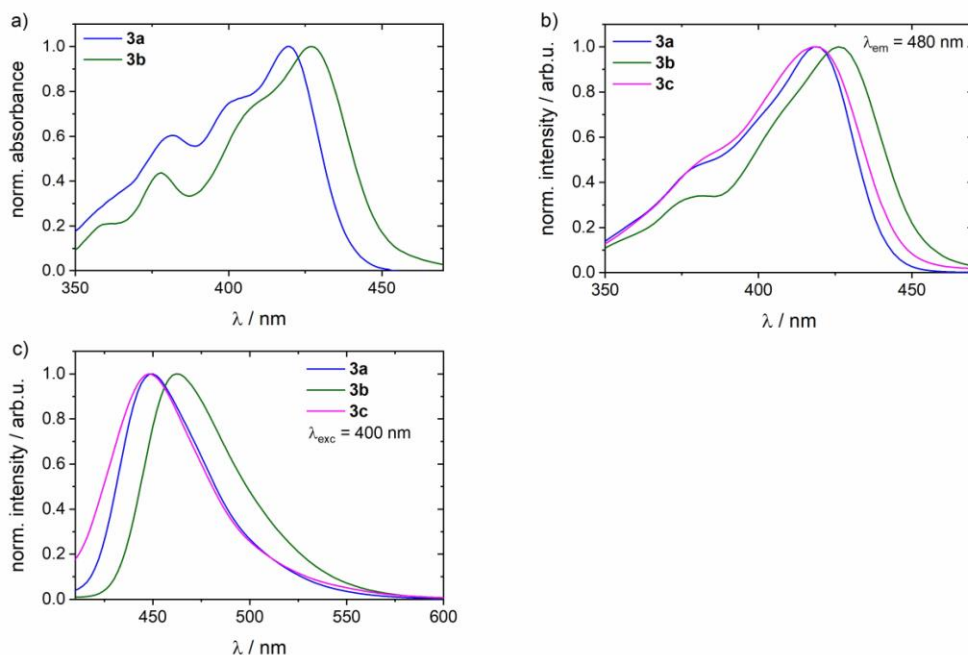


Figure S1. Optical spectra of **3a**, **3b** and **3c** a) Absorption spectra; b) fluorescence excitation spectra; c) fluorescence emission spectra.

Table S1. Optical properties of all synthesized dyes in ethanol. *immobilized on spherical silica particles, **discrepancy of values presumably due to partial agglomeration of silanes in solution

Compound	$\lambda_{\text{abs/exc max}} / \text{nm}$	$\lambda_{\text{em max}} / \text{nm}$	$\epsilon_{\lambda_{\text{max}}} / 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$\tau_{\text{fl}} / \text{ns}$ (± 0.08)	Φ_{fl} (± 0.1)
1c (ROH) ^[S1]	416 / 421**	451		0.59 / 2.88	-
1c (RO ⁻) ^[S1]	511 / 506**	546		5.74	0.84*
2a ^[S1]	419	450	2.13 ± 0.07	1.76	0.39
2b ^[S1]	426	462	4.44 ± 0.22	3.80	0.89
2c ^[S1]	419	448		2.59	0.56*
3a	419	449		1.66	0.40
3b	426	463		3.74	0.79
3c	418	448			

4. Ensemble experiments with synthesized dyes and Pd⁰

Solvent preparation for measurements with Pd⁰

All measurement which involved Pd⁰ were performed in pretreated ethanol: oxygen was removed and nitrogen added in three freeze-pump-thaw cycles. The solvent was stored subsequently under nitrogen.

Experimental procedure for ensemble experiments

Dyes were dissolved in pretreated ethanol at μM concentrations under nitrogen using standard Schlenk techniques. Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) was dissolved in pretreated ethanol in high μM concentrations under nitrogen using standard Schlenk techniques. In each case, a cuvette was charged with the respective solution, which would take the larger volume fraction in this experiment and sealed under nitrogen atmosphere. The second compound was then added by a syringe to initiate the experiment.

Data analysis for steady-state fluorescence quenching experiments

The data obtained in fluorescence quenching experiments was analyzed via linearized Stern-Volmer equation (1).^[S3]

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Pd] \quad (1)$$

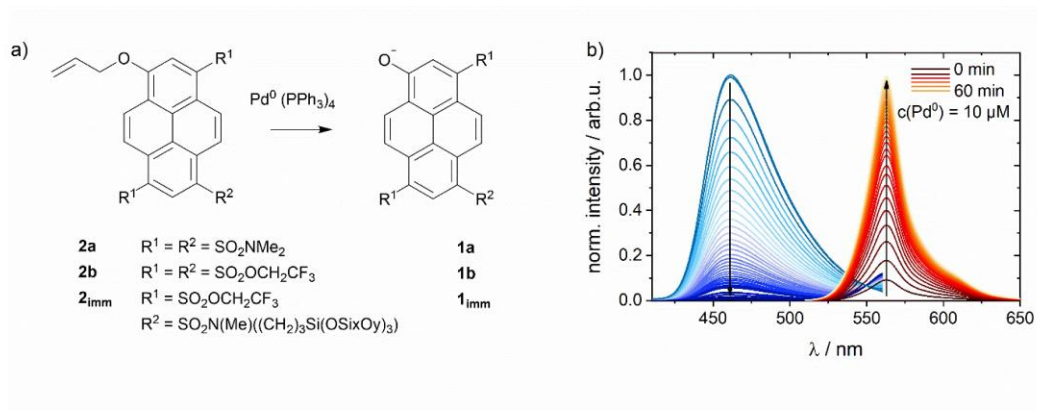


Figure S2. Desallylation of synthesized probes through Pd^0 [S1] a) Scheme of all reactive probes; b) emission spectra of compound **2b** (blue) during the deallylation reaction through $10 \mu\text{M}$ Pd^0 with $\lambda_{\text{exc}} = 420 \text{ nm}$ to form compound **1b** (orange) with $\lambda_{\text{exc}} = 500 \text{ nm}$ over 1800 s.

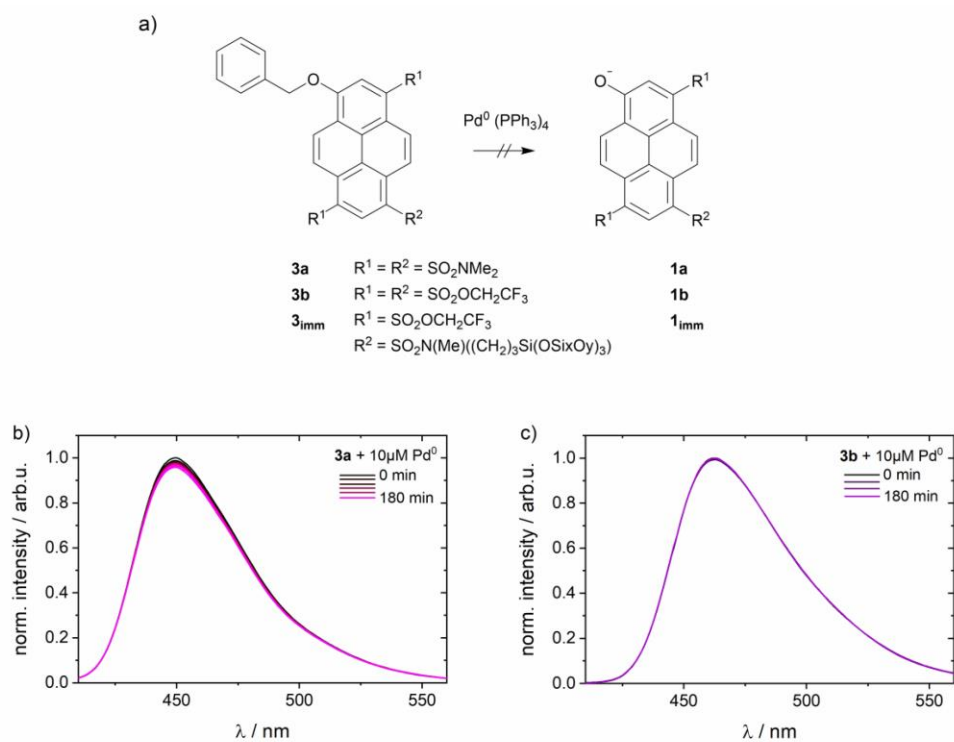


Figure S3. a) Scheme of reference probes; fluorescence emission spectra of b) **3a** and c) **3b** with excess Pd^0 over time.

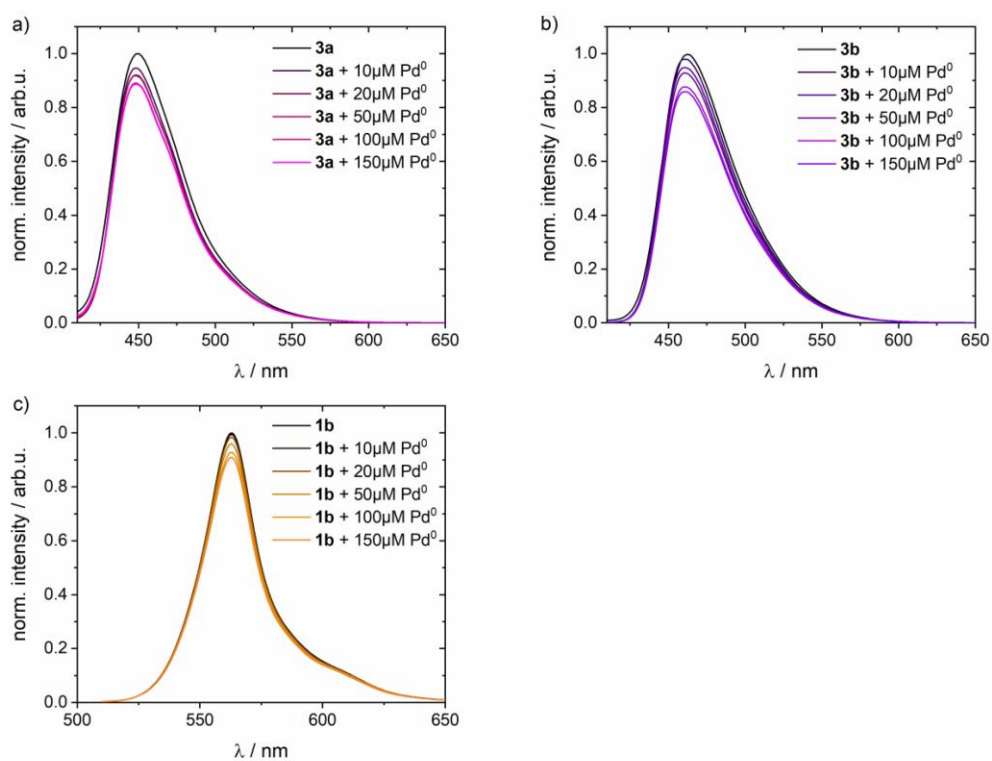


Figure S4. Fluorescence emission spectra of benzylated derivatives a) **3a**, b) **3b**, $\lambda_{\text{exc}} = 400$ nm, and deprotonated c) **1b**, $\lambda_{\text{exc}} = 500$ nm, in ethanol with various amounts of Pd^0 after 10 minutes of addition.

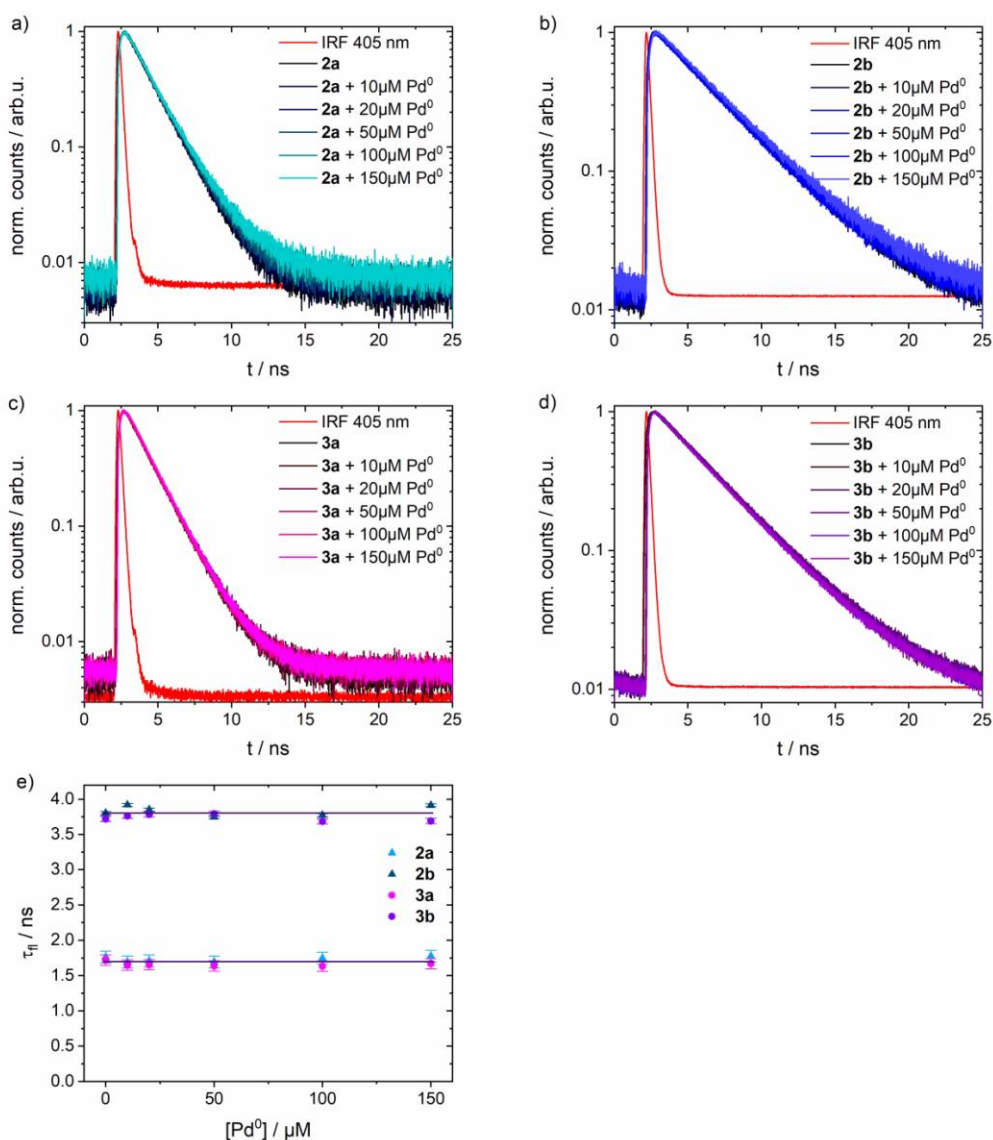


Figure S5. TCSPC measurements of a) **2a**, b) **2b** c) **3a**, d) **3b**, $\lambda_{\text{exc}} = 405$ nm, $\lambda_{\text{det}} = 440 - 500$ nm in ethanol with various amounts of Pd^0 ; e) Obtained fluorescence lifetimes of substrates **2a**, **2b**, **3a** and **3b**, under influence of Pd^0 (error bars from utilized fit).

5. Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) experiments

Fluorescence Correlation Spectroscopy Setup

Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) curves were measured with a custom-built setup.^[S4] The excitation was realized by a continuous wave laser at 445 nm (Coherent, OBIS 445) or 488 nm (Piccaro, Soliton), which was guided into an inverted microscope (Zeiss, Axiovert 200). The laser beam was reflected by a dichroic mirror into the multi-immersion objective (Zeiss, LCI Plan-Neofluar 63x/1.3 Imm Korr DIC M27 in water immersion mode) and then focused through the cover slide (Assistent, 0.17 ± 0.01 mm) of a self-constructed sample cell (see Fig. S6). Emitted fluorescence was collected by the same objective and passed the dichroic mirror. It was then focused through a pinhole of 50 μ m diameter and parallelized. After filtering by a band pass filter (educt: HQ 470/30 product: HQ 570/60), the fluorescence light passed a 50:50 beam splitter and was focused onto two avalanche photodiodes (Perkin Elmer Optoelectronics, SPCM-14-AQR). The photodiodes were connected to a hardware correlator (correlator.com, FLEX-02-01D/C), operated in the cross-correlation mode.

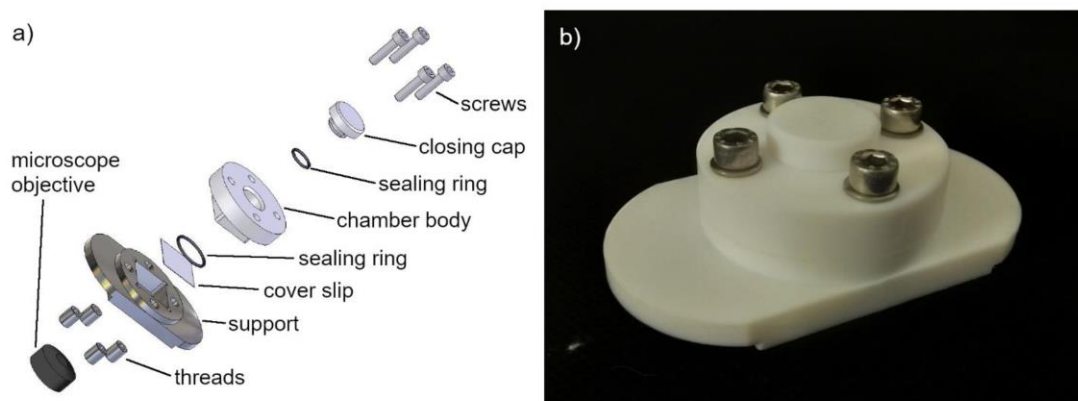


Figure S6. Scheme of FCS-measurement chamber; a) in detail including all involved parts; b) assembled as whole.

FCS sample preparation and measurement

All measurements were conducted in the self-constructed sample cell (see Fig. S6), which allowed to measure under nitrogen atmosphere and prevented evaporation of the solvent. 10 nM dye-solutions of **2b** and **3b**, respectively, were prepared in degassed ethanol and measured with additional 100 μ M tetrakis(triphenylphosphine)Pd0 and excitation at $\lambda_{\text{exc}} = 445$ nm. To examine the interaction of Pd⁰ with the reaction product **1b**, measurements of substrate **2b** after initiation of the reaction with illumination at $\lambda_{\text{exc}} = 488$ nm (product) were conducted.

For reference measurements, the dye-solutions in pure degassed ethanol were utilized. To study the reaction product without Pd-catalyst a 10 nM solution of compound **1b** with 100 μ M NaOH for deprotonation was prepared in degassed ethanol.

An intensity dependent dark state was observed in the pure dye-solution of **1b** with NaOH as well as in solutions with additional Pd-catalyst or 1 mM ligand PPh₃ (data not shown), as long as the sample was degassed. This dark state disappeared after streaming air through the solution. Obtained autocorrelation curves were fitted with eq. (2).

$$G(\tau) = \frac{1}{\langle N \rangle} \cdot \left(\frac{1}{1 + \frac{\tau}{\tau_{\text{diff}}}} \right) \cdot \left(1 + \frac{k_{\text{dark,eff}}}{k_{\text{bright}}} \cdot e^{-(k_{\text{dark,eff}} + k_{\text{bright}}) \cdot \tau} \right) \quad (2)$$

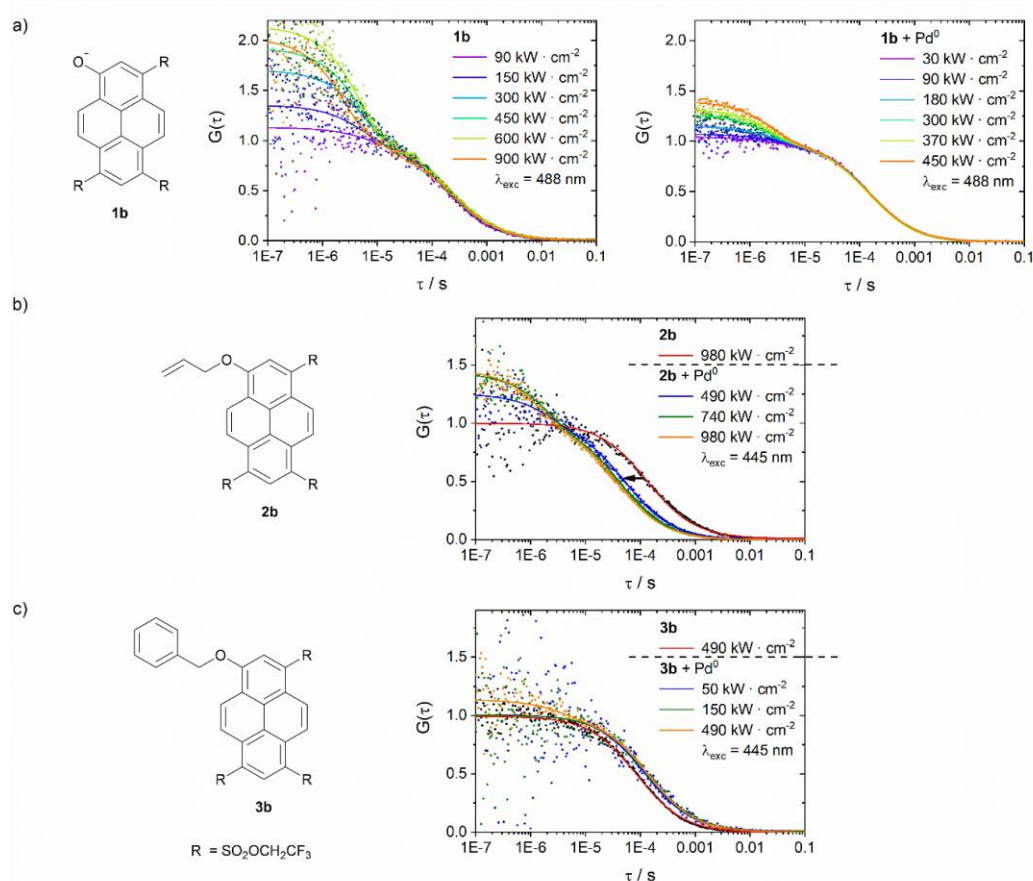


Figure S7. Normalized fluorescence correlation curves of a) compound **1b** in ethanol with addition of base for deprotonation (left) in comparison to the situation as product of the reaction of **2b** with Pd⁰ (right); b) compound **2b** in ethanol in comparison to the situation in presence of Pd⁰ (fig. 1b main text); c) compound **3b** in ethanol in comparison to the situation with influence of Pd⁰. All compounds were recorded at varying illumination intensities; solid lines represent fits with eq. (2).

A faint , intensity-dependent reduction of τ_{diff} is seen in a), b) and c), which is interpreted as signature of photobleaching.^[S5] Addition of Pd⁰ to compound **2b** reduces the apparent diffusion time τ_{diff} by a factor of 4 (fig. 1c main text).

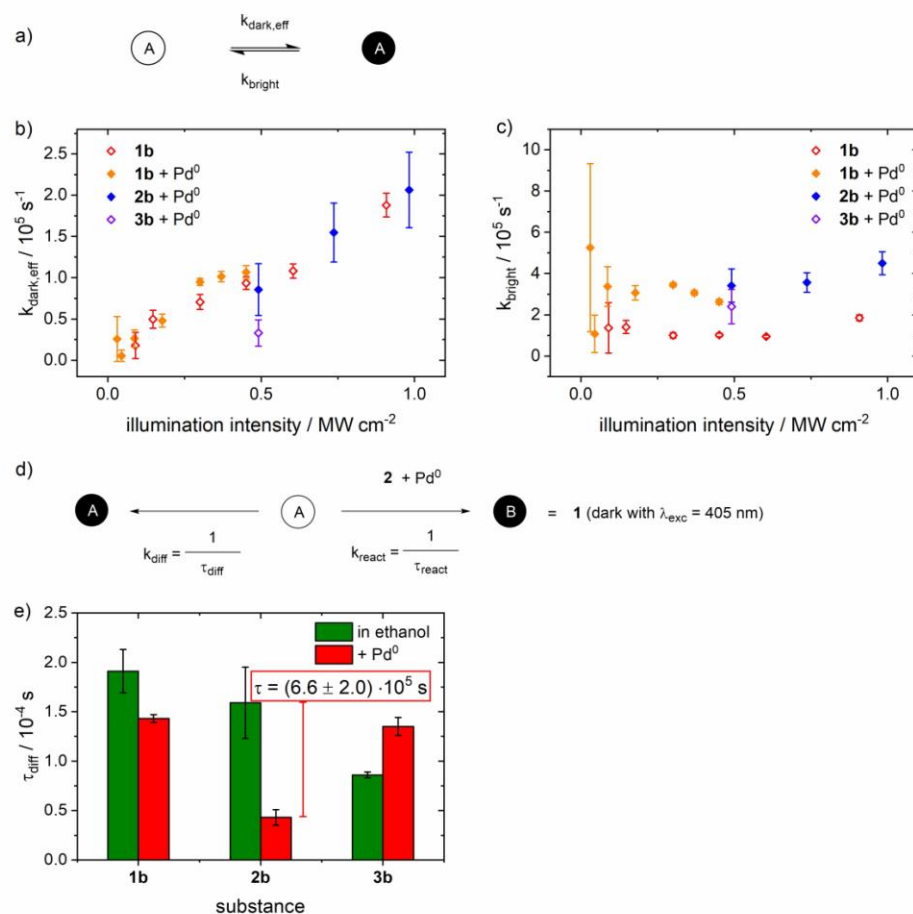


Figure S8. a) Scheme of dark state equilibrium of compounds **1b**, **2b** and **3b**, depicted as A; extracted rates for b) dark state formation $k_{\text{dark,eff}}$, c) decay of dark state k_{bright} , i.e. bright state formation, d) scheme of contributions to measured mean diffusion times τ_{diff} and e) τ_{diff} from fits of autocorrelation functions with eq. (2) of **1b**, **2b** and **3b** with and without influence of Pd^0 , dependent on illumination intensities (measurements of **3b** with no observable dark state formation are not included).

6. Single-molecule (SM) microscopy

Surface cleaning and sample preparation

Quartz slides were at first exposed to hot peroxy monosulfuric acid, ("piranha" solution; 75% conc. sulfuric acid, 25 % hydrogen peroxide solution (33 %)), which was left to cool off over night. Afterwards the slides were washed with deionized water and immersed in a bath of 2 % Hellmanex III for 30 min at 50 °C and thoroughly rinsed with deionized water. Finally, the glass supports were brought into a bath of methanol for 1 h. The glasses were dried and stored in a desiccator under reduced pressure.

For immobilization of silanized compounds **5** and **6**, the previously demonstrated immobilization routine B on methyl silane was used.^[S1]

Microfluidic device

Single-molecule experiments were conducted in a custom designed flow chamber.^[S1]

In brief, quartz supports with immobilized dye molecules served as the housing cover of a microfluidic device. The housing base was a microscopy coverglass (thickness 0.17 ± 0.01 mm, Menzel). Both sides were inserted into a 3D-printed frame with integrated channels and sealed off with PMMA. Through these channels pure degassed ethanol or an ethanolic solution of 100 μ M Pd-catalyst was pumped in low pressure (to prevent leakage) in a flow rate of 1 ml/min through teflon tubing by a peristaltic pump (ISM795, Ismatec, IDEX).

Single-Molecule Microscopy

Single-molecule measurements were conducted with a custom-built prism-based TIRF microscope in combination with custom built microfluidic devices as utilized in references^[S1,S6] (see fig. S9). Fluorophores were simultaneously excited with continuous-wave lasers (Coherent, Cube, $\lambda = 405$ nm resp. Picarro, Soliton, $\lambda = 488$ nm) at roughly $50 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$. Videos were recorded with a time resolution of 100 ms with an area of observation of $78 \times 39 \mu\text{m}^2$. Fluorescence detection was achieved in spatially separated

“blue” (417 – 477 nm) and “orange” (500 – 600 nm) detection channels. Images of immobilized substrates in water are seen in figure S10.

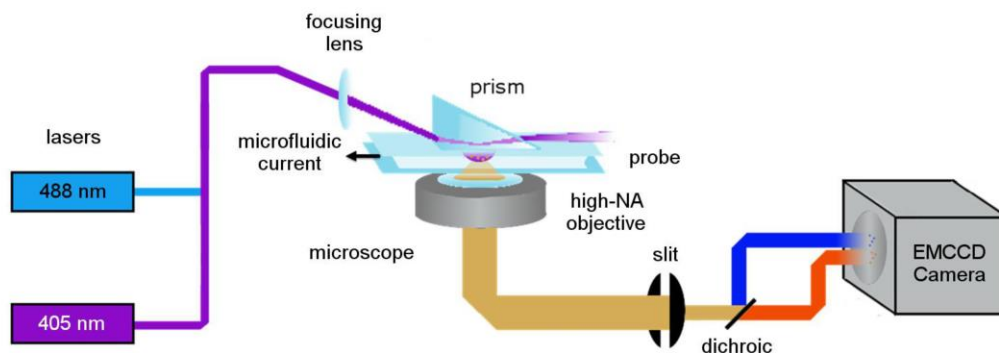


Figure S9. Scheme of TIRF-microscopy-setup.

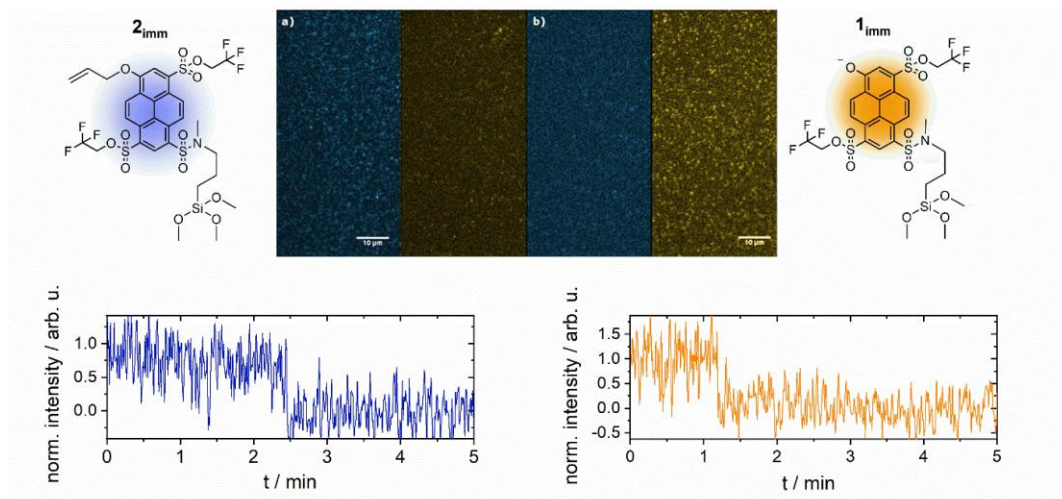


Figure S10. Images of labeled surface with a) **2_{imm}** in water at pH 3 and b) **1_{imm}** in water at pH > 12 in the blue and orange detection channels respectively at the bottom corresponding single-molecule emission trajectories are shown.

Single-molecule experiments and data extraction

Single-molecule reference measurements of starting materials **2_{imm}** and **3_{imm}** were conducted in ethanol on 12 samples for **2_{imm}** from three independent preparations and three samples for **3_{imm}**. 3 videos were recorded in each measurement with one sample, one video before, one during and one after addition of Pd⁰. This was done with dual-wavelength, cw excitation. In the case of samples with **2_{imm}** one measurement per sample on product **1_{imm}** was executed after rinsing the sample with ethanol.

Two samples showed no significant reactivity due to low dye concentration, and one sample exhibited two separated events of fluorescence rise in the orange channel. From the rest of the samples (9 samples), 73 to 407 single-molecule trajectories were obtained per video. For trajectory selection, the criterion of single bleaching steps, i.e. loss of blue substrate fluorescence in a single frame was utilized. In total, 2330 trajectories of **2_{imm}** were obtained in pure ethanol and 1741 after addition of Pd⁰. In addition, 842 trajectories of **3_{imm}** were extracted from measurements in pure ethanol and 410 trajectories of **3_{imm}** were extracted from measurements after addition of Pd⁰.

Correlation analyses

The obtained trajectories were stacked successively to obtain one paired data set per measurement. Correlation curves from these data sets were calculated using autocorrelation function eq. (3) and crosscorrelation function eq. (4), implemented in Matlab.

$$\hat{G}(\tau) = \frac{1}{T} \cdot \sum_{t=0.1s}^{T-\tau} (y_t - \bar{y}) \cdot (y_{t+\tau} - \bar{y}) \quad (3)$$

$$\hat{G}(\tau_{i,j}) = \frac{1}{T} \cdot \sum_{t=0.1s}^{T-\tau_{i,j}} (y_{i,t} - \bar{y}_i) \cdot (y_{j,t+\tau_{i,j}} - \bar{y}_j) \quad (4)$$

The correction of correlation curves was done as described by Bacia et.al.^[S7] For that purpose, first bleed-through ratios were estimated, κ_{Bo} as the brightness of the “blue” dye in the “orange” channel and κ_{Ob} vice versa. This was done from integrated SM brightness over the first 3 s. \hat{H}_o^B constitutes the brightness from the “blue” emitting dyes **2imm** and **3imm**, respectively, in the “orange” channel and \hat{H}_b^B from the “blue” emitting dyes in the “blue” channel. \hat{H}_b^O and \hat{H}_o^O for “orange” emitting dye **1imm** were determined the same way. As input, the data from reference measurements before and after the reaction, i.e. without Pd⁰, was taken.

$$\kappa_{Bo} = \frac{\hat{H}_o^B}{\hat{H}_b^B} \quad ; \quad \kappa_{Ob} = \frac{\hat{H}_b^O}{\hat{H}_o^O} \quad (5)$$

With these bleed-through ratios around 12 % in both cases, the corrected correlation curves were determined with eq. (6) for blue autocorrelation and (7) for cross-correlation.

$$G_b(\tau) = \hat{G}_b(\tau) + \kappa_{Ob}^2 \hat{G}_o(\tau) + 2\kappa_{Ob} \hat{G}(\tau_{i,j}) \quad (6)$$

$$G(\tau_{i,j}) = \kappa_{Bo} \hat{G}_b(\tau) + \kappa_{Ob} \hat{G}_o(\tau) + (1 + \kappa_{Bo}\kappa_{Ob}) \hat{G}(\tau_{i,j}) \quad (7)$$

Obtained curves are shown in fig. S11 and extracted rate constants are compiled in fig. S16.

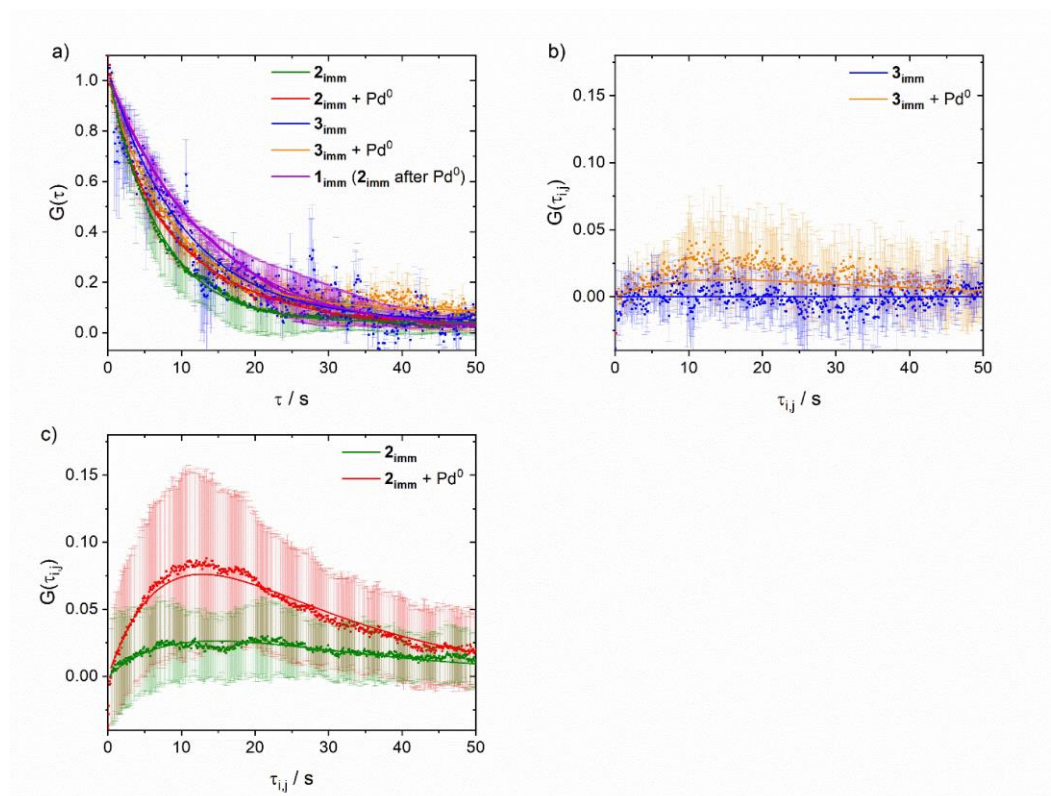


Figure S11. a) Mean autocorrelation curves of fluorescence trajectories of immobilized substrates on 9 samples for 2_{imm} resp. 3 samples for 1_{imm} and 3_{imm} in their associated emission channels; b) mean cross-correlation of fluorescence trajectories between the „blue“ and „orange“ channel of compounds 3_{imm} in pure ethanol and 3_{imm} with Pd^0 with associated standard deviations for each curve, calculated from the results of 3 different measurements; c) Mean cross-correlation of fluorescence intensities in the „blue“ and „orange“ channel of compound 2_{imm} without and with Pd^0 with standard deviations from 9 measurements (fig. 3a main text).

Threshold analysis

The trajectories were analyzed through thresholding to extract last points in time for fluorescence emission related to the starting material and first points in time for emission of formed product of every trajectory. Here, modification of single-molecule trajectories was performed to reduce error due to noise and simplify data extraction at the cost of time resolution. To single out fluorescence trajectories with a change from starting material to product fluorescence, a threshold (fig. S12) was introduced. This was done similar to previous analysis to identify the times of a clear change in optical properties. The threshold was deduced by fitting the normalized intensity histogram with a gauss fit at zero emission and taking the intensity at $\sim 2.6 \sigma$. That means, $> 99 \%$ of values, which are expected to correspond to zero emission are excluded through the threshold. A binary signal from fluorescence trajectories was then created through this threshold. Observation of orange emission for at least one second was counted as product formation. Last points in time of blue fluorescence and time of emergence of orange emission were extracted with neglect of blinking events. From this data, count histograms (fig. S13) were created. From these curves, kinetic parameters with their related standard deviations were derived and compared relative to each other.

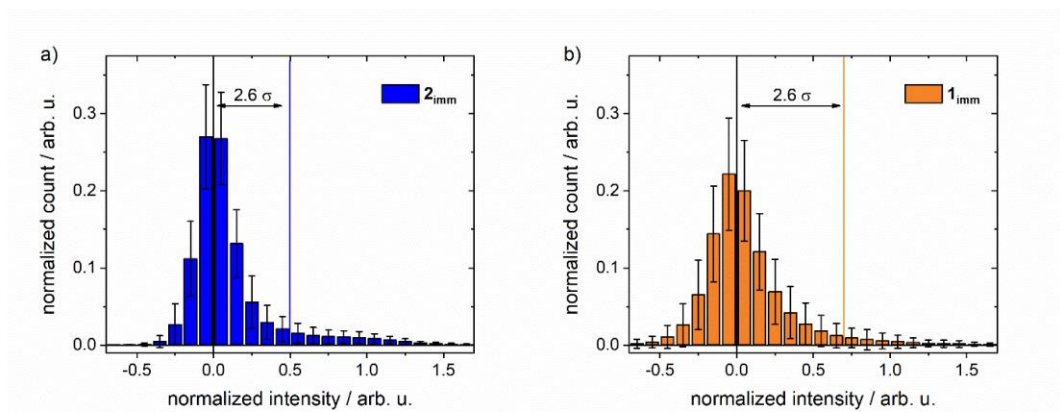


Figure S12. Histogram of normalized fluorescence intensities in SM trajectories with deduced thresholds: the blue line for starting material **2_{imm}** and the orange line for product **1_{imm}** (see SI p. 26 for details).

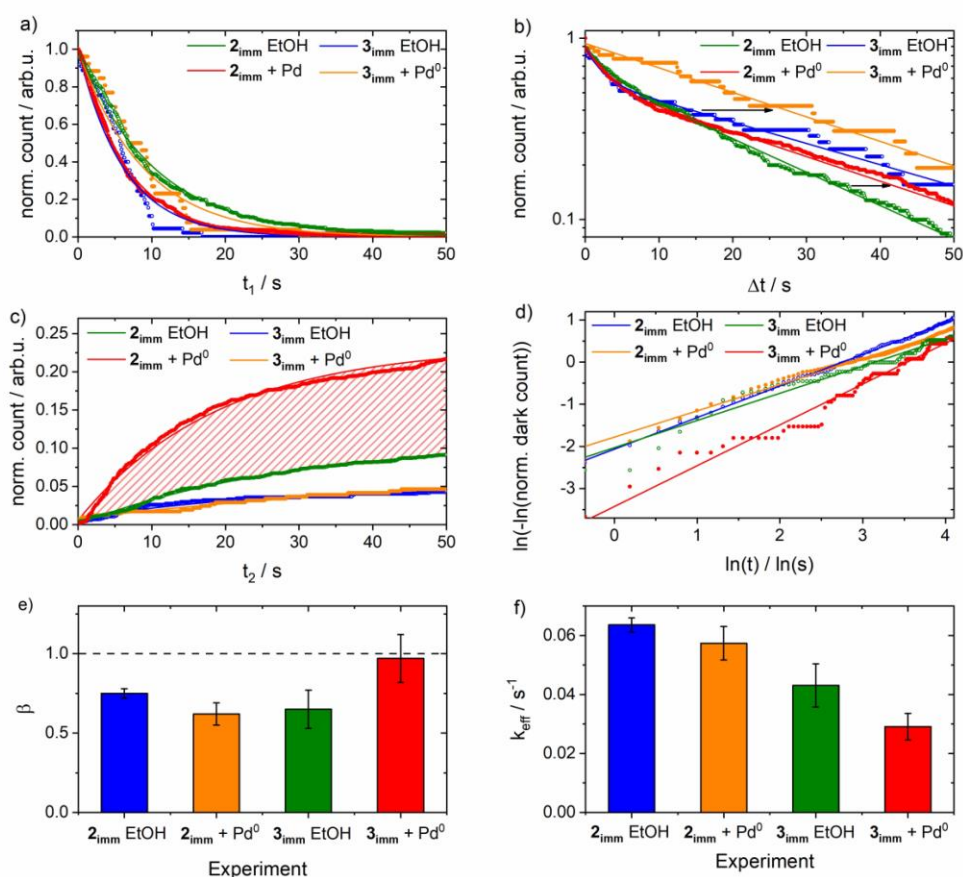


Figure S13. Histograms of summarized a) last blue emission times t_1 , b) lag times Δt and c) first orange emission times t_2 (fig. 3c, d main text) of all traces, where an orange fluorescence rise was recognized, regarding the previously set intensity thresholds; d) Weibull analysis of dark state kinetics; e) resulting β -values and f) k_{eff} -values of Weibull analysis.

Signal-pair analysis

In a signal-pair analysis^[S8,S9] the intensities of all trajectories were filled in a 2-D histogram of blue against orange intensity with one histogram for every point in time. From these histograms signal-pairs of starting material and product were deduced and their population progression over time was extracted. This method shows the development of spectroscopic species over time (fig. S14). Starting material and product populations are followed (SI fig. S15), still accompanied by a large noise. Although spectral diffusion^[S10] during transformation to the product was noticed, its amplitude is a constant fraction of the product formation signal in measurements with Pd⁰ as well as reference measurements, i.e. in pure ethanol. Therefore, it could not be traced back to the catalytic cycle (see main text, scheme 2).

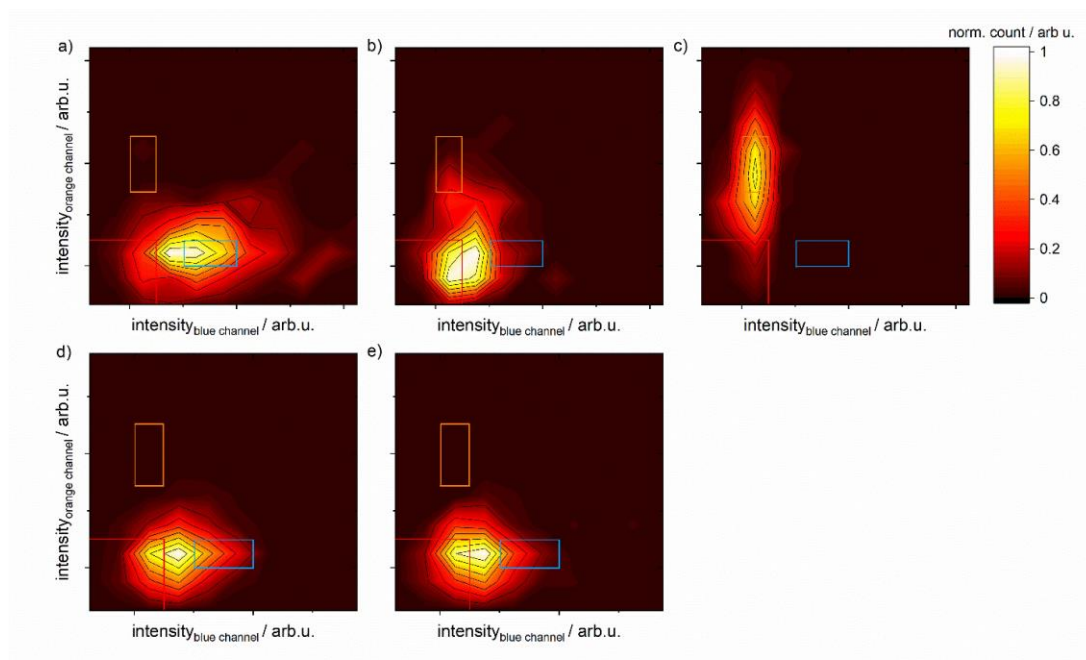


Figure S14. Signal-pair histograms from over 100 SM-trajectories at a time delay of 3 s; a) of **2_{imm}** in a reference measurement without Pd⁰; b) of **2_{imm}** with addition of Pd⁰; c) of **1_{imm}** created through reaction of **2_{imm}** after removal of Pd⁰; d) of **3_{imm}** in a reference measurement; e) of **3_{imm}** with addition of Pd⁰, binned for 1 s; solid squares represent ranges of signal-pairs for starting material (blue) and product (orange); solid red lines represent formal thresholds for starting material and product separation, in regard to deduced thresholds from fig. S12. From drawn boxes, populations of substrates **3_{imm}**, **2_{imm}** (cyan) and **1_{imm}** (orange) were extracted. Ranges of boxes were set according to minimal offset of resulting noise.

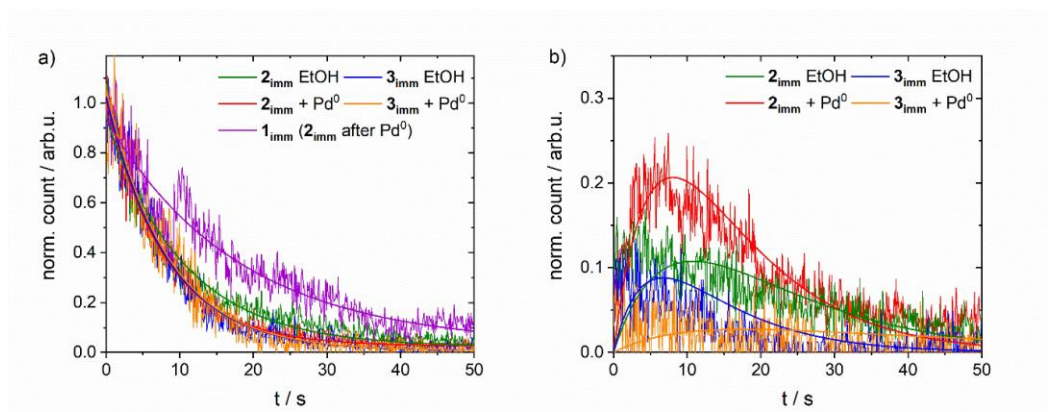
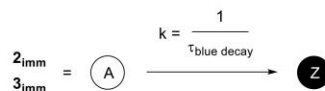


Figure S15. a) Summarized decaying signal-pair populations of the various immobilized species 1_{imm} , 2_{imm} and 3_{imm} with and without influence of Pd ; b) summarized signal-pair populations of product formation during the different experiments.

The extracted rate constants are compiled and compared in fig. S16.

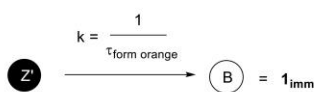
Determination of kinetic parameters

For a comparative analysis of single-molecule data, obtained curves were fitted mono- or biexponentially,^[S6] see figures S11, S13 and S15. For this purpose, eq. (8) or a biexponential equivalent was used.



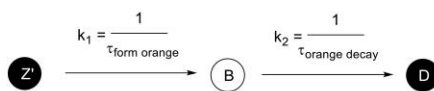
$$[A]_t = [A]_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{\text{blue decay}}}} \quad (8)$$

Product formation in threshold analysis (fig. S13) were fitted monoexponentially with eq. (9).



$$[B]_t = [B]_{\infty} \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{\text{form,orange}}}} \right) \quad (9)$$

For analysis of product formation, the corresponding signal-pair population and crosscorrelation of trajectories was fitted with a biexponential equation (10). Here rising and decaying kinetic constants were received.

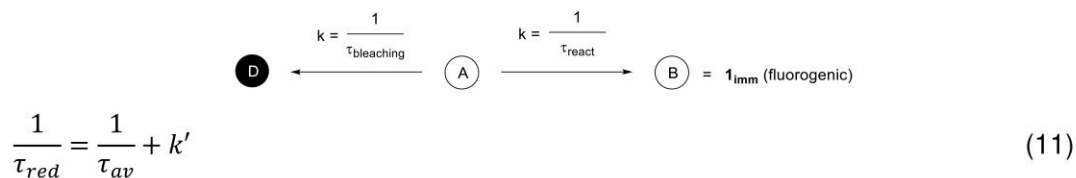


$$[B]_t = [B]_0 \cdot \frac{\frac{1}{\tau_{\text{form,orange}}}}{\frac{1}{\tau_{\text{orange decay}}} - \frac{1}{\tau_{\text{form,orange}}}} \cdot \left(e^{-\frac{t}{\tau_{\text{form,orange}}}} - e^{-\frac{t}{\tau_{\text{orange decay}}}} \right) \quad (10)$$

Error margins of resulting reaction times were calculated according to variations between the various measurements.

Comparison with reaction rate from fluorogenic approach

The predicted reduced reaction time τ_{red} was calculated from average survival time τ_{av} prior to bleaching from the autocorrelation decay and the monoexponential product formation rate k' from previous ensemble measurements^[S1] in ethanol in eq. (11).



τ_{red} was calculated with $k' = (1.58 \pm 0.38) \cdot 10^{-2} s^{-1}$ from ^[S1] and $\tau_{av} = 6.9 \pm 2.3 s$.

Efficiency of photoactivated deallylation of 3imm

Deallylation quantum yield $\Phi_{ph, reac}$ was calculated according eq. (12) from the photolytic deallylation rate $k_{ph, reac}$ and excitation rate k_{exc} , i.e. illumination intensity I_{illum} and estimated absorption cross section σ_{Abs} ($\sim 0.65 \text{ \AA}^2$).

$$\Phi_{ph, reac} = \frac{k_{ph, reac}}{k_{exc}} = \frac{1}{\tau_{form, orange}} \cdot \frac{h\nu}{I_{illum} \sigma_{Abs}} \quad (12)$$

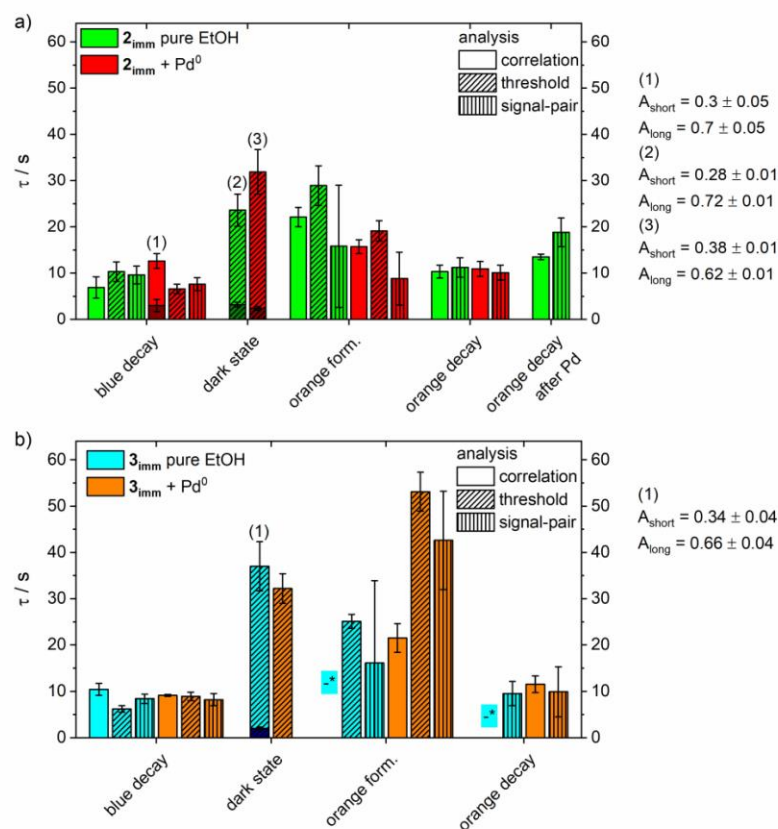
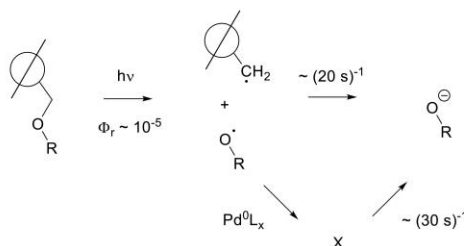


Figure S16. Obtained kinetic constants $\tau_{1/e}$ for 1. decay of blue fluorescence, 2. the lag time, i.e. dark state, 3. orange fluorescence formation and 4. orange fluorescence decay. These constants were extracted from SM trajectories through correlation, thresholding and signal-pair analyses of experiments with a) 2_{imm} (fig. 4 main text) and b) 3_{imm} . For biexponential fits, the corresponding amplitudes for the short and the long components are shown under (1), (2) and (3); *experiments with no significant correlation amplitude.

Photochemical pathways

From obtained results in photochemical decomposition pathways for compounds **2a, b** and **3a, b** as well as **2_{imm}** and **3_{imm}** were assumed. Through Pd⁰, the formation of a stabilized non-fluorescent species X may be catalyzed as seen in scheme S2 with respect to the elongated dark state depletion kinetics in experiments with **2_{imm}** and **3_{imm}** with Pd⁰. Yet, no other evidence for the existence of such a species or other indications towards its constitution exists.



Scheme S2. Supposed reaction mechanism of photochemical bypass reaction.

7. NMR-Spectra

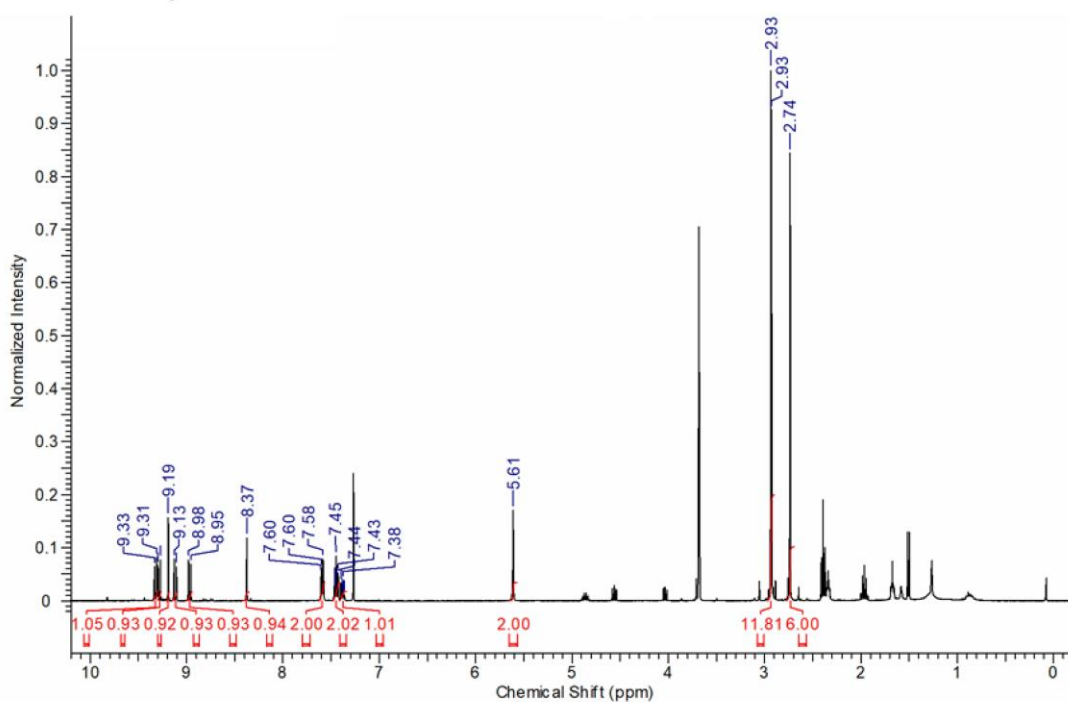


Figure S17. ^1H NMR spectrum of compound **3a** in trichloromethane-d.

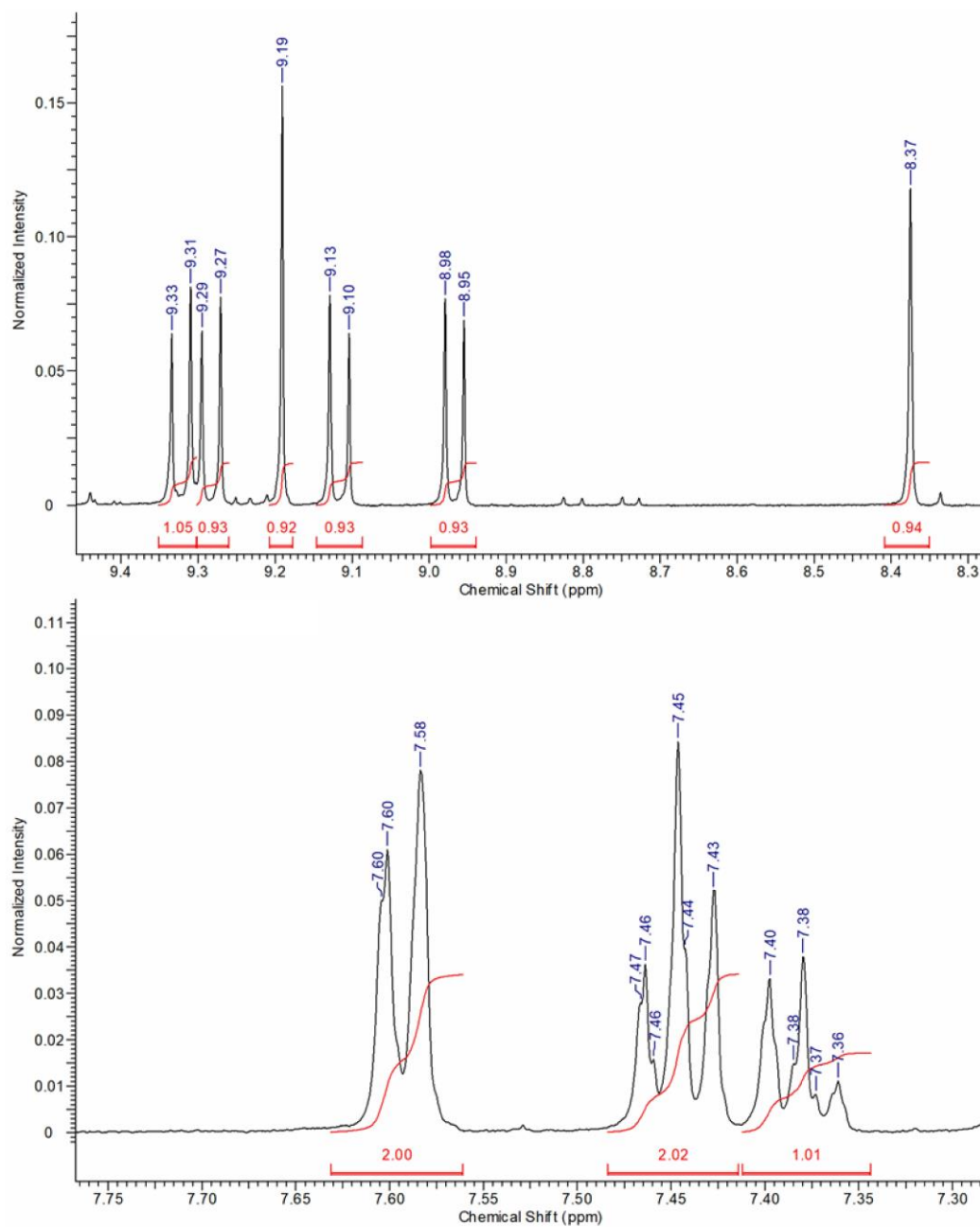


Figure S18. Enlarged domains of ^1H NMR spectrum of compound **3a** in trichloromethane-d.

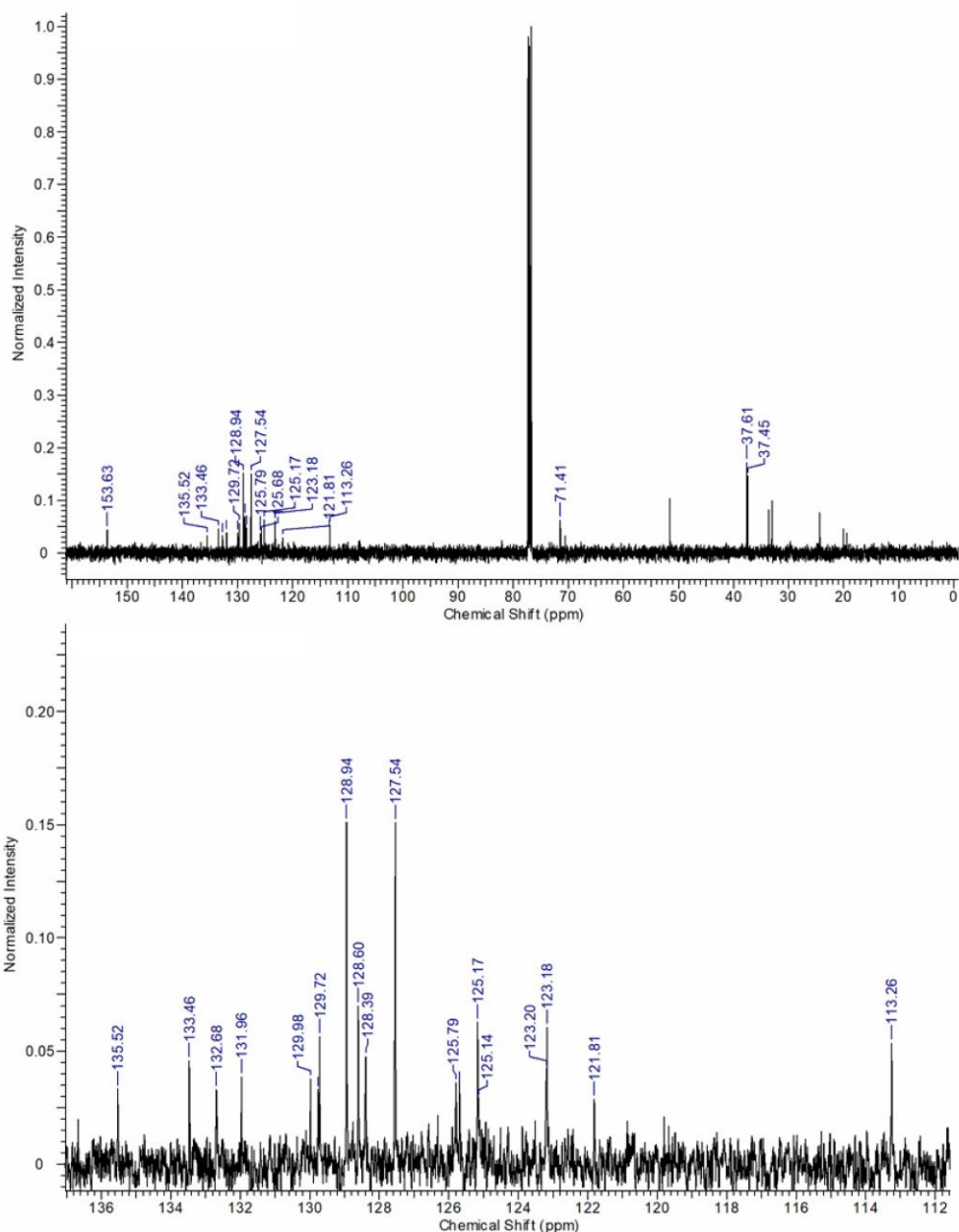


Figure S20. ^{13}C NMR spectrum of compound **3a** in trichloromethane- d (top: full spectrum, bottom: zoomed).

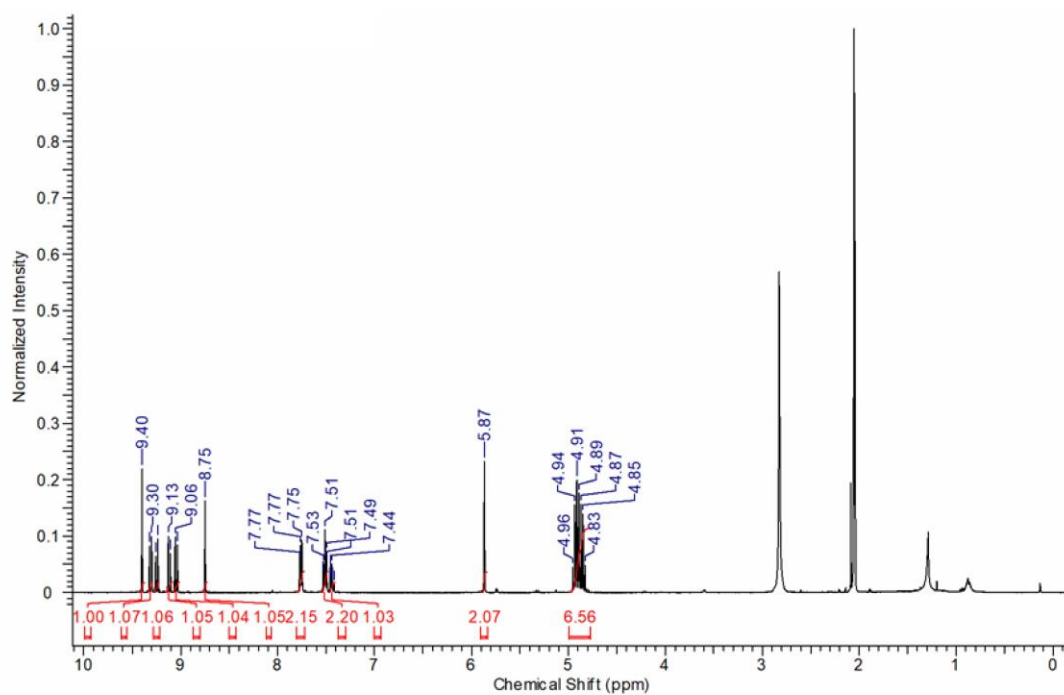


Figure S21. ^1H NMR spectrum of compound **3b** in acetone- d_6 .

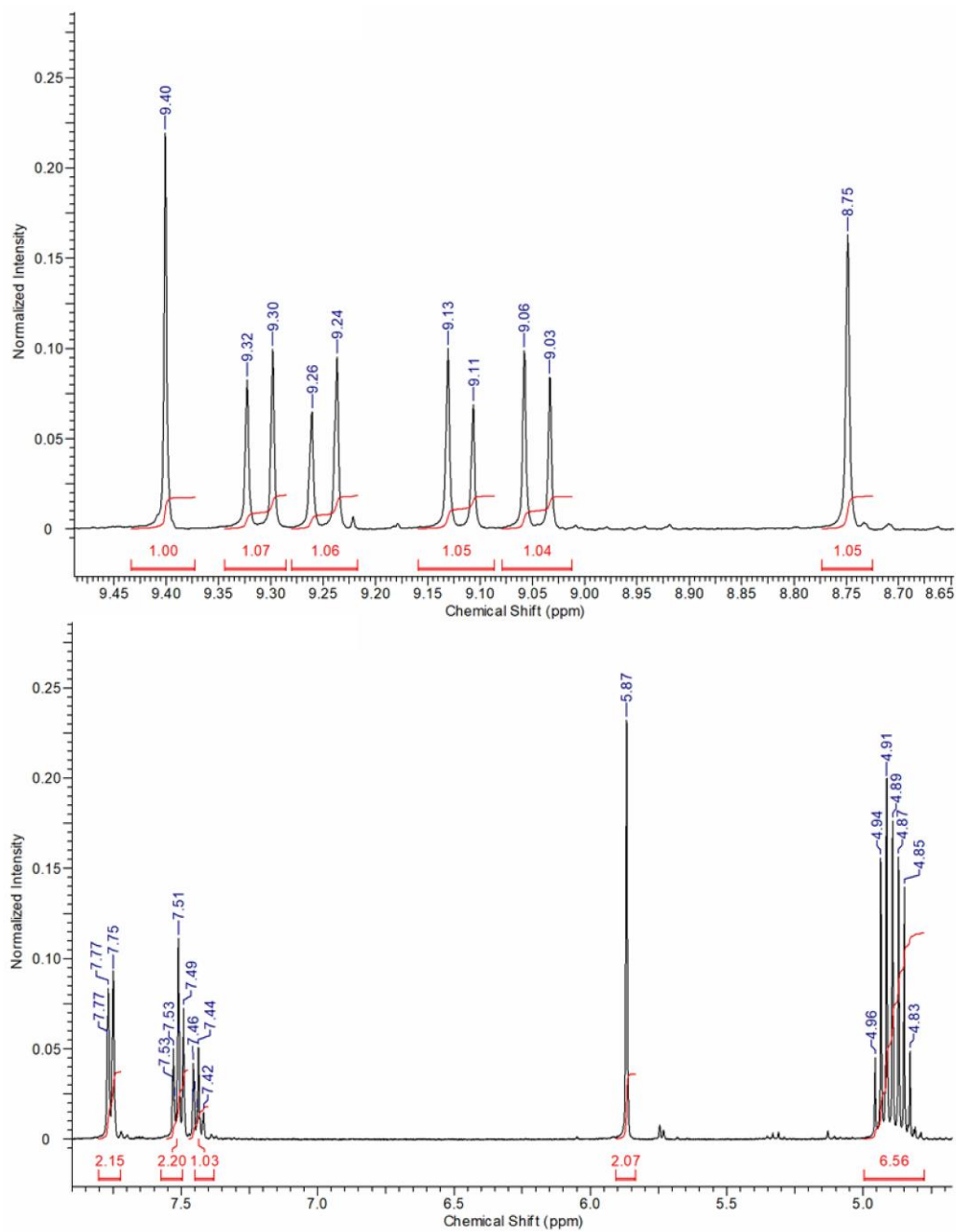


Figure S22. Enlarged domains of the ^1H NMR spectrum of compound **3b** in acetone- d_6 .

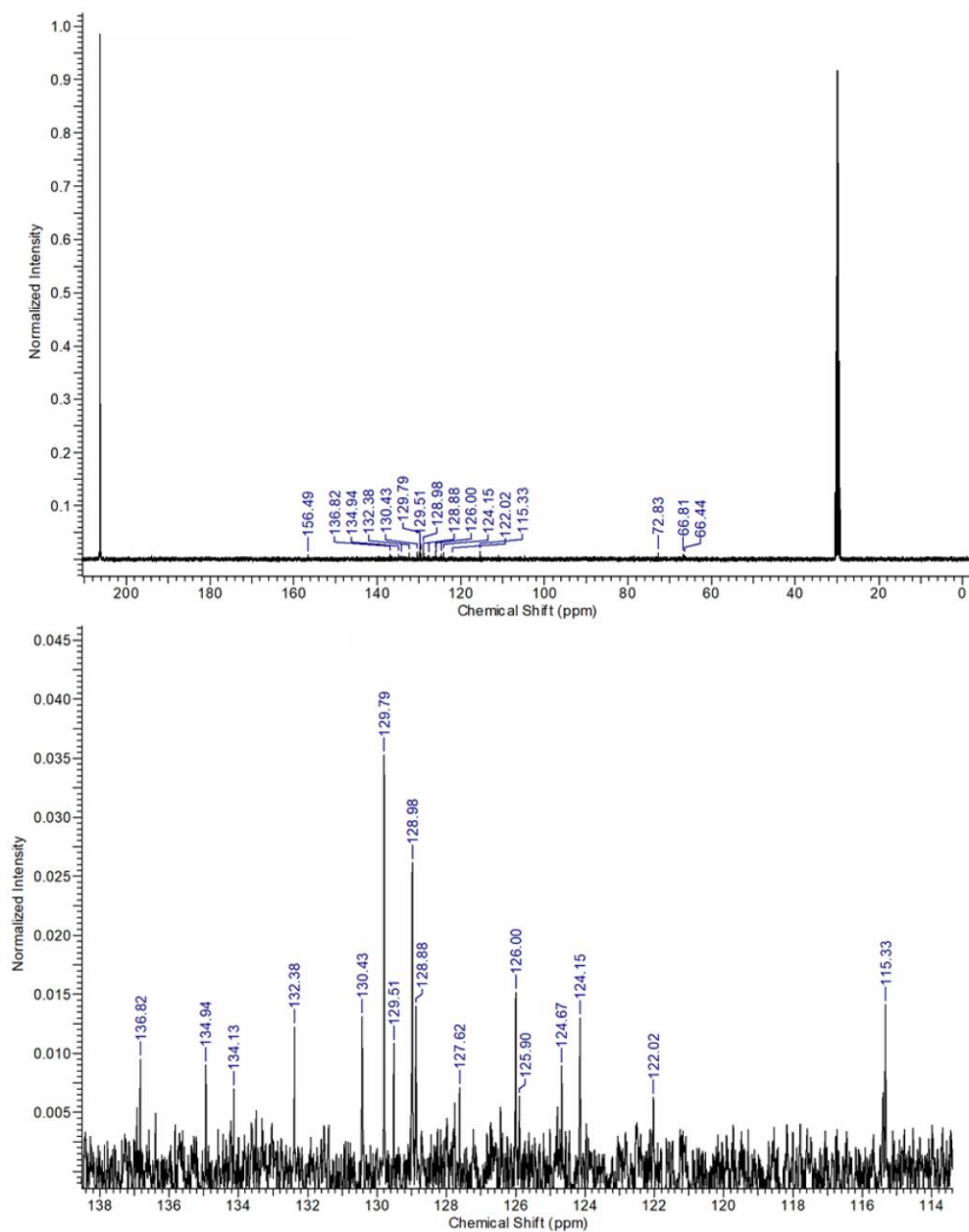


Figure S23. ^{13}C NMR spectrum of compound **3b** in acetone- d_6 (top: full spectrum, bottom: zoomed).

Index of schemes, tables and figures

Scheme S1. Synthesis of allyloxy ensemble probes 2a and 2b , benzyloxy ensemble probes 3a and 3b , as well as substrates 2c and 3c for immobilization and single-molecule measurements. ^[S1]	4
Figure S1. Optical spectra of 3a , 3b and 3c a) Absorption spectra; b) fluorescence excitation spectra; c) fluorescence emission spectra.....	9
Table S1. Optical properties of all synthesized dyes in ethanol. *immobilized on spherical silica particles, **discrepancy of values presumably due to partial agglomeration of silanes in solution	10
Figure S2. Desallylation of synthesized probes through Pd ⁰ ^[S1] a) Scheme of all reactive probes; b) emission spectra of compound 2b (blue) during the deallylation reaction through 10 μM Pd ⁰ with λ _{exc} = 420 nm to form compound 1b (orange) with λ _{exc} = 500 nm over 1800 s.....	12
Figure S3. a) Scheme of reference probes; fluorescence emission spectra of b) 3a and c) 3b with excess Pd ⁰ over time.....	13
Figure S4. Fluorescence emission spectra of benzylated derivatives a) 3a , b) 3b , λ _{exc} = 400 nm, and deprotonated c) 1b , λ _{exc} = 500 nm, in ethanol with various amounts of Pd ⁰ after 10 minutes of addition.....	14
Figure S5. TCSPC measurements of a) 2a , b) 2b c) 3a , d) 3b , λ _{exc} = 405 nm, λ _{det} = 440 – 500 nm in ethanol with various amounts of Pd ⁰ ; e) Obtained fluorescence lifetimes of substrates 2a , 2b , 3a and 3b , under influence of Pd ⁰ (error bars from utilized fit).	15

Figure S6. Scheme of FCS-measurement chamber; a) in detail including all involved parts; b) assembled as whole.	16
Figure S7. Normalized fluorescence correlation curves of a) compound 1b in ethanol with addition of base for deprotonation (left) in comparison to the situation as product of the reaction of 2b with Pd ⁰ (right); b) compound 2b in ethanol in comparison to the situation in presence of Pd ⁰ (fig. 1b main text); c) compound 3b in ethanol in comparison to the situation with influence of Pd ⁰ . All compounds were recorded at varying illumination intensities; solid lines represent fits with eq. (2).	18
A faint , intensity-dependent reduction of τ_{diff} is seen in a), b) and c), which is interpreted as signature of photobleaching. ^[S5] Addition of Pd ⁰ to compound 2b reduces the apparent diffusion time τ_{diff} by a factor of 4 (fig. 1c main text).	19
Figure S8. a) Scheme of dark state equilibrium of compounds 1b , 2b and 3b , depicted as A; extracted rates for b) dark state formation $k_{dark, eff}$, c) decay of dark state k_{bright} , i.e. bright state formation, d) scheme of contributions to measured mean diffusion times τ_{diff} and e) τ_{diff} from fits of autocorrelation functions with eq. (2) of 1b , 2b and 3b with and without influence of Pd ⁰ , dependent on illumination intensities (measurements of 3b with no observable dark state formation are not included).	20
Figure S9. Scheme of TIRF-microscopy-setup.	22
Figure S10. Images of labeled surface with a) 2_{imm} in water at pH 3 and b) 1_{imm} in water at pH > 12 in the blue and orange detection channels respectively at the bottom corresponding single-molecule emission trajectories are shown.	23

Obtained curves are shown in fig. S11 and extracted rate constants are compiled in fig. S16.	25
Figure S11. a) Mean autocorrelation curves of fluorescence trajectories of immobilized substrates on 9 samples for 2_{imm} resp. 3 samples for 1_{imm} and 3_{imm} in their associated emission channels; b) mean cross-correlation of fluorescence trajectories between the „blue“ and „orange“ channel of compounds 3_{imm} in pure ethanol and 3_{imm} with Pd ⁰ with associated standard deviations for each curve, calculated from the results of 3 different measurements; c) Mean cross-correlation of fluorescence intensities in the „blue“ and „orange“ channel of compound 2_{imm} without and with Pd ⁰ with standard deviations from 9 measurements (fig. 3a main text).	26
Figure S12. Histogram of normalized fluorescence intensities in SM trajectories with deduced thresholds: the blue line for starting material 2_{imm} and the orange line for product 1_{imm} (see SI p. 26 for details).	28
Figure S13. Histograms of summarized a) last blue emission times t_1 , b) lag times Δt and c) first orange emission times t_2 (fig. 3c, d main text) of all traces, where an orange fluorescence rise was recognized, regarding the previously set intensity thresholds; d) Weibull analysis of dark state kinetics; e) resulting β -values and f) k_{eff} -values of Weibull analysis.	29
Figure S15. a) Summarized decaying signal-pair populations of the various immobilized species 1_{imm} , 2_{imm} and 3_{imm} with and without influence of Pd; b) summarized signal-pair populations of product formation during the different experiments.	32
The extracted rate constants are compiled and compared in fig. S16.	32
	45

Figure S16. Obtained kinetic constants τ_1/e for 1. decay of blue fluorescence, 2. the lag time, i.e. dark state, 3. orange fluorescence formation and 4. orange fluorescence decay. These constants were extracted from SM trajectories through correlation, thresholding and signal-pair analyses of experiments with a) 2_{imm} (fig. 4 main text) and b) 3_{imm} . For biexponential fits, the corresponding amplitudes for the short and the long components are shown under (1), (2) and (3); *experiments with no significant correlation amplitude.	35
Scheme S2. Supposed reaction mechanism of photochemical bypass reaction.	36
Figure S17. ¹ H NMR spectrum of compound 3a in trichloromethane-d.	37
Figure S18. Enlarged domains of ¹ H NMR spectrum of compound 3a in trichloromethane-d.	38
Figure S20. ¹³ C NMR spectrum of compound 3a in trichloromethane-d (top: full spectrum, bottom: zoomed).	39
Figure S21. ¹ H NMR spectrum of compound 3b in acetone-d ₆ .	40
Figure S22. Enlarged domains of the ¹ H NMR spectrum of compound 3b in acetone-d ₆ .	41
Figure S23. ¹³ C NMR spectrum of compound 3b in acetone-d ₆ (top: full spectrum, bottom: zoomed).	42

References

- [S1] J. A. Menges, A. Clasen, M. Jourdain, J. Beckmann, C. Hoffmann, J. König, G. Jung, *Langmuir* **2019**, *35*, 2506–2516.
- [S2] B. Finkler, C. Spies, M. Vester, F. Walte, K. Omlor, I. Riemann, M. Zimmer, F. Stracke, M. Gerhards, G. Jung, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 548–562.
- [S3] P. Thordarson, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1305–1323.
- [S4] M. Vester, T. Staut, J. Enderlein, G. Jung, *J. Phys. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 1149–1154.
- [S5] B. Hinkeldey, A. Schmitt, G. Jung, *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 2019–2027.
- [S6] A. M. Huynh, J. Menges, M. Vester, T. Dier, V. Huch, D. A. Volmer, G. Jung, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 433–442.
- [S7] K. Bacia, Z. Petrášek, P. Schwille, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 1221–1231.
- [S8] A. Hoffmann, M. T. Woodside, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 12643–12646.
- [S9] H. Yuan, M. Orrit, *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 681–683.
- [S10] W. E. Moerner, *Rev. Mod. Phys.* **2015**, *87*, 1183–1212.

6. Experimente auf Einzelmolekülniveau

In weiterführenden Experimenten zu den Publikationen aus Kapitel 5.2 und 5.3 wurde die Anwendung der Photosäure-Base-Komplexe als molekulare Sonde auf das Einzelmolekülniveau übertragen. Wie in Kapitel 5.4 gezeigt, eignen sich die Photosäurederivate ausgezeichnet zur Beobachtung einzelner Moleküle. Im Falle des Komplexes mit Phosphinoxid überlappen jedoch die zu untersuchenden Emissionsbanden von CPX und HBIP stark. Die Verwendung von mehreren Farbkanälen in der Detektion liefert daher keine ausreichend hohe spektrale Auflösung mehr. Aus diesem Grund wurde ein *objective-type* TIRF-Setup mit zusätzlichem Transmissionsgitter aufgebaut (Abbildung 17), welches die Aufnahme von Emissionsspektren einzelner Moleküle ermöglichte. Im Folgenden soll zunächst dessen Aufbau und Kalibrierung präsentiert werden, wobei letztere durch Messungen der Modellsystemen mit Perylendiimid und Terrylen verifiziert wurde. Anschließend folgen im letzten Kapitel die ersten Messungen der Photosäure-Base-Komplexe. Experimentelle Details zur jeweiligen Probenvorbereitung sind im Anhang (siehe Kapitel 9.1) zu finden.

6.1. Aufbau des Einzelmolekülspektrometers

Experimenteller Aufbau

Der Aufbau des Einzelmolekülspektrometers basiert auf einem *objective-type* TIRF Mikroskop (Abbildung 17), in dem der Laser (442 nm OBIS 445, Coherent; 488 nm Picarro Cyan, Soliton bzw. 470 nm LDHP-C-470B, PicoQuant) durch das Objektiv (α -Plan-Apochromat, 100x, NA 1,57, Zeiss) eingekoppelt und auf dessen rückseitige Fokalebene durch eine achromatische Linse fokussiert wird (AC254-400-A-ML, Thorlabs, $f_1 = 400$ mm). Die hohe numerische Apertur des Objektivs und die verwendeten Deckgläser (HI Spezialdeckgläser, Zeiss) ermöglichen auch TIRF Bedingungen in Probematerialien mit erhöhtem Brechungsindex, wie beispielsweise PMMA. Die emittierten Photonen des Chromophors werden vom Objektiv aufgesammelt und durch einen entsprechenden dichroitischen Spiegel (ZT442dcrb-UF1, z405/470rpc XT bzw. ZT405/488rpc, AHF Analysetechnik) und einen Langpassfilter (ET 460lp bzw. 500lp, AHF Analysetechnik) vom Laserlicht getrennt. Für die Anregung mit $\lambda_{\text{exc}} = 488$ nm wird der Langpassfilter ($\lambda_{\text{det}} > 500$ nm) um einen Notch-Filter (ZET405/488, AHF Analysetechnik) ergänzt. Anschließend wird das Fluoreszenzlicht mit Hilfe einer achromatischen Linse (AC254-200-AB-ML, Thorlabs, $f_2 = 200$ mm) und durch das Transmissionsgitter (GT25-03, 300 grooves/mm, Thorlabs) hindurch auf den Kamerachip

(sCMOS Orca-Flash 4.0 LT+, Hamamatsu) fokussiert. Das Transmissionsgitter ist 2 cm vom Detektorchip entfernt auf einer Kipphalterung montiert und kann so nach Bedarf aus dem Detektionsstrahlengang entfernt werden, ohne beim Wiedereinsetzen eine erneute Kalibrierung durchzuführen.

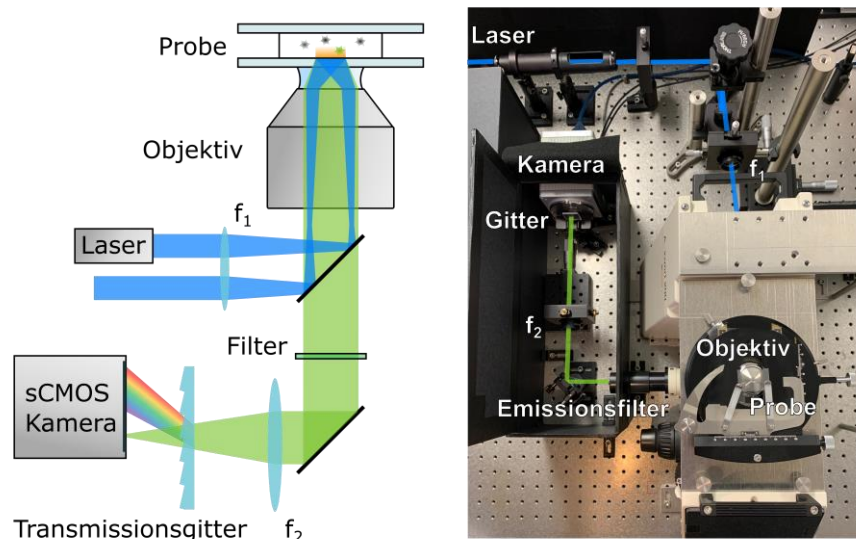


Abbildung 17: Darstellung des experimentellen Aufbaus des Einzelmolekülspektrometers: schematische Seitenansicht (links) und tatsächliche Draufsicht auf das experimentelle Setup (rechts). Anregungsstrahlengang (blau) und Detektionsstrahlengang (grün) sind in Letzterem nochmals ergänzend eingezeichnet. Der Aufbau basiert auf einem invertierten Mikroskopstativ von Zeiss (AxioVert 200). Weitere Details zu den einzelnen Bauteilen sind im Text angegeben.

Kalibrierung

Zur Wellenlängenkalibrierung des Einzelmolekülspektrometers wurde ein Standard aus fluoreszenzmarkierten Nanopartikeln mit mehreren bekannten Emissionsmaxima verwendet (TetraSpeck™, 0.1 μm , Thermo Fisher Scientific). Durch Aufnahmen mehrerer einzelner Partikel wurde die mittlere Distanz Δx_i zwischen Bildpunkt und jeweiligem Fluoreszenzmaximum i auf dem Kamerachip ermittelt (Abbildung 18). Dazu wurden nach einer Untergrundkorrektur des Mikroskopiebildes (*rolling ball algorithm*, 50 Pixel Radius, ImageJ)^[270] jeweils die entsprechenden Pixel-Zeilen eines Nanopartikels aufsummiert und anschließend diese summierte Intensität gegen Δx aufgetragen (Abbildung 18a-b). Eine Ensemble-Referenzmessung (Abbildung 18a, unten) der Nanopartikel durch das kommerzielle Fluoreszenzspektrometer (FP-6500, JASCO) ermöglichte anschließend jedem Δx_i die Wellenlänge des entsprechenden Maximums zuzuordnen und eine Kalibriergerade für den gesamten Wellenlängenbereich zu erstellen (Abbildung 18c).^[262] Die Unsicherheit der

Wellenlänge im Bereich von 450-750 nm betrug weniger als ± 3 nm (95 % Prognoseintervall). Eine Abhängigkeit von der (x,y)-Koordinate auf dem Kamerachip konnte aufgrund von Vergleichsmessungen ausgeschlossen werden.

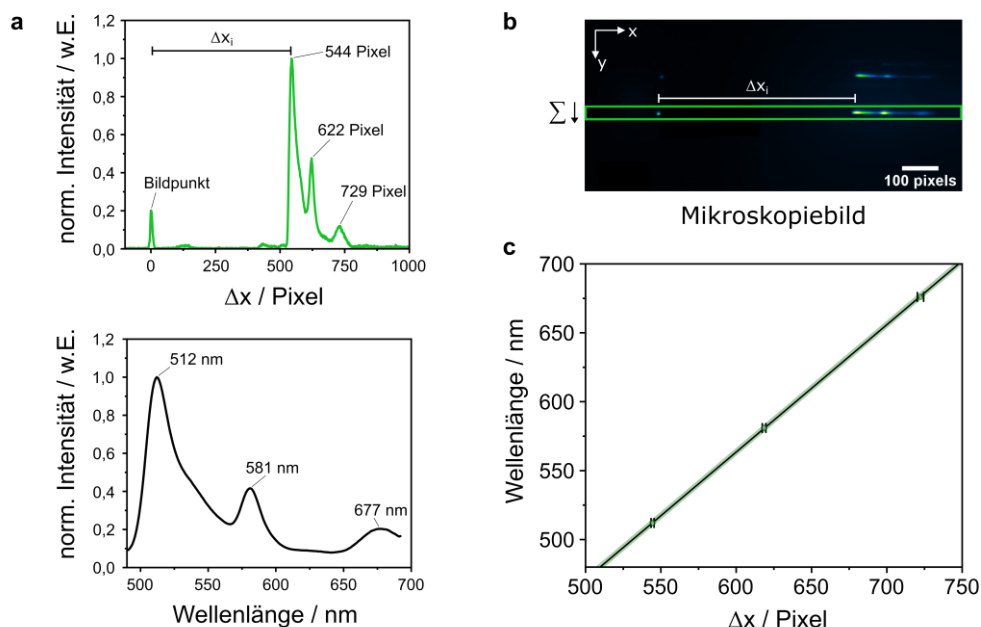


Abbildung 18: Wellenlängenkalibrierung des Einzelmolekülspektrometers. (a) Intensität eines fluoreszenzmarkierten Nanopartikels entlang der x-Achse und das entsprechende Ensemble-Emissionsspektrum in Wasser. Ersteres ist in Δx angegeben, was der Differenz zwischen Bildpunkt und jeweiligem Pixel in der spektral aufgelösten Domäne des Mikroskopiebildes entspricht. Zur Verbesserung des Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses werden, wie im Mikroskopiebild (b) durch die grüne Markierung eingezeichnet, jeweils mehrere Zeilen aufsummiert. Durch Zuordnung der einzelnen Maxima Δx_i zu den jeweiligen Fluoreszenzpeaks des Ensemble-Spektrums in (a) kann die Kalibriergerade in (c) erhalten werden ($\lambda = 0,921(2) \text{ nm} \cdot \Delta x + 10(1) \text{ nm}$). Dessen Prognoseband (95 %, ca. ± 3 nm) ist in hellgrün eingezeichnet und beruht auf der Messung von 51 individuellen Nanopartikeln mit jeweils drei unabhängigen Δx_i -Werten. Zur besseren Übersicht sind lediglich die Mittelwerte mit den entsprechenden Fehlerbalken angegeben. Details zur Probenvorbereitung sind in Kapitel 9.1 angegeben.

Einzelmolekülspektren anhand von Modellsystemen

Zur Verifizierung des Aufbaus wurden zunächst Messungen mit Perylendiimid (N,N'-di(7-tridecyl)perylene-3,4,9,10-tetracarbonsäurediimid) in PMMA und Terrylen in *p*-Terphenyl durchgeführt.¹ Die verwendeten Fluorophore zeichnen sich insbesondere durch ihre hohe Photostabilität aus, was eine lange Belichtungs- bzw. Integrationszeit für die Aufnahme eines Einzelmolekülspektrums ermöglicht.^[11] Um aus den Mikroskopieaufnahmen die

¹ Die Messungen von Terrylen in *p*-Terphenyl entstanden zu Teilen in Zusammenarbeit mit Matthias Jourdain und Ronja Priester.

Emissionsspektren der einzelnen Moleküle zu erhalten, wurde analog zu den Nanopartikel-Messungen vorgegangen. Zunächst wurde eine Untergrundkorrektur durchgeführt und anschließend für das jeweilige Molekül die entsprechenden Pixel-Zeilen aufsummiert. Die Umrechnung von x bzw. Δx in die Wellenlängenskala erfolgte mit einer wie in Abbildung 18c gezeigten Kalibriergeraden.

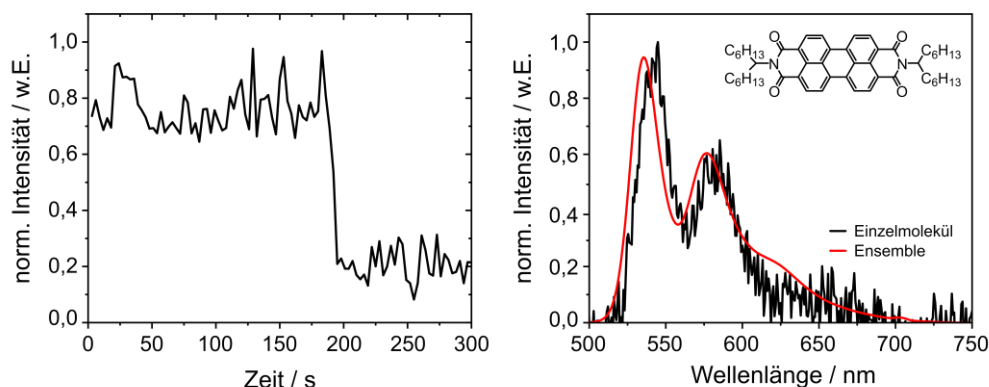


Abbildung 19: Einzelmolekülaufnahme von Perylendiimid (N,N' -di(7-tridecyl)perylene-3,4,9,10-tetracarbonsäurediimid) in PMMA ($\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm): Zeitspur mit einer Auflösung von 3 s (links) und summiertes Einzelmolekülspektrum bis zum Bleichen (rechts). In Letzterem ist zum Vergleich das Ensemble-Spektrum von Perylendiimid in PMMA gezeigt (rot).

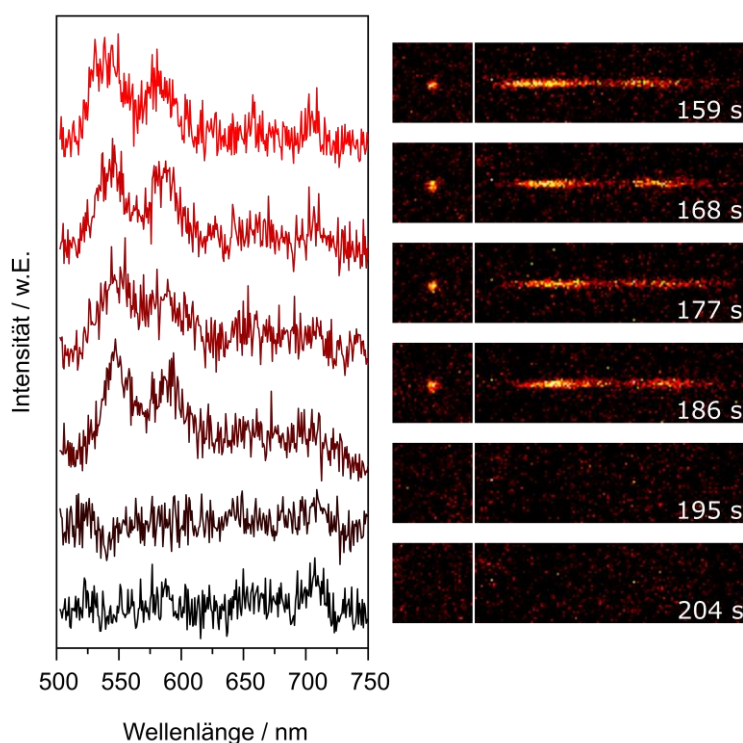


Abbildung 20: Zeitaufgelöste Einzelmolekülspektren (3 s Integrationszeit, $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm) eines Perylendiimid-Moleküls in PMMA (links) und die entsprechenden Mikroskopieaufnahmen des räumlich bzw. spektral aufgelösten Bereiches (rechts) zur jeweils angegebenen Zeit (vgl. Abbildung 19, links).

In Abbildung 19 ist beispielhaft eine Aufnahme eines einzelnen Perylendiimid-Moleküls gezeigt. Die Zeitspur folgt eindeutig dem für einzelne Moleküle typischen Verhalten und bleicht mit einem abrupten stufenförmigen Abfall des Signals nach 192 s. Das Emissionsspektrum des Moleküls weist die aus dem Ensemble-Spektrum bekannte Feinstruktur auf, mit einem Hauptmaximum von 541 nm und einer Nebenbande von 582 nm. Im Vergleich zum Ensemble-Spektrum sind die beiden Maxima um ca. 7 nm bathochrom verschoben. Hier muss jedoch sowohl die Wellenlängenunsicherheit in der Kalibriergeraden wie auch die Heterogenität des amorphen PMMA-Films berücksichtigt werden. So konnte bereits für PMMA gezeigt werden, dass die Ensemblespektren von 9-(Diethylamino)-5*H*-benzo[*a*]-phenoxazin-5-on (Nilrot) je nach molarer Masse des verwendeten Polymers um bis zu 6 nm voneinander abweichen.^[271] Ursache dafür sind unterschiedliche Anordnungen der Polymerketten und damit einhergehende Variationen in der dielektrischen Konstante. Dabei sind die angegebenen molaren Massen Durchschnittswerte, über welche in einer Ensemblemessung gemittelt wird. Für ein einzelnes Molekül hingegen wird das Emissionsspektrum nur durch die individuelle molekulare Umgebung bestimmt. Folglich sind auf dem Einzelmolekülniveau leichte Variationen der Emissionsspektren und damit leicht unterschiedliche spektrale Lagen der Maxima zu finden. In Abbildung 20 sind die zugehörigen zeitlich aufgelösten Spektren und die entsprechenden Mikroskopieaufnahmen des Perylendiimid-Moleküls gezeigt. Dabei kann zusätzlich eine spektrale Diffusion des Spektrums beobachtet werden, welche mit 10 nm knapp über dem spektralen Auflösungsvermögen des Setups liegt.

Im Vergleich zu Perylendiimid in PMMA, zeichnet sich Terrylen in *p*-Terphenyl durch eine feste geometrische Orientierung des Farbstoffes aus.^[11] In dem dotierten *p*-Terphenyl-Kristall substituiert jeweils ein Terrylen-Molekül ein bis zwei *p*-Terphenyl-Moleküle.^[272–274] Dies führt, zusammen mit der bevorzugten Wachstumsorientierung, zu einer gegenüber der Glasoberfläche senkrechten Ausrichtung der Terrylen-Längsachse. Darüber hinaus liegt das Übergangsdipolmoment von Terrylen entlang dieser Längsachse, was dadurch als molekulare Dipolantenne angesehen werden kann. Die Übergänge zwischen elektronischem Grundzustand und angeregtem Zustand entsprechen dann der Umpolung einer solchen Antenne. Die Aussendungsrichtung eines emittierenden Photons wird daher analog dazu durch eine \sin^2 -Funktion beschrieben (Abbildung 21b). Dadurch ist keine Aussendung parallel zur Antennenachse möglich. Aufgrund der zusätzlichen Parallelität von Längsachse und Beobachtungsachse ergibt sich im Mikroskopiebild die für dieses System typische Donutform mit reduzierter Signalstärke in der Mitte des Farbstoffes. In Abbildung 21 ist das über 25 s aufsummierte Einzelmolekülspektrum eines einzelnen Terrylen-Moleküls in *p*-Terphenyl und die entsprechende donutförmige Mikroskopieaufnahme gezeigt. Das erhaltene Maximum liegt

bei $\lambda_{\max} = 575 \text{ nm}$ und ist damit zum Ensemblespektrum um lediglich 4 nm hypsochrom verschoben, und in Übereinstimmung mit dem Literaturwert des Ensemblespektrums von $\lambda_{\max} = 576 \text{ nm}$.^[242]

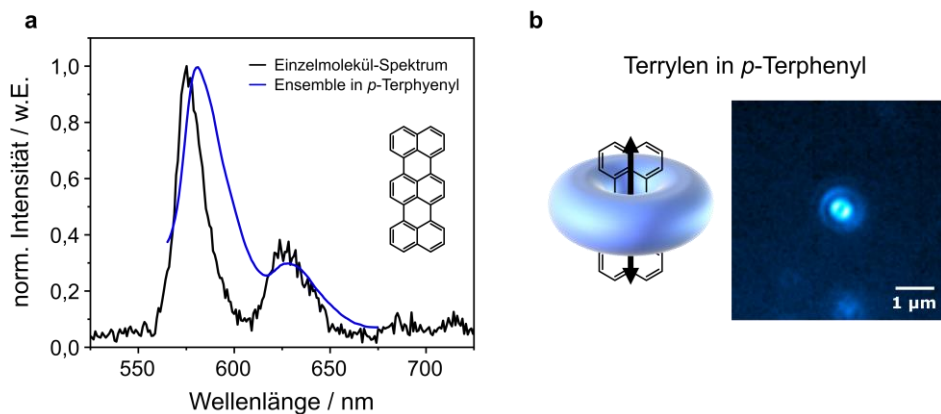


Abbildung 21: (a) Aufsummiertes Einzelmolekülspektrum über 25 s (schwarz) und entsprechendes Ensemble-Spektrum (blau) von Terrylen in *p*-Terphenyl. (b) Links ist schematisch das Aussendungsmuster einer Dipolantenne dargestellt, welches durch eine \sin^2 -Funktion beschrieben wird. Es erfolgt keine Strahlungsabgabe parallel zur Antennenachse. Da das Übergangsdipolmoment von Terrylen der Längsachse des Moleküls entspricht und in *p*-Terphenyl senkrecht zur Glasoberfläche steht, folgt daraus das rechts gezeigte typische Donutmuster in einer TIRF-Aufnahme von Terrylen in *p*-Terphenyl.

In Abbildung 22 und Abbildung 23 sind beispielhaft Zeitspur, Summenspektren und zeitaufgelöste Spektren eines Terrylen-Moleküls in *p*-Terphenyl gezeigt, welches nach 20 s reversibel in einen Dunkelzustand wechselt. Nach dem Dunkelzustand zeigt sich eine verringerte Intensität, welche mit einer bathochromen Verschiebung des Einzelmolekülspektrums um 10 nm ($\lambda_{\max} = 582 \text{ nm} / 592 \text{ nm}$) einhergeht.

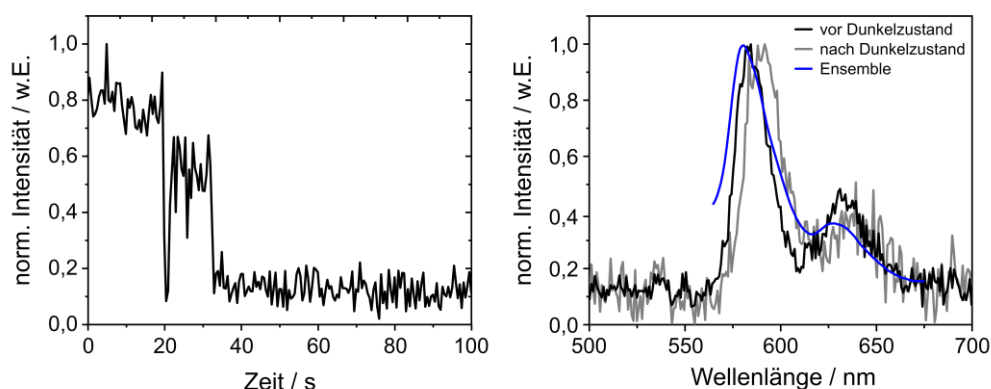


Abbildung 22: Einzelmolekülaufnahme von Terrylen in *p*-Terphenyl ($\lambda_{\text{exc}} = 488 \text{ nm}$): Zeitspur mit einer Auflösung von 0,5 s (links) und summierte Einzelmolekülspektren vor bzw. nach dem Dunkelzustand (rechts). In Letzterem ist zum Vergleich das entsprechende Ensemble-Spektrum von Terrylen in *p*-Terphenyl gezeigt (blau).

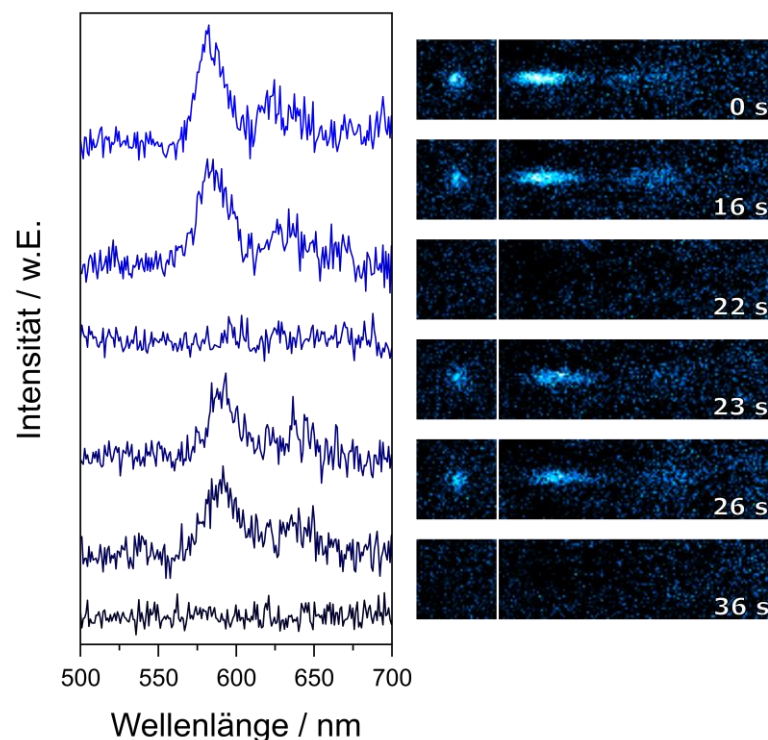


Abbildung 23: Zeitaufgelöste Einzelmolekülspektren (0,5 s Integrationszeit, $\lambda_{\text{exc}} = 488 \text{ nm}$) eines blinkenden Terrylen-Moleküls in *p*-Terphenyl (links) und die entsprechenden Mikroskopieaufnahmen des räumlich bzw. spektral aufgelösten Bereiches (rechts) mit der jeweils angegebenen Zeit (vgl. Abbildung 22, links).

Die geringe spektrale Verschiebung ist aufgrund ihrer Nähe zum spektralen Auflösungsvermögen nur mit Vorsicht zu interpretieren, wohingegen die Erniedrigung der Fluoreszenzintensität um 25 % eindeutiger ist. Eine mögliche Erklärung wäre eine leichte geometrische Umorientierung des Moleküls. Dies würde die Übergangsdipolmoment-Achse und somit auch die Fluoreszenzintensität verändern, jedoch nicht signifikant die Lage des Maximums beeinträchtigen. Innerhalb der festen Kristallstruktur ist dies jedoch eher unwahrscheinlich und die Herkunft des Dunkelzustandes würde dies ebenfalls nicht erklären. Als Erklärung wahrscheinlicher sind dagegen die bereits von Christ^[242,243] *et al.* beschriebenen Photo-Oxidationsreaktionen des Terrylen, welche von ihm durch Einzelmolekülspektren eines konfokalen Aufbaus und theoretische Rechnungen untersucht wurden.

Zusammenfassend zeigen die Einzelmolekül-Messungen von Perylendiimid und Terrylen die Funktionstüchtigkeit des konstruierten Einzelmolekül-Fluoreszenzspektrometers. Die erhaltenen Emissionswellenlängen stimmen im Rahmen der Messunsicherheit mit den Ensemble-Spektren überein und bieten eine spektrale Auflösung von unter 10 nm, was als ausreichend genau für die Protonentransferreaktionen angenommen werden kann (siehe

Kapitel 5.3). Darüber hinaus zeigt sich keine signifikante Wellenlängenabhängigkeit der Detektion. Für beide Fluorophore stimmt das Verhältnis von Haupt- und Nebenbande, sowie die Form des Emissionsspektrums, mit der jeweiligen Ensemble-Messung überein (Abbildung 19). Dies ermöglicht eine qualitative Interpretation der Emissionsbanden ohne eine weitere Intensitätskorrektur der Spektren. Im Folgenden Kapitel soll nun die Übertragung des Photosäure-Base-Komplexes auf das Einzelmolekülniveau thematisiert werden.

6.2. Photosäure-Base-Komplex auf Einzelmolekülniveau

In Kapitel 5.2 wurden wasserstoffbrückegebundene Photosäure-Base-Komplexe zur Untersuchung der Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers etabliert. Darin zeigte sich im Rahmen der verwendeten Lösungsmittel eine exponentielle Abhängigkeit zwischen der Gesamtpolarisierbarkeit $f(\epsilon)$ des Lösungsmittels und dem Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten von HBIP und CPX (Kapitel 5.2, Figure 4b). Diese Funktion kann nun in einem nächsten Schritt, und unter der Voraussetzung, dass keine Dissoziation des Ionenpaares im angeregten Zustand erfolgt, als Referenz für unbekannte Umgebungspolaritäten eingesetzt werden. Bei bekanntem Verhältnis von HBIP und CPX im Emissionsspektrum des Komplexes kann so die Polarität der Umgebung bestimmt werden. Im Folgenden wurden erste Experimente durchgeführt, um dieses Sonden-System auf das Einzelmolekülniveau zu übertragen. Wie in Kapitel 5.4 gezeigt, eignet sich die Photosäureklasse der Pyrene dazu ausgezeichnet.

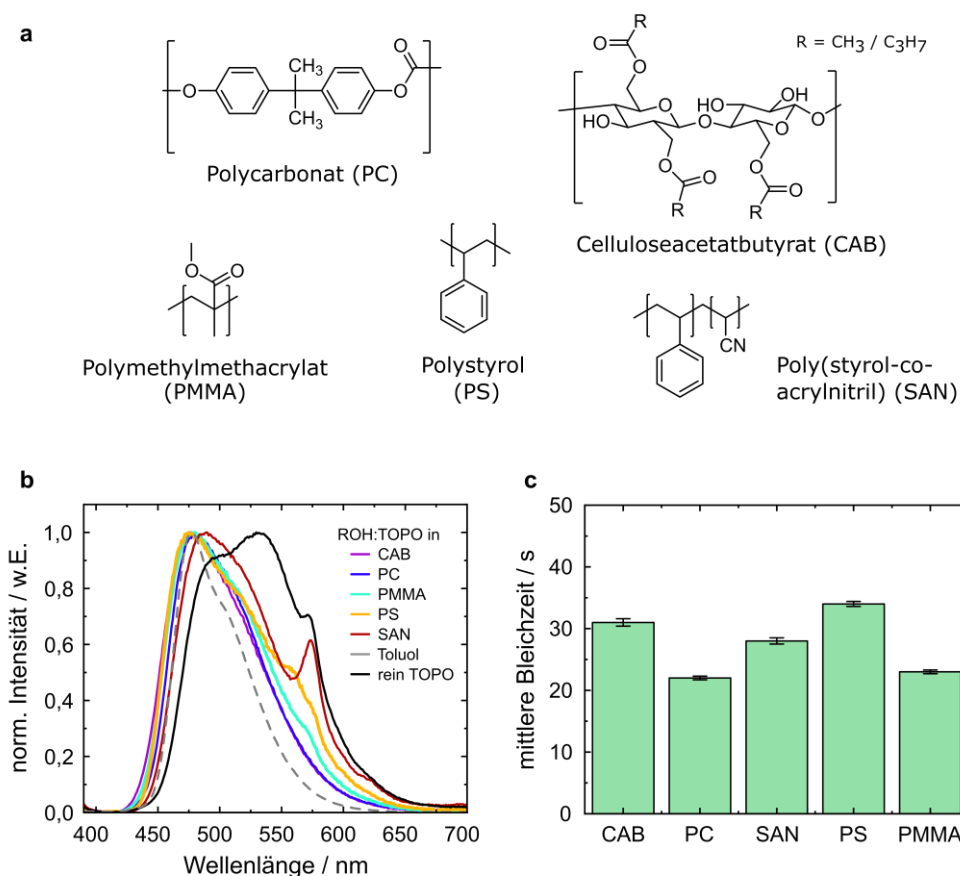


Abbildung 24: Übersicht über die Ergebnisse der Bachelorarbeit von Elias Gießelmann.^[275] (a) Verwendete Polymere zur Einbettung des Photosäure-Base-Komplexes (ROH:TOPO). (b) Emissionsspektren des Komplexes in unterschiedlichen Polymerfilmen bzw. Toluol oder polykristallinem TOPO ($\lambda_{exc} = 380$ nm). (c) Mittlere Bleichzeiten des Komplexes auf Einzelmolekülniveau bei Beobachtung mittels TIRF-Mikroskopie ($\lambda_{exc} = 442$ nm, 400 μ W).

Im Rahmen der Bachelorarbeit von Elias Gießelmann^[275] wurden dazu erste Vorarbeiten geleistet. Das in Kapitel 5.2 und 5.3 vorgestellte System aus der Photosäure **5** (Tris(2,2,2-trifluoroethyl)-8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat, Abbildung 3) und dem Liganden Tri-*n*-octylphosphinoxid (TOPO) wurde dazu in verschiedene feste Matrices eingebettet (Abbildung 24). Bei der Untersuchung der Ensemble-Spektren ergaben sich für die Emissionsspektren in Celluloseacetatbutyrat (CAB) und Polycarbonat (PC) Bandenformen, die denen des Komplexes in Toluol ähneln, jedoch um ca. 25 nm breiter sind. Wie in Kapitel 5.2 gezeigt, findet in Toluol nahezu kein ESPT statt und das entsprechende Fluoreszenzspektrum kann in erster Näherung als Bandenform der CPX-Spezies angenommen werden. Ob der Unterschied der Spektren gegenüber Toluol von einer zusätzlichen HBIP-Bande herrührt, oder es sich um eine allgemeine Verbreiterung der CPX-Bande durch die feste heterogenere Matrix handelt, kann nicht eindeutig bestimmt werden. Im Gegensatz dazu weichen die Emissionsspektren in den anderen Polymeren und in polykristallinem TOPO deutlicher von der reinen CPX-Bande ab. Neben einer Schulter von 520-560 nm, die einer zusätzlichen HBIP-Bande zugeordnet werden kann, wurde auch die Emissionsbande der deprotonierten Photosäure bei 570 nm beobachtet. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass in diesen Polymeren ESPT stattfindet. In einem zweiten Schritt wurde mittels TIRF-Mikroskopie die Photostabilität der Komplexe in den unterschiedlichen Polymeren untersucht. Dafür wurden für jedes Polymer über 100 Einzelmolekülpuren aufgenommen und anschließend aufsummiert. Aus dem sich ergebenden exponentiellen Intensitätsabfall konnte jeweils die in Abbildung 24c angegebene Bleichzeit bestimmt werden, nach der 64 % der Moleküle geblieben sind (e^{-1} -Abfall). Aus diesen Zeiten ergab sich eine mögliche Beobachtungszeit eines einzelnen Fluorophors von 22 bis 34 s. Interpretationsfähige Unterschiede zwischen den Polymeren konnten nicht beobachtet werden. TIRF-Messungen in reinem TOPO waren aufgrund der polykristallinen Struktur und dem dadurch resultierenden starken Untergrund aus Streulicht nicht durchführbar. Über die Zählrate der Einzelmolekülpuren und die ermittelten Bleichzeiten konnte abgeschätzt werden, dass eine einzelne molekulare Sonde ca. 750 000 Photonen emittiert bevor der Fluorophor bleicht.^[275] Diese Anzahl an Photonen sollte ausreichend für die Aufnahme eines gesamten Spektrums sein.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde die Photosäure in eine Mischung aus PMMA und TOPO eingebettet und mittels des neu konstruierten Einzelmolekülspektrometers untersucht. Details zur Probenvorbereitung sind in Kapitel 9.1 gegeben, jedoch sei angemerkt, dass die Matrix aus TOPO (40 mg/mL) und PMMA (20 mg/mL) ein Kompromiss zwischen möglichst hoher Polarität, und damit einhergehender hoher Protonentransfereffizienz, und noch immer transparenten amorphen Filmen darstellt. Erste *proof-of-concept* Messungen der molekularen Polaritätssonde auf Einzelmolekülniveau sind in Abbildung 25 und Abbildung 26 gezeigt.

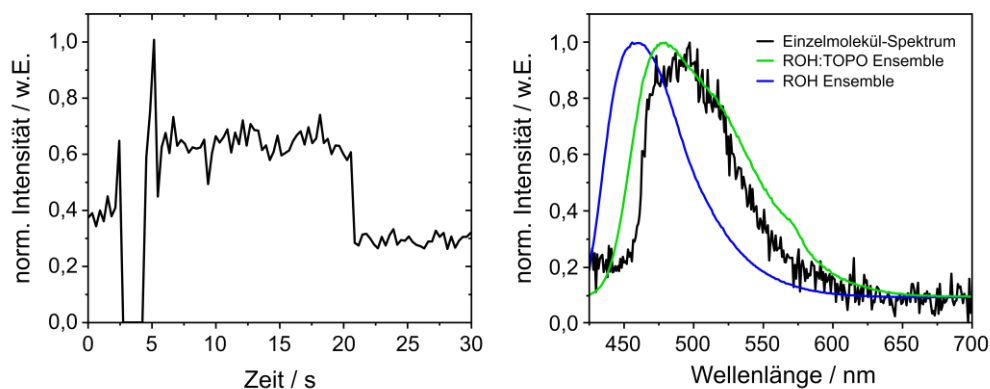


Abbildung 25: Einzelmolekülaufnahme der Photosäure **5** in PMMA/TOPO ($\lambda_{\text{exc}} = 442 \text{ nm}$): Zeitspur des spektral aufgelösten Bereichs mit einer Auflösung von 0,3 s (links) und summiertes Einzelmolekülspektrum bis zum Bleichen (rechts). In Letzterem ist zum Vergleich das Ensemble-Spektrum der reinen Photosäure (ROH, blau) bzw. des Komplexes (ROH:TOPO, grün) in PMMA gezeigt. Nach 2 s wurde das Transmissionsgitter in den Detektionsstrahlengang eingebracht, wodurch die Aufnahme des Spektrums erst nach 5 s begann.

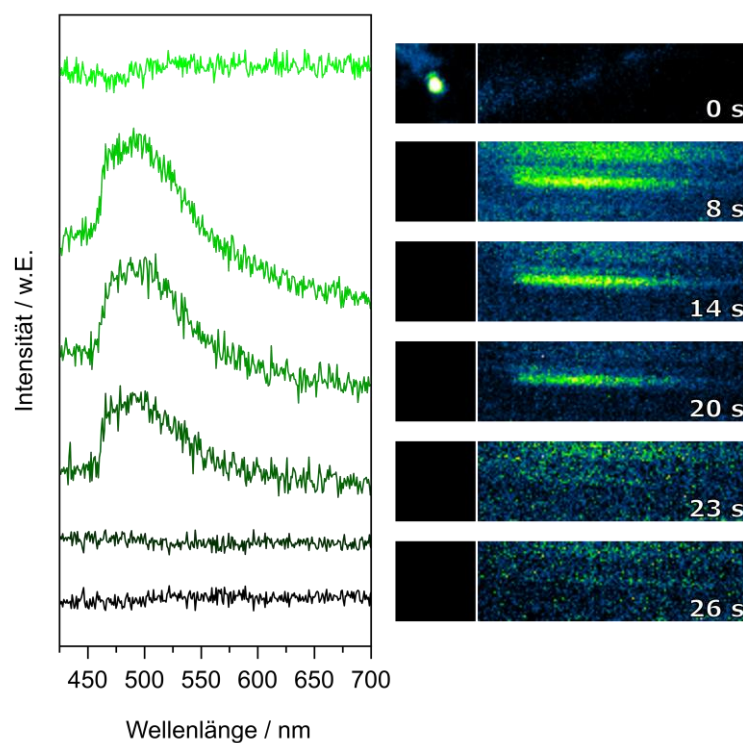


Abbildung 26: Zeitaufgelöste Einzelmolekülspektren (3 s Integrationszeit, $\lambda_{\text{exc}} = 488 \text{ nm}$) einer einzelnen molekularen Sonde in PMMA/TOPO (links) und die entsprechenden Mikroskopieaufnahmen des räumlich bzw. spektral aufgelösten Bereiches (rechts) zur jeweils angegebenen Zeit (vgl. Abbildung 25, links). Aufgrund eines geringen Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses wurde zunächst die Bildposition ermittelt und anschließend nach 2 s das Transmissionsgitter in den Detektionsstrahlengang eingebracht und die Aufnahme des Spektrums gestartet. Eine simultane Aufnahme von räumlich und spektral aufgelöstem Bereich war nicht möglich.

Aufgrund des gegenüber Terrylen oder Perylendiimid geringeren detektierten Signals wurden die Koordinaten des Bildpunktes ($\Delta x = 0$) zunächst ohne Transmissionsgitter bestimmt und anschließend erst das Einzelmolekülspektrum aufgenommen. Dadurch ist, während des Einbringens des Transmissionsgitters in den Detektionsstrahlengang, die in Abbildung 25 gezeigte Zeitspur zwischen 2 und 5 s unterbrochen. Die ermittelten Einzelmolekülspektren sind mit einem Emissionsmaximum von ca. 490 nm im Vergleich zum Ensemble um etwa 10 nm bathochrom verschoben und zeigen eine um 15 nm verringerte Halbwertsbreite (Abbildung 25). Letzteres ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass im Ensemble die Heterogenität der Matrix zu einer Verbreiterung des Spektrums führt. Diese Ensemble-Mittelung über viele Fluorophore und deren individuelle molekulare Umgebung entfällt, wie bereits erwähnt, in einem Einzelmolekülspektrum. Nach 21 s bleicht das beobachtete Molekül mit dem für einzelne Moleküle typischen digitalen Abfall der Intensität. Die zeitlich aufgelösten Emissionsspektren zeigen leichte Fluktuationen in der Intensität, jedoch keine signifikanten Änderungen in der spektralen Lage (Abbildung 26). Weder für die HBIP-Spezies noch für die deprotonierten Spezies konnte eine entsprechende Bande deutlich in den Spektren beobachtet werden. Es ist zu beachten, dass das Detektionsfenster erst ab ca. 460 nm beginnt, weshalb die Spektren vermutlich an der blauen Flanke abgeschnitten sind. Auf eine Zerlegung der Spektren in die einzelnen Spezies des Protonentransfers, wie in Kapitel 5.2 und 5.3 gezeigt, wurde daher verzichtet. Des Weiteren sollte für eine quantitative Analyse eine wellenlängenabhängige Intensitätskorrektur implementiert werden, auch wenn diese, wie in dem vorangegangenen Kapitel gezeigt, keine großen Änderungen hervorrufen sollte. Aufgrund der noch limitierten Anzahl an erhaltenen Einzelmolekülspektren und der daraus ungenügenden Statistik ist diese Korrektur hier noch nicht verfügbar.

Zusammenfassend kann jedoch festgehalten werden, dass das System aus Kapitel 5.2 und 5.3 erfolgreich auf das Einzelmolekülniveau übertragen wurde. Durch die hohe Photostabilität und Fluoreszenzquantenausbeute konnten mittels TIRF-Mikroskopie lange Beobachtungszeiten einzelner Moleküle erreicht werden. Diese ermöglichten die Aufnahme von ersten Einzelmolekülspektren des Komplexes. Deutliche Hinweise auf andere Spezies wie CPX sind zwar im Ensemble-Spektrum zu erkennen, bisweilen jedoch noch nicht auf Einzelmolekülniveau zweifelsfrei zu beobachten gewesen. Eine quantitative Zerlegung in die einzelnen Spezies des Eigen-Weller-Modells ist noch nicht möglich, da dazu ein breiteres spektrales Fenster und eine bessere Statistik zur wellenlängenabhängigen Intensitätskorrektur nötig sind. Durch eine Matrix mit höherer Polarität (z.B. festes DMSO) sollte mit dem vorgestellten System die Beobachtung des ESPT auf Einzelmolekülniveau einfacher möglich sein. In dieser sollten die Spektren bathochrom verschoben sein und der Protonentransfer deutlicher hervortreten.

7. Zusammenfassung und Einordnung

In dieser Arbeit wurden erfolgreich neue Systeme zur Untersuchung des Protonentransfers und dessen Umgebungsabhängigkeit entwickelt. Durch das breite Spektrum von kompatiblen Lösungsmitteln und Protonenakzeptoren eröffnen diese einerseits neue Möglichkeiten das Verständnis des Mechanismus zu vertiefen und andererseits die gewonnenen Erkenntnisse zukünftig auf andere Reaktionen zu übertragen.

Unter anderem gelang die Charakterisierung einer neuen Ammoniumpyrenphotosäure, welche mit einem experimentell (!) bestimmten pK_s^* -Wert von $-9,9 \pm 0,1$ die bis heute stärkste bekannte Photosäure darstellt. Damit eröffnet diese Wege zur Untersuchung von Protonentransferreaktionen zu weniger basischen Molekülen wie beispielsweise Aceton oder Methansulfonat.^[190] Durch ihre äußerst hohe chemische Stabilität konnte der Protonentransfer sogar in konzentrierter Schwefelsäure untersucht werden. Dabei zeigte sich ein kinetischer Isotopeneffekt von $1,9 \pm 0,2$ und eine im Vergleich zu den bisherigen Aziditäts-Rekordhaltern fünfzehnfach längere Fluoreszenzlebensdauer von $1,4 \pm 0,1$ ns, was eine längere Beobachtungszeit mittels zeitaufgelöster Spektroskopie ermöglicht. In dieser bis dato für Photosäuren nicht zugänglichen Umgebung konnte das schwach basische Hydrogensulfat HSO_4^- als Protonenakzeptor identifiziert werden. Die Schwefelsäure stellt hier mit einer relativen Permittivität von $\epsilon_r = 101$ ein Extremfall an polarer Umgebung dar, dessen Untersuchung erst durch die neu entwickelte Ammoniumpyrenphotosäure möglich wurde.^[276]

Kern der Arbeit war die erfolgreiche Entwicklung, Charakterisierung und Verwendung von wasserstoffbrückengebundenen Photosäure-Base-Komplexe zur Untersuchung der Umgebungsabhängigkeit des Protonentransfers. In der ersten Publikation zu diesen Systemen wurden verschiedene Komplexe aus Hydroxypyrenderivaten und Phosphinoxiden mittels UV/VIS-, Fluoreszenz-, NMR- und IR-Spektroskopie charakterisiert. Insbesondere die Verwendung von Phosphinoxiden als Ligand und Protonenakzeptor ermöglichte dabei die Überwindung der Unzulänglichkeiten bisheriger Systeme^[164,165,267–269] (siehe Kapitel 4): Die neuen Systeme zeigten Komplexbildungskonstanten von 10^3 - 10^7 M⁻¹, gute Löslichkeiten und hervorragende Fluoreszenzquantenausbeuten in einer breiten Palette von aprotischen Lösungsmitteln. Anhand des Komplexes aus Photosäure **5** und Tri-n-octylphosphinoxid konnte daher die Untersuchung des ESPT in Abhängigkeit der Umgebung erfolgen. Durch eine Solvatochromieanalyse nach Lippert-Mataga in Lösungsmittelgemischen von Toluol/DCM und DCM/Benzonitril wurde für diesen Komplex nachgewiesen, dass die Fluoreszenzspektren zwei unterschiedliche Spezies beinhalten. Deren jeweilige Änderung des Übergangsdipolmoments während der Anregung $\Delta\mu$ unterschied sich dabei. Diese Differenz der beiden Spezies $\Delta\Delta\mu$

betrug $3,3 \pm 0,6$ D, beziehungsweise $2,9 \pm 0,6$ D für die verfeinerten Bandenformen, was der Verschiebung einer Elementarladung von ca. 60-70 pm entspricht. Dies ist in hervorragender Übereinstimmung mit dem Protonentransfer innerhalb einer Wasserstoffbrückenbindung und einer Änderung der Konfiguration von $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ zu ${}^-\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}^+$. Somit konnten die entsprechenden Fluoreszenzbanden den Spezies CPX und HBIP des Eigen-Weller-Models zugeordnet werden. Das Intensitätsverhältnis der Banden zeigte eine exponentielle Abhängigkeit von der molekularen Gesamtpolarisierbarkeit $f(\epsilon)$ des Lösungsmittels. Die zugrundeliegende Exponentialfunktion konnte quantitativ bestimmt werden und kann zukünftig als Referenz bzw. Kalibrierfunktion genutzt werden. In einer darauffolgenden Publikation wurde der Komplex mittels zeitaufgelöster Spektroskopie in Acetonitril untersucht. In diesem sehr polaren Lösungsmittel zeigte sich neben der Bildung von HBIP auch die vollständig deprotonierte Photosäure RO^- , wodurch der gesamte Eigen-Weller-Mechanismus abgedeckt werden konnte. Transiente Absorptionsmessungen ergaben, dass der elementare Protonentransferschritt, d. h. die Bildung von HBIP, mit einer Zeitkonstanten von $0,82 \pm 0,02$ ps lösungsmittelkontrolliert abläuft. Die Umorientierung der Lösungsmittelmoleküle ermöglicht erst die Übertragung des Protons, was in Übereinstimmung mit Studien ist, die den Protonentransfer zu einem Lösungsmittelmolekül untersuchten.^[6-9] Es zeigte sich auch, dass dieser Prozess höchstwahrscheinlich adiabatisch abläuft. Zusätzlich konnte eine Zeitkomponente von 30 ps identifiziert werden, in der die Population von HBIP nochmals um 10-20 % zunimmt. Diese Komponente konnte jedoch noch keinem Prozess endgültig zugeordnet werden. Möglicherweise handelt es sich hierbei um eine Umorientierung einer Akzeptor-Donor-Anordnung, dessen Geometrie ungünstig für den Protonentransfer ist, oder um Schwingungsrelaxationen der langkettigen Alkylreste des Phosphinoxids. Durch die zeitaufgelösten Fluoreszenzspektren und dessen Zerlegung in die einzelnen Spezies des Eigen-Weller-Models konnten die Bandenformen der vorangegangenen Publikation (siehe Kapitel 5.2) bestätigt werden und die Gleichgewichtskonstante des elementaren Protonentransfers zwischen CPX und HBIP im angeregten Zustand mit $K_{\text{PT}} \approx 1,2 \pm 0,2 \text{ M}^{-1}$ ermittelt werden. Interessanterweise ist das entstehende Gleichgewicht zwischen CPX und HBIP mit mehreren Nanosekunden äußerst langlebig, wodurch sich ein langes Zeitfenster zur Beobachtung ergibt. Die darauffolgende Dissoziation des Ionenpaares verläuft irreversibel. Das Ausmaß dieser Dissoziation, zunächst zum SSIP und danach zum FSIP, wurde mit ~30 % bzw. ~40 % abgeschätzt. Auch wenn die Werte für eine quantitative Einordnung zu große Fehlerintervalle aufweisen ($\pm 60-90$ %), sind die dahinterstehenden Prozesse eindeutig zu beobachten und konsistent mit den Antibunching-Experimenten von Vester *et al.* in DMSO.^[163]

In der letzten hier vorgestellten Publikation wurde auf Einzelmolekülniveau ein an der Hydroxyfunktion allylgeschütztes Analogon der Photosäure **5** mittels TIRF-Mikroskopie beobachtet. Sie stellt das Bindeglied zwischen den bisherigen Ensemblemessungen und zukünftigen Einzelmolekülstudien der Komplexe dar. Die an diesem Modellsystem durchgeführte Deallylierung nach Tsuji-Trost wurde auf ihre möglichen Reaktionspfade hin untersucht. Ein großer Vorteil des Systems ist die Möglichkeit sowohl Edukt als auch Produkt durch spektral voneinander getrennte Emissionskanäle zu beobachten. Darin zeigte sich, dass nach der Komplexbildung der Photosäure mit dem Pd-Katalysator ($K \approx 10^3 \text{ M}^{-1}$) in 88 % der Fälle zwischen dem Verschwinden des Eduktsignals und der Bildung des Produktsignals ein Dunkeln zu beobachten ist. Dieses Intermediat wäre ohne Einzelmoleküldetektion höchstwahrscheinlich nur schwer auszumachen und kann der Insertion des Pd-Katalysators in die C-O-Bindung zugeschrieben werden. Mittels Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie konnte eine obere Grenze für die Geschwindigkeitskonstante der C-O-Insertion von $1,5 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$ ermittelt werden, während aus den TIRF-Aufnahmen die Lebensdauer des dadurch entstehenden Intermediates mit 2-3 s hervorgeht. Ein direkter $\text{S}_{\text{N}}2$ -artiger Mechanismus scheint daher in der Tsuji-Trost-Deallylierungsreaktion nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Im Kontext der vorliegenden Arbeit zeigt diese letzte Publikation die Verwendbarkeit der auf Hydroxypyren basierenden neutralen Photosäurederivate für die fluoreszenzspektroskopische Einzelmoleküldetektion und die Möglichkeit mit ihnen Reaktionsmechanismen auf dem Einzelmolekülniveau zu untersuchen. Im Falle der wasserstoffbrücken gebundenen Photosäure-Base-Komplexe und der darin erfolgenden Protonentransferreaktion ergibt sich jedoch eine weitere Herausforderung: Die Fluoreszenzbanden von Edukt und Produkt, d. h. CPX und HBIP, liegen hier spektral nah zusammen und überlappen stark. Die spektrale Auflösung einer Zweikanaldetektion ist daher nicht mehr ausreichend. Um dies zu überwinden, wurde, wie im letzten Kapitel gezeigt, erfolgreich ein auf TIRF-Mikroskopie basierendes Einzelmolekülspektrometer konstruiert. Mit diesem Aufbau konnten Einzelmolekülspektren der Modellsysteme Perylendiimid in PMMA und Terrylen in *p*-Terphenyl erfolgreich aufgenommen werden und damit die Funktionstüchtigkeit des Einzelmolekülspektrometers gezeigt werden. Das Spektrometer zeigte im Bereich von 450-750 nm lediglich eine Wellenlängenunsicherheit von $\pm 3 \text{ nm}$. Im Rahmen der Bachelorarbeit von Elias Gießelmann^[275] wurden bereits erste Vorarbeiten zur Untersuchung des Komplexes aus Photosäure **5** und Tri-*n*-octylphosphinoxid in verschiedenen festen Matrices geleistet. Es ergaben sich mittels TIRF-Mikroskopie durchschnittliche Beobachtungszeiten von 22-34 s auf dem Einzelmolekülniveau und damit verbunden ca. 750 000 emittierende Photonen pro molekulare Sonde, bevor diese jeweils irreversibel bleicht. Die Ergebnisse zeigten die Möglichkeit auf das gesamte Einzelmolekülspektrum mit dem neu konstruierten Setup

aufzunehmen. Dafür wurde der Komplex im nächsten Schritt in einer Matrix aus PMMA und TOPO eingebettet, was einen Kompromiss zwischen hoher Polarität, und damit möglichst hoher Protonentransfereffizienz, und der Handhabung und Herstellung transparenter Filme darstellte. Darin konnten als *Proof of Concept* die ersten Einzelmolekülspektren des Komplexes aufgenommen werden. Wenn auch der Protonentransfer, d. h. die HBIP oder RO⁻-Spezies, noch nicht eindeutig auf Einzelmolekülniveau beobachtet wurde, zeigte sich ein gutes Signal-zu-Rauschen Verhältnis und eine ausreichend lange Lebenszeit der einzelnen molekularen Sonden. Dies zeigt das große Potential des Systems: Durch weitere Optimierung der Matrix und des Setups sollte eine direkte Beobachtung des Protonentransfers und aller daran beteiligten Spezies auf Einzelmolekülniveau möglich sein. Zwar gibt es bereits vereinzelte Untersuchungen von Protonentransferreaktionen auf Einzelmolekülniveau, jedoch beruhen diese meist nur auf einer indirekten Beobachtung des Protonentransfers. So verwendeten beispielsweise Mason^[277] *et al.* Cumarin 6 als nicht-invasive Sonde zur Untersuchung von Säure-Base-Reaktionen in Polymerfilmen für die Fotolithografie, während Ristanović^[5,278] *et al.* verschiedene Produkte einer säurekatalysierten Oligomerisierung von Styrol in Zeolithe beobachteten. Kahr und Reid^[279,280] *et al.* konnten dagegen einen photoinduzierten Protonentransfer zur kristallinen Umgebung nachweisen, dessen Mechanismus jedoch durch die Bildung von nicht-fluoreszenten Spezies (Lactonbildung) recht komplex ist. Alternativ zu den fluoreszenzmikroskopischen Ansätzen konnte der photoinduzierte Protonentransfer auch bereits durch Einzelmolekül-Leitfähigkeitsmessungen untersucht werden.^[281] Dabei wurde ein photoazides Medium genutzt, um den Protonentransfer zu einzelnen Molekülen von Azulen-Derivaten zu initiieren und deren Leitfähigkeit zu messen. All diese Systeme ermöglichen zwar erste wichtige Einblicke auf Einzelmolekülniveau, jedoch ist bei keinem eine Abkopplung von Protonenakzeptor und Umgebung möglich. Dieser Schritt wurde, für das in dieser Arbeit entwickelte System aus Photosäure und Phosphinoxid, bereits für Ensemble-Experimente erfolgreich demonstriert (siehe Kapitel 5.1 und 5.2) und ist nun durch die ersten erfolgreichen Messungen in greifbarer Nähe für das Einzelmolekülniveau (siehe Kapitel 6.2).

8. Ausblick und offene Fragen

Die stabilen Photosäure-Base-Komplexe und die im Ensemble ermittelte Polaritätsabhängigkeit des Protonentransfers eröffnen in Kombination mit den gezeigten Einzelmolekülspektren die Chance zur Etablierung einer molekularen Polaritätssonde auf Einzelmolekülniveau. Der nächste Schritt sollte dabei in der Optimierung der Matrix liegen. Durch eine Matrix mit einer höheren dielektrischen Konstante würde die Protonentransfereffizienz erhöht und die Beobachtung von HBIP bzw. RO^- vereinfacht werden. Die Bandenformen aller beteiligten Spezies sind durch die vorliegende Arbeit bereits in guter Näherung bekannt, was eine Quantifizierung ermöglicht. Auch im Falle der zeitaufgelösten Experimente bieten die gewonnenen Ergebnisse Raum für weitere Untersuchungen. So ist beispielsweise der Prozess hinter der 30 ps Komponente noch ungeklärt. Zeitaufgelöste Vergleichsmessungen in unterschiedlichen Lösungsmitteln bzw. mit unterschiedlichen Liganden könnten deren Ursprung aufdecken. Ebenfalls von großem Interesse ist die Durchführung von zeitaufgelösten IR-Experimenten, für welche die lange Lebensdauer des Gleichgewichtes zwischen CPX und HBIP ein großes Beobachtungsfenster liefert. Durch eine zeitaufgelöste Verfolgung der P=O Streckschwingung könnte eventuell geklärt werden, inwiefern das Proton der Wasserstoffbrückenbindung in stark polaren Lösungsmitteln eher einem oszillierenden Charakter unterworfen ist und ob eine strikte Trennung in die zwei diskreten Spezies CPX und HBIP noch haltbar ist.

Darüber hinaus können mit diesen Systemen zukünftig auch andere Einflüsse der Umgebung auf den Protonentransfer untersucht werden. Durch Einbettung der Photosäuren in photonische Materialien könnte beispielsweise das Protonentransfergleichgewicht durch die Struktur des umgebenden Materials beeinflusst werden. Eine erste Studie dazu konnte kürzlich veröffentlicht werden, jedoch muss hier der Protonenakzeptor noch von der Polymermatrix bereitgestellt werden.^[282] Dies könnte mit einem der in dieser Arbeit gezeigten Photosäure-Base-Komplexe deutlich vereinfacht werden. Eine weitere zu untersuchende Abhängigkeit des Protonentransfers stellt die Temperatur dar. Aus ihr könnten die thermodynamischen Größen für den Protonentransfer entlang der Wasserstoffbrückenbindung gewonnen werden.

Die notwendigen Werkzeuge zur Untersuchung all dieser Phänomene sind durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bereits größtenteils gegeben.

9. Anhang

9.1. Experimenteller Teil: Einzelmolekülaufnahmen

Verwendete Materialien

Die Farbstoffe Terrylen und Perylendiimid (N,N'-di(7-tridecyl)perylene-3,4,9,10-tetracarbonsäurediimid) wurden kommerziell von den Firmen Kentax (Seelze, Deutschland) bzw. Lambdachem (Burgkirchen, Deutschland) erhalten, während die Photosäure **5** (Tris(2,2,2-trifluoroethyl)-8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat) nach der bekannten Literatur synthetisiert wurde.^[104] Die Lösungsmittel Toluol (99,85 %, extra dry, Acros Organics), Dichlormethan (99,9 %, extra dry, Acros Organics) und Wasser (ultrapure, spectr. grade, Alfa Aesar), sowie die Matrices PMMA (Polymethylmethacrylat, $M_w = 350.000$, Sigma Aldrich), *p*-Terphenyl ($\geq 99,5$ %, Sigma Aldrich) und TOPO (Tri-*n*-octyl-phosphinoxid, 99 %, Acros Organics) wurden ebenfalls kommerziell erworben und ohne weitere Aufreinigung verwendet. Die Trifluoressigsäure (TFA, > 99 %, anhydrous) wurde von Sigma Aldrich und die fluoreszenzmarkierten Nanopartikel (TetraSpeck™, $0.1 \mu\text{m}$) von Thermo Fisher Scientific bezogen.

Probenvorbereitung

Zur Kalibrierung des Einzelmolekülspektrometers wurde die kommerziell erhaltene Stammlösung aus Nanopartikel nach der Anweisung des Herstellers in Wasser verdünnt (1:100), auf ein Deckglas aufgebracht (ca. $100 \mu\text{L}$) und anschließend das Lösungsmittel bei RT abgedampft. Für das Ensemblespektrum wurde dagegen direkt die wässrige Stammlösung verwendet, wobei die Emissionsmaxima den Angaben des Herstellers zur Kalibrierung des Spektrometers entsprachen. Es konnte kein spektraler Unterschied zwischen den Nanopartikeln in Wasser und an Luft beobachtet werden.

Für die Einzelmolekülspektren von Perylendiimid und Terrylen wurden jeweils nanomolare Farbstofflösungen in Dichlormethan bzw. Toluol angesetzt und die entsprechende Matrix darin gelöst (PMMA: 60 mg/mL , *p*-Terphenyl: $2\text{--}3 \text{ mg/mL}$). Die Perylendiimid-PMMA-Lösung wurde auf ein Deckglas aufgetropft und das Dichlormethan anschließend für 90 min bei 50°C abgedampft. Das Toluol der Terrylen-*p*-Terphenyl-Lösung wurde dagegen nach dem Aufbringen auf ein Deckglas durch einen eigens konstruierten Spin-Coater entfernt (ca. 10 s, 3000 U/min).

Die Probenvorbereitung der Photosäure **5** im PMMA/TOPO-Gemisch (TOPO: 40 mg/mL, PMMA: 20 mg/mL) erfolgte analog zu Terrylen in *p*-Terphenyl mit zusätzlichen 300 μ M TFA, zur Vermeidung der Deprotonierung der Photosäure im Grundzustand (siehe Kapitel 5.2). Durch Auftropfen der Lösung (3-5 Tropfen) auf ein bereits rotierendes Deckglas (Spin-Casting) konnte die Bildung dünner transparenter Filme verbessert werden.

Die Säuberung der Deckgläser erfolgte analog zu der in Kapitel 5.4 verwendeten Methode und wurde jeweils durch Messung einer Blindprobe ohne Farbstoff verifiziert. Das Verhältnis der Signale zwischen Farbstoff- und Blindprobe lag typischerweise im Bereich von 50:1.

Beiträge der Koautoren

Toward Magic Photoacids: Proton Transfer in Concentrated Sulfuric Acid

J. Phys. Chem. A **2018**, 122, 9025-9030.

Daniel Maus: Konzeption, Visualisierung und Verfassung des Manuskriptes; Synthese und Charakterisierung der Photosäuren; Durchführung und Auswertung der pK_S-Wert-Titrationen, NMR-Messungen, TCSPC-Messungen und Stabilitätsuntersuchungen.

Alexander Grandjean: Durchführung und Auswertung der Sulfat-Titration; Mitwirken bei der Durchführung der TCSPC-Messungen.

Gregor Jung: Mitwirken bei der Verfassung und Konzeption des Manuskriptes; Anleitung der Promotionsarbeiten von Daniel Maus und Alexander Grandjean; Projektverwaltung.

Steady-State Spectroscopy to Single Out the Contact Ion Pair in Excited-State Proton Transfer

J. Phys. Chem. Lett. **2021**, 12, 1683-1689.

Alexander Grandjean: Konzeption, Visualisierung und Verfassung des Manuskriptes; Durchführung der experimentellen Messungen: komplexometrische Titrations¹, lösungsmittelabhängige Absorptions- bzw. Fluoreszenzspektren, Brechungsindizes, FTIR-Spektren, NMR-Spektren, TCSPC-Kurven¹; Erprobung verschiedener Photosäure-Base-Paare und Lösungsmittelgemische; Mathematische Herleitungen; Analyse und Auswertung der Daten: Komplexbildungskonstanten, Auflösung der einzelnen Fluoreszenzbanden, Protonentransfereffizienz, Lippert-Mataga-Analyse.

J. Luis Pérez Lustres: Mitwirken bei der Datenauswertung zur Auflösung der Fluoreszenzbanden; Mitwirken bei der Verfassung des Manuskriptes.

Stephan Muth: Berechnung des „*solvent excluding volume*“ a³.

Daniel Maus: Synthese und Charakterisierung der verwendeten Farbstoffe.

Gregor Jung: Mitwirken bei der Verfassung und Konzeption des Manuskriptes; Anleitung der Promotionsarbeiten von Alexander Grandjean und Daniel Maus; Projektverwaltung.

¹ Teilweise basierend auf Ergebnissen aus: Alexander Grandjean, Masterarbeit, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2016**.

Solvent-Controlled Intermolecular Proton-Transfer Follows an Irreversible Eigen-Weller Model from fs to ns

ChemPhotoChem **2021**, 5, 1094-1105.

Alexander Grandjean: Konzeption, Visualisierung und Verfassung des Manuskriptes; Durchführung der stationären und zeitaufgelösten Messungen; Datenauswertung und Interpretation: globale Anpassungen der zeitaufgelösten Spektren, Erzeugung von SAS und DAS, Zerlegung der TRES-Daten in die einzelnen Spezies, Anisotropie-Vergleich zwischen Photosäure und Komplex; Modellentwicklung zum Protonentransfersystem.

J. Luis Pérez Lustres: Gleichberechtigte Visualisierung und Verfassung des Manuskriptes mit A. Grandjean; Anleitung zur Durchführung der zeitaufgelösten Messungen; Datenauswertung und Interpretation in gleichberechtigter Zusammenarbeit mit A. Grandjean: globale Anpassungen der zeitaufgelösten Spektren, Erzeugung von SAS und DAS, Zerlegung der TRES-Daten in die einzelnen Spezies; Modellentwicklung zum Protonentransfersystem gleichberechtigt mit A. Grandjean; Projektverwaltung.

Gregor Jung: Mitwirken bei der Verfassung und Konzeption des Manuskriptes; Anleitung der Promotionsarbeit von Alexander Grandjean; Projektverwaltung.

Kinetics of Palladium(0)-Allyl Interactions in the Tsuji-Trost Reaction, derived from Single-Molecule Fluorescence Microscopy

ChemCatChem **2020**, 12, 2630-2637.

Johannes A. Menges: Konzeption, Visualisierung und Verfassung des Manuskriptes; Durchführung der Stern-Volmer (SV)-Ensembleexperimente und TCSPC-Experimente; Durchführung der TIRF-Einzelmolekülexperimente; Erprobung und Anwendung verschiedener Methoden zur Auswertung von Einzelmoleküldaten; Interpretation der Ergebnisse zum Erhalt und Vergleich der SV-Gleichgewichtskonstanten sowie kinetischer Zeitkonstanten.

Alexander Grandjean: Durchführung der FCS-Experimente; Auswertung der gewonnenen Daten zur Bestimmung kinetischer Konstanten und Mitwirken bei deren Interpretation; Verfassung des Abschnittes zur Beschreibung der FCS Methode im experimentellen Teil.

Anne Clasen: Synthese und Charakterisierung der verwendeten Farbstoff-Precursor; Durchführung der Ensemble-Kontrollexperimente zur Reaktivität und Stabilität der Substrate.

Gregor Jung: Mitwirken bei der Verfassung und Konzeption des Manuskriptes; Anleitung der Promotionsarbeiten von Johannes A. Menges, Alexander Grandjean und Anne Clasen; Projektverwaltung.

Abkürzungsverzeichnis

a³	Volumen der Lösungsmittelkavität
abs	Absorption
B	Protonenakzeptor, Base
CAB	Celluloseacetatbutyrat
const.	Konstante
CPX	reaktiver Komplex
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSE	Debye-Smoluchowski-Gleichung
E	Energie
E_T(30)	Parameter der Reichardt-Skala
E_D	Dissoziationsenergie
el	elektronisch
em	Emission
ESA	Angeregter Zustand Absorption (engl. <i>excited-state absorption</i>)
ESPT	Protonentransfer im angeregten Zustand (engl. <i>excited-state proton transfer</i>)
ET	Elektronentransfer
et al.	und andere (lat. <i>et alia</i> / <i>et alii</i> / <i>et aliae</i>)
f(n)	hochfrequente Polarisierbarkeit
f(ε)	molekulare Gesamtpolarisierbarkeit
fs	Femtosekunden
FSIP	vollständig getrenntes Ionenpaar (engl. <i>fully separated ion pair</i>)
HBIP	wasserstoffbrückengebundenes Ionenpaar (engl. <i>hydrogen-bonded ion pair</i>)
HPTA	8-Hydroxy- <i>N,N,N',N',N'',N''</i> - hexamethylpyren-1,3,6-trisulfonamid
HPTS	8-Hydroxypyren-1,3,6-trisulfonat
IRF	Instrumentenantwort-Funktion (engl. <i>instrument response function</i>)
K	Gleichgewichtskonstante
k_b	Boltzmannkonstante
K_B	Komplexbildungskonstante

KIE	kinetischer Isotopeneffekt
λ_{exc}	Anregungswellenlänge
n	Brechungsindex
or	Orientierung
PAINT	engl. <i>point accumulation for imaging in nanoscale topography</i>
PC	Polycarbonat
PMMA	Polymethylmethacrylat
ps	Pikosekunden
PS	Polystyrol
PT	Protonentransfer
PTTS	Protonentransfer zum Lösungsmittel (engl. <i>proton transfer to solvent</i>)
\bar{R}	Reaktionsfeld
RO⁻	Basenform der Photosäure
ROH	Säureform der Photosäure
ROH:TOPO	Komplex aus Photosäure und TOPO
SA	Azidität nach Catalán
SAN	Poly(styrol-co-acrylnitril)
SB	Basizität nach Catalán
SdP	Dipolarität nach Catalán
SE	stimulierte Emission
SP	Polarisierbarkeit nach Catalán
sPAINT	engl. <i>spectral-resolved point accumulation for imaging in nanoscale topography</i>
SSIP	Lösungsmittelgetrenntes Ionenpaar (engl. <i>solvent-separated ion pair</i>)
T	Temperatur
TA	Transiente Absorption
TCSPC	Zeitkorreliertes Einzelphotonenzählen (engl. <i>time correlated single photon counting</i>)
TFA	Trifluoressigsäure
TIRF	Interne Totalreflexionsfluoreszenz (engl. <i>total internal reflection fluorescence</i>)
TOPO	Tri-n-octyl-phosphinoxid

$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
Z	Parameter der Kosower-Skala
$z(t)$	Solvatationskoordinate
α	Azidität nach Kamlet-Taft
β	Basizität nach Kamlet-Taft
ΔA	Transiente Absorption (Messgröße)
ΔE	Aktivierungsenergie
Δf	Orientierungspolarisierbarkeit
ΔG	freie Enthalpie, Gibbs-Energie
$\Delta \tilde{\nu}$	Stokes-Verschiebung (in Wellenzahl)
$\Delta \mu$	Änderung des permanenten Dipolmoments durch die elektronische Anregung
ε	Dielektrizitätskonstante
θ_c	kritischer Einfallswinkel
λ	Wellenlänge
λ_s	Reorganisationsenergie nach Marcus
$\vec{\mu}$	permanentes Dipolmoment
$\vec{\mu}_E$	permanentes Dipolmoment des elektronisch angeregten Zustandes
$\vec{\mu}_G$	permanentes Dipolmoment des elektronischen Grundzustandes
π	Polarisierbarkeit und Dipolarität des Solvens nach Kamlet-Taft

Literaturverzeichnis

- [1] H. Shen, X. Zhou, N. Zou, P. Chen, *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 26902–26911.
- [2] M. H. Gehlen, L. S. Foltran, D. F. Kienle, D. K. Schwartz, *J. Phys. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 9714–9724.
- [3] A. Rybina, C. Lang, M. Wirtz, K. Großmayer, A. Kurz, F. Maier, A. Schmitt, O. Trapp, G. Jung, D.-P. Herten, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 6322–6325.
- [4] E. M. Hanada, K. Jess, S. A. Blum, *Chem. – A Eur. J.* **2020**, *26*, 15094–15098.
- [5] Z. Ristanović, A. V. Kubarev, J. Hofkens, M. B. J. Roefsaers, B. M. Weckhuysen, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13586–13596.
- [6] J. L. Pérez-Lustres, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, T. A. Senyushkina, N. P. Ernsting, S. A. Kovalenko, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5408–5418.
- [7] E.-A. Gould, A. V. Popov, L. M. Tolbert, I. Presiado, Y. Erez, D. Huppert, K. M. Solntsev, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 8964–8973.
- [8] M. Veiga-Gutiérrez, A. Brenlla, C. Carreira Blanco, B. Fernández, S. A. Kovalenko, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, J. L. P. Lustres, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 14065–14078.
- [9] T. Kumpulainen, A. Rosspeintner, B. Dereka, E. Vauthey, *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 4516–4521.
- [10] O. Eivgi, S. A. Blum, *Trends Chem.* **2022**, *4*, 5–14.
- [11] R. J. Pfab, J. Zimmermann, C. Hettich, I. Gerhardt, A. Renn, V. Sandoghdar, *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *387*, 490–495.
- [12] A. Remy, K. Gerwert, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2003**, *10*, 637–644.
- [13] K. Gerwert, *Biol. Chem.* **1999**, *380*, 159–166.
- [14] Y. Li, J. L. Pérez Lustres, H.-R. Volpp, T. Backup, T. Kolmar, A. Jäschke, M. Motzkus, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 22867–22876.
- [15] G. Samjeské, M. Osawa, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 5694–5698.

-
- [16] L. Lewis-Borrell, M. Sneha, I. P. Clark, V. Fasano, A. Noble, V. K. Aggarwal, A. J. Orr-Ewing, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 17191–17199.
- [17] N. Wollscheid, J. L. Pérez Lustres, O. Kefer, S. Hahn, V. Brosius, U. H. F. Bunz, M. Motzkus, T. Buckup, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 5202.
- [18] Z. Kuang, F. J. Berger, J. L. P. Lustres, N. Wollscheid, H. Li, J. Lüttgens, M. B. Leinen, B. S. Flavel, J. Zaumseil, T. Buckup, *J. Phys. Chem. C* **2021**, *125*, 8125–8136.
- [19] T. Biskup, *Front. Chem.* **2019**, *7*, 1–22.
- [20] M. Maroncelli, *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 2084–2103.
- [21] M. L. Horng, J. A. Gardecki, A. Papazyan, M. Maroncelli, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 17311–17337.
- [22] D. Bingemann, N. P. Ernsting, *J. Chem. Phys.* **1995**, *102*, 2691–2700.
- [23] D. C. Easter, A. P. Baronavski, *Chem. Phys. Lett.* **1993**, *201*, 153–158.
- [24] H. Zhang, A. M. Jonkman, P. van der Meulen, M. Glasbeek, *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *224*, 551–556.
- [25] T. Gustavsson, G. Baldacchino, J.-C. Mialocq, S. Pommeret, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, *236*, 587–594.
- [26] P. B. Corkum, F. Krausz, *Nat. Phys.* **2007**, *3*, 381–387.
- [27] T. Brabec, F. Krausz, *Rev. Mod. Phys.* **2000**, *72*, 545–591.
- [28] Y. Morimoto, P. Baum, *Nat. Phys.* **2018**, *14*, 252–256.
- [29] M. Hentschel, R. Kienberger, C. Spielmann, G. A. Reider, N. Milosevic, T. Brabec, P. Corkum, U. Heinzmann, M. Drescher, F. Krausz, *Nature* **2001**, *414*, 509–513.
- [30] P. M. Paul, E. S. Toma, P. Breger, G. Mullot, F. Augé, P. Balcou, H. G. Muller, P. Agostini, *Science* **2001**, *292*, 1689–1692.
- [31] P.-T. Chou, K. M. Solntsev, *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119*, 2089–2089.
- [32] H. Yeo, A. Khan, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 3479–3488.

-
- [33] W. White, C. D. Sanborn, R. S. Reiter, D. M. Fabian, S. Ardo, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 11726–11733.
- [34] S. A. Roget, P. L. Kramer, J. E. Thomaz, M. D. Fayer, *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*, 9408–9417.
- [35] M. P. M. Dicker, A. B. Baker, R. J. Iredale, S. Naficy, I. P. Bond, C. F. J. Faul, J. M. Rossiter, G. M. Spinks, P. M. Weaver, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–8.
- [36] P. A. Frey, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, S190–S198.
- [37] J. Šponer, J. Leszczynski, P. Hobza, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1996**, *14*, 117–135.
- [38] T. Förster, *Naturwissenschaften* **1949**, *6*, 186–187.
- [39] T. Förster, *Z. Elektrochem.* **1950**, *54*, 42–46.
- [40] N. Agmon, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 13–35.
- [41] T. Kumpulainen, B. Lang, A. Rosspeintner, E. Vauthey, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 10826–10939.
- [42] S. A. Kovalenko, J. L. Pérez Lustres, N. P. Ernsting, W. Rettig, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 10228–10232.
- [43] H. P. Latscha, U. Kizmaier, H. A. Klein, *Organische Chemie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2016**.
- [44] K. Schwetlick, *Organikum*, Wiley-VCH, Dresden, **2009**.
- [45] L.-J. Yu, M. L. Coote, *J. Phys. Chem. A* **2019**, *123*, 582–589.
- [46] M. Maroncelli, G. R. Fleming, *J. Chem. Phys.* **1988**, *89*, 875–881.
- [47] E. A. Carter, J. T. Hynes, *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 5961–5979.
- [48] C. F. Chapman, M. Maroncelli, *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 9095–9114.
- [49] P. K. Mandal, A. Samanta, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 15172–15177.
- [50] A. Samanta, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 1557–1562.
- [51] J. Ruthmann, S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, D. Ouw, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 5466–

5468.

- [52] S. A. Kovalenko, N. P. Ernsting, J. Ruthmann, *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 3504–3511.
- [53] S. Brownstein, *Can. J. Chem.* **1960**, *38*, 1590–1596.
- [54] C. Reichardt, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, **1988**.
- [55] S. Cha, M. G. Choi, H. R. Jeon, S.-K. Chang, *Sensors Actuators B Chem.* **2011**, *157*, 14–18.
- [56] A. V. Kulinich, E. K. Mikitenko, A. A. Ishchenko, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 3444–3453.
- [57] E. Lippert, *Zeitschrift für Naturforsch. A* **1955**, *10*, 541–545.
- [58] E. Lippert, *Z. Elektrochem.* **1957**, *61*, 962–975.
- [59] N. Mataga, Y. Kaifu, M. Koizumi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, *29*, 465–470.
- [60] N. Mataga, T. Kubota, in *Mol. Interact. Electron. Spectra*, Marcel Dekker Inc., New York, **1970**, pp. 371–410.
- [61] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer Science+Business Media, New York, **2006**.
- [62] G. von Büнау, T. Wolff, *Photochemie*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, **1987**.
- [63] J. Rau, Solvatationsdynamik von Flüssigkristallen in Der Isotropen Phase Am Beispiel Der Alkylcyanobiphenyle, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **1999**.
- [64] L. Onsager, *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1486–1493.
- [65] S. K. Pal, A. Devi, S. K. Ghosh, *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121*, 5324–5334.
- [66] P. Suppan, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **1990**, *50*, 293–330.
- [67] R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.* **1963**, *39*, 1734–1740.

-
- [68] N. S. Bayliss, E. G. McRae, *J. Phys. Chem.* **1954**, *58*, 1002–1006.
- [69] E. G. McRae, *J. Phys. Chem.* **1957**, *61*, 562–572.
- [70] E. Lippert, W. Lüder, F. Moll, W. Nägele, H. Boos, H. Prigge, I. Seibold-Blankenstein, *Angew. Chemie* **1961**, *73*, 695–706.
- [71] C. Spies, B. Finkler, N. Acar, G. Jung, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15*, 19893–19905.
- [72] P. V. Kumar, M. Maroncelli, *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 3038–3060.
- [73] C. F. Chapman, R. S. Fee, M. Maroncelli, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4929–4935.
- [74] H. Sumi, R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.* **1986**, *84*, 4894–4914.
- [75] M. J. Kamlet, J. L. M. Abboud, M. H. Abraham, R. W. Taft, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2877–2887.
- [76] J. Jortner, A. Gaathon, *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 1801–1819.
- [77] L. Onsager, *Int. Conf. Electrons Fluids, Banff* **1976**.
- [78] M. Tachiya, H. Watanabe, *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 3056–3060.
- [79] M. Tachiya, *Chem. Phys. Lett.* **1993**, *203*, 164–165.
- [80] A. Papazyan, M. Maroncelli, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 6431–6436.
- [81] A. Chandra, B. Bagchi, *J. Chem. Phys.* **1989**, *91*, 2594–2598.
- [82] I. Rips, J. Klafter, J. Jortner, *J. Chem. Phys.* **1988**, *89*, 4288–4299.
- [83] P. G. Wolynes, *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 5133–5136.
- [84] E. M. Kosower, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3253–3260.
- [85] K. Dimroth, C. Reichardt, T. Siepmann, F. Bohlmann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1963**, *661*, 1–37.
- [86] C. Reichardt, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1971**, *752*, 64–67.
- [87] C. Reichardt, *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1979**, *18*, 98–110.
- [88] C. Reichardt, E. Harbusch-Görnert, *Liebigs Ann. der Chemie* **1983**, *1983*, 721–743.

-
- [89] C. Spies, Solvent- and Time-Dependent Fluorescence of Photoacids Based on Pyranine, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2014**.
- [90] R. W. Taft, M. J. Kamlet, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2886–2894.
- [91] M. J. Kamlet, R. W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 377–383.
- [92] M. J. Kamlet, J. L. Abboud, R. W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6027–6038.
- [93] J. Catalán, C. Díaz, V. López, P. Pérez, J. L. G. De Paz, J. G. Rodríguez, *Liebigs Ann.* **1996**, *1996*, 1785–1794.
- [94] J. Catalán, C. Díaz, *Liebigs Ann.* **1997**, *1997*, 1941–1949.
- [95] J. Catalán, H. Hopf, *European J. Org. Chem.* **2004**, *22*, 4694–4702.
- [96] J. Catalán, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 5951–5960.
- [97] W. J. Cheong, P. W. Carr, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 820–826.
- [98] E. L. Wehry, L. B. Rogers, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 4234–4238.
- [99] N. Mikami, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 683–695.
- [100] E. Pines, D. Tepper, B.-Z. Magnes, D. Pines, T. Barak, *Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie* **1998**, *102*, 504–510.
- [101] E. Pines, G. R. Fleming, *Chem. Phys.* **1994**, *183*, 393–402.
- [102] K. Tsutsumi, H. Shizuka, *Chem. Phys. Lett.* **1977**, *52*, 485–488.
- [103] E. Pines, D. Huppert, N. Agmon, *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 5620–5630.
- [104] B. Finkler, C. Spies, M. Vester, F. Walte, K. Omlor, I. Riemann, M. Zimmer, F. Stracke, M. Gerhards, G. Jung, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 548–562.
- [105] T. G. Kim, M. R. Topp, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10060–10065.
- [106] A. V. Popov, E.-A. Gould, M. A. Salvitti, R. Hernandez, K. M. Solntsev, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 14914.
- [107] R. Simkovitch, E. Kisin-Finifer, S. Shomer, R. Gepshtein, D. Shabat, D. Huppert, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2013**, *254*, 45–53.

- [108] K. Weber, *Z. Phys. Chem.* **1931**, *15*, 18–44.
- [109] C. Spies, S. Shomer, B. Finkler, D. Pines, E. Pines, G. Jung, D. Huppert, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 9104–9114.
- [110] R. Simkovitch, S. Shomer, R. Gepshtein, D. Huppert, *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119*, 2253–2262.
- [111] A. Weller, *Z. Elektrochem.* **1952**, *56*, 662–668.
- [112] L. M. Tolbert, K. M. Solntsev, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 19–27.
- [113] G. Jung, S. Gerharz, A. Schmitt, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 1416–1426.
- [114] I. Presiado, N. Karton-Lifshin, Y. Erez, R. Gepshtein, D. Shabat, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 7353–7363.
- [115] R. Simkovitch, N. Karton-Lifshin, S. Shomer, D. Shabat, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 3405–3413.
- [116] R. Simkovitch, K. Akulov, S. Shomer, M. E. Roth, D. Shabat, T. Schwartz, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 4425–4443.
- [117] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165–195.
- [118] K. Michael, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14–19.
- [119] N. Agmon, W. Rettig, C. Groth, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1089–1096.
- [120] W. H. Fang, *J. Chem. Phys.* **2000**, *112*, 1204–1211.
- [121] L. N. Silverman, D. B. Spry, S. G. Boxer, M. D. Fayer, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 10244–10249.
- [122] D. B. Spry, M. D. Fayer, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 084508.
- [123] J. N. Brönsted, *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **1923**, *42*, 718–728.
- [124] J. N. Brönsted, *J. Phys. Chem.* **1926**, *30*, 777–790.
- [125] J. N. Brönsted, *Chem. Rev.* **1928**, *5*, 231–338.
- [126] T. M. Lowry, *Chem. Ind.* **1923**, *42*, 43–47.

-
- [127] G. B. Kauffman, *J. Chem. Educ.* **1988**, *65*, 28–31.
- [128] M. Eigen, *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1964**, *3*, 1–19.
- [129] A. Weller, *Z. Elektrochem.* **1954**, *58*, 849–853.
- [130] A. Weller, *Z. Phys. Chem. (Muenchen, Ger.)* **1958**, *17*, 224–245.
- [131] A. Weller, *Progress in Reaction Kinetics*, Pergamon Press, London, **1961**.
- [132] M. Rini, D. Pines, B. Z. Magnes, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 9593–9610.
- [133] F. Han, W. Liu, C. Fang, *Chem. Phys.* **2013**, *422*, 204–219.
- [134] W. Liu, F. Han, C. Smith, C. Fang, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 10535–10550.
- [135] O. F. Mohammed, D. Pines, J. Dreyer, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Science* **2005**, *310*, 83–86.
- [136] D. B. Spry, A. Goun, M. D. Fayer, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 230–237.
- [137] E. Pines, D. Huppert, *Chem. Phys. Lett.* **1986**, *126*, 88–91.
- [138] E. Pines, D. Huppert, *J. Chem. Phys.* **1986**, *84*, 3576–3577.
- [139] P. Debye, *Trans. Electrochem. Soc.* **1942**, *82*, 265–272.
- [140] M. v. Smoluchowski, *Z. Phys. Chem.* **1917**, *92*, 129–168.
- [141] D. Pines, E. Pines, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 951–953.
- [142] R. Gepshtein, P. Leiderman, L. Genosar, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 9674–9684.
- [143] P. Leiderman, L. Genosar, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5965–5977.
- [144] J. R. Platt, *J. Chem. Phys.* **1949**, *17*, 484–495.
- [145] B.-Z. Magnes, N. V. Strashnikova, E. Pines, *Isr. J. Chem.* **1999**, *39*, 361–373.
- [146] T.-H. Tran-Thi, T. Gustavsson, C. Prayer, S. Pommeret, J. T. Hynes, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *329*, 421–430.

-
- [147] T.-H. Tran-Thi, C. Prayer, P. Milli , P. Uznanski, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 2244–2255.
- [148] J. T. Hynes, T.-H. Tran-Thi, G. Granucci, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2002**, *154*, 3–11.
- [149] O. F. Mohammed, J. Dreyer, B. Z. Magnes, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 625–636.
- [150] E. Pines, D. Pines, Y.-Z. Ma, G. R. Fleming, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 1315–1327.
- [151] R. Knochenmuss, I. Fischer, D. L hrs, Q. Lin, *Isr. J. Chem.* **1999**, *39*, 221–230.
- [152] E. Pines, in *Chem. Phenols*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2005**, pp. 491–527.
- [153] D. Pines, E. Pines, in *Hydrog. React.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2007**, pp. 377–415.
- [154] D. B. Spry, A. Goun, C. B. Bell, M. D. Fayer, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 144514.
- [155] G. Zundel, H. Metzger, *Zeitschrift für Phys. Chemie* **1968**, *58*, 225–245.
- [156] W. Klöpffer, in *Adv. Photochem.* (Eds.: J.N.P. Jr., G.S. Hammond, K. Gollnick), John Wiley & Sons, Inc., New York, **1977**, pp. 311–358.
- [157] I. Y. Martynov, A. B. Demyashkevich, B. M. Uzhinov, M. G. Kuz'min, *Russ. Chem. Rev.* **1977**, *46*, 1–15.
- [158] M. Kasha, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1986**, *82*, 2379–2392.
- [159] P. F. Barbara, P. K. Walsh, L. E. Brus, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 29–34.
- [160] S. J. Formosinho, L. G. Arnaut, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **1993**, *75*, 21–48.
- [161] A. Douhal, F. Lahmani, A. H. Zewail, *Chem. Phys.* **1996**, *207*, 477–498.
- [162] B. M. Uzhinov, M. N. Khimich, *Russ. Chem. Rev.* **2011**, *80*, 553–577.
- [163] M. Vester, Antibunching Und Protonentransfer: Abstandshaltende Photonen Als Instrument Chemischer Kinetik, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2016**.

-
- [164] T. Kumpulainen, B. H. Bakker, A. M. Brouwer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2015**, *17*, 20715–20724.
- [165] L. Biczók, P. Valat, V. Wintgens, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, *2*, 230–235.
- [166] R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.* **1956**, *24*, 966–978.
- [167] R. A. Marcus, *J. Chem. Phys.* **1965**, *43*, 679–701.
- [168] R. A. Marcus, *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1993**, *32*, 1111–1121.
- [169] R. A. Marcus, *J. Phys. Chem.* **1968**, *72*, 891–899.
- [170] J. R. Miller, L. T. Calcaterra, G. L. Closs, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3047–3049.
- [171] A. O. Cohen, R. A. Marcus, *J. Phys. Chem.* **1968**, *72*, 4249–4256.
- [172] R. A. Marcus, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 7224–7225.
- [173] E. D. German, A. M. Kuznetsov, R. R. Dogonadze, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* **1980**, *76*, 1128–1146.
- [174] E. Pines, D. Pines, T. Barak, B.-Z. Magnes, L. M. Tolbert, J. E. Haubrich, *Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie* **1998**, *102*, 511–517.
- [175] O. F. Mohammed, D. Pines, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Chem. Phys.* **2007**, *341*, 240–257.
- [176] N. Munitz, Y. Avital, D. Pines, E. T. J. Nibbering, E. Pines, *Isr. J. Chem.* **2009**, *49*, 261–272.
- [177] K. Adamczyk, M. Prémont-Schwarz, D. Pines, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Science* **2009**, *326*, 1690–1694.
- [178] M. Prémont-Schwarz, T. Barak, D. Pines, E. T. J. Nibbering, E. Pines, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 4594–4603.
- [179] P. M. Kiefer, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1834–1849.
- [180] P. M. Kiefer, J. T. Hynes, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1850–1861.
- [181] K. S. Peters, A. Cashin, P. Timbers, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 107–113.
- [182] B. Cohen, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 2980–2988.

- [183] B. Cohen, P. Leiderman, D. Huppert, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11115–11122.
- [184] K. S. Peters, G. Kim, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 2598–2606.
- [185] B. J. Ka, W. H. Thompson, *J. Phys. Chem. A* **2012**, *116*, 832–838.
- [186] F. Messina, M. Prémont-Schwarz, O. Braem, D. Xiao, V. S. Batista, E. T. J. Nibbering, M. Chergui, *Angew. Chemie* **2013**, *125*, 7009–7013.
- [187] K. B. Wiberg, *Chem. Rev.* **1955**, *55*, 713–743.
- [188] F. H. Westheimer, *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 265–273.
- [189] K. S. Peters, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 89–96.
- [190] D. Maus, Synthese Und Charakterisierung Neuartiger Photosäuren Auf Basis von Pyren Und Diazapyren - Protonentransfer in Konzentrierter Schwefelsäure, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2021**.
- [191] C. P. Andrieux, J. Gamby, P. Hapiot, J. M. Savéant, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10119–10124.
- [192] A. Brenlla, M. Veiga Gutiérrez, M. C. Ríos Rodríguez, F. Rodríguez-Prieto, M. Mosquera, J. L. Pérez Lustres, *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 989–994.
- [193] W. Becker, *The Bh TCSPC Handbook*, Becker & Hickl GmbH, **2008**.
- [194] S. A. Kovalenko, A. L. Dobryakov, J. Ruthmann, N. P. Ernsting, *Phys. Rev. A* **1999**, *59*, 2369–2384.
- [195] U. Megerle, I. Pugliesi, C. Schrieffer, C. F. Sailer, E. Riedle, *Appl. Phys. B* **2009**, *96*, 215–231.
- [196] A. L. Dobryakov, S. A. Kovalenko, A. Weigel, J. L. Pérez-Lustres, J. Lange, A. Müller, N. P. Ernsting, *Rev. Sci. Instrum.* **2010**, *81*, 113106.
- [197] J.-C. Diels, W. Rudolph, *Ultrashort Laser Pulse Phenomena*, Elsevier, London, **2006**.
- [198] L. M. Bollinger, G. E. Thomas, *Rev. Sci. Instrum.* **1961**, *32*, 1044–1050.
- [199] A. Grüter, Fluoreszenzlebensdauer-Korrelationsspektroskopie Zum Nachweis Und Zur Quantifizierung von Kupfer(II)-Ionen, Dissertation, Universität des Saarlandes,

- [200] G. I. Redford, R. M. Clegg, *J. Fluoresc.* **2005**, *15*, 805–815.
- [201] R. Swaminathan, N. Periasamy, *Proc. Indian Acad. Sci. Chem. Sci.* **1996**, *108*, 39–49.
- [202] K. Egawa, N. Nakashima, N. Mataga, C. Yamanaka, *Chem. Phys. Lett.* **1971**, *8*, 108–110.
- [203] W. R. Ware, S. K. Lee, G. J. Brant, P. P. Chow, *J. Chem. Phys.* **1971**, *54*, 4729–4737.
- [204] S. K. Chakrabarti, W. R. Ware, *J. Chem. Phys.* **1971**, *55*, 5494–5498.
- [205] A. S. R. Koti, M. M. G. Krishna, N. Periasamy, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 1767–1771.
- [206] K. Sahu, N. Nandi, S. Dolai, A. Bera, *J. Phys. Chem. B* **2018**, *122*, 6610–6615.
- [207] C. Ruckebusch, M. Sliwa, P. Pernot, A. de Juan, R. Tauler, *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **2012**, *13*, 1–27.
- [208] R. Berera, R. van Grondelle, J. T. M. Kennis, *Photosynth. Res.* **2009**, *101*, 105–118.
- [209] J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley, London, **1970**.
- [210] X. Tan, T. L. Gustafson, C. Lefumeux, G. Burdzinski, G. Buntinx, O. Poizat, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 3593–3598.
- [211] S. Pullen, L. A. Walker, B. Donovan, R. J. Sension, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, *242*, 415–420.
- [212] D. M. Niedzwiedzki, J. O. Sullivan, T. Polívka, R. R. Birge, H. A. Frank, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 22872–22885.
- [213] E. A. Kovrigina, B. Pattengale, C. Xia, A. R. Galiakhmetov, J. Huang, J.-J. P. Kim, E. L. Kovrigin, *Biochemistry* **2016**, *55*, 5973–5976.
- [214] A. D. Stahl, M. Di Donato, I. van Stokkum, R. van Grondelle, M. L. Groot, *Biophys. J.* **2009**, *97*, 3215–3223.
- [215] D. Kosumi, S. Maruta, T. Horibe, R. Fujii, M. Sugisaki, R. J. Cogdell, H. Hashimoto, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, *50*, 1097–1100.
- [216] H. Kandori, K. Kemnitz, K. Yoshihara, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 8042–8048.
- [217] G. Angulo, A. Rosspeintner, B. Lang, E. Vauthey, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*,

25531–25546.

- [218] D. Axelrod, T. P. Burghardt, N. L. Thompson, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **1984**, *13*, 247–268.
- [219] D. Axelrod, E. H. Hellen, R. M. Fulbright, in *Top. Fluoresc. Spectrosc.* (Ed.: J.R. Lakowicz), Springer US, Boston, MA, **2002**, pp. 289–343.
- [220] D. Axelrod, *Encycl. Cell Biol.* **2015**, *2*, 62–69.
- [221] J. A. Menges, Visualisierung Chemischer Prozesse Mittels Einzelmolekül-Fluoreszenz-Mikroskopie, Dissertation, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2020**.
- [222] W. E. Moerner, L. Kador, *Phys. Rev. Lett.* **1989**, *62*, 2535–2538.
- [223] L. Möckl, W. E. Moerner, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 17828–17844.
- [224] F. Güttler, T. Irngartinger, T. Plakhotnik, A. Renn, U. P. Wild, *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *217*, 393–397.
- [225] W. P. Ambrose, W. E. Moerner, *Nature* **1991**, *349*, 225–227.
- [226] R. Brown, M. Orrit, in *Single-Molecule Opt. Detect. Imaging Spectrosc.*, VCH Verlagsgesellschaft MbH, Weinheim, Germany, **2007**, pp. 109–142.
- [227] T. Basché, S. Kummer, C. Bräuchle, *Nature* **1995**, *373*, 132–134.
- [228] M. Orrit, J. Bernard, *Phys. Rev. Lett.* **1990**, *65*, 2716–2719.
- [229] E. Betzig, *Opt. Lett.* **1995**, *20*, 237–239.
- [230] E. Betzig, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W. Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacino, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz, H. F. Hess, *Science* **2006**, *313*, 1642–1645.
- [231] R. M. Dickson, A. B. Cubitt, R. Y. Tsien, W. E. Moerner, *Nature* **1997**, *388*, 355–358.
- [232] S. W. Hell, J. Wichmann, *Opt. Lett.* **1994**, *19*, 780.
- [233] S. W. Hell, M. Kroug, *Appl. Phys. B Lasers Opt.* **1995**, *60*, 495–497.
- [234] T. A. Klar, S. Jakobs, M. Dyba, A. Egner, S. W. Hell, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2000**, *97*, 8206–8210.

-
- [235] E. Abbe, *Arch. für Mikroskopische Anat.* **1873**, *9*, 413–418.
- [236] S. T. Hess, T. P. K. Girirajan, M. D. Mason, *Biophys. J.* **2006**, *91*, 4258–4272.
- [237] M. J. Rust, M. Bates, X. Zhuang, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 793–796.
- [238] J. A. Menges, A. Clasen, M. Jourdain, J. Beckmann, C. Hoffmann, J. König, G. Jung, *Langmuir* **2019**, *35*, 2506–2516.
- [239] T. Ha, T. Enderle, D. S. Chemla, P. R. Selvin, S. Weiss, *Chem. Phys. Lett.* **1997**, *271*, 1–5.
- [240] X. Qu, D. Wu, L. Mets, N. F. Scherer, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 11298–11303.
- [241] M. P. Gordon, T. Ha, P. R. Selvin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 6462–6465.
- [242] T. Christ, Einzelmolekülspektroskopie Zwischen 1.4 K Und Raumtemperatur - Untersuchungen Zur Elektronischen Wechselwirkung in Multichromophoren Systemen Sowie Zur Photooxidation von Terrylen, Dissertation, Johannes Gutenberg–Universität, Mainz, **2002**.
- [243] T. Christ, F. Kulzer, P. Bordat, T. Basché, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2001**, *40*, 4192–4195.
- [244] F. D. Stefani, X. Zhong, W. Knoll, M. Han, M. Kreiter, *New J. Phys.* **2005**, *7*, 197–197.
- [245] P. Frantsuzov, M. Kuno, B. Jankó, R. A. Marcus, *Nat. Phys.* **2008**, *4*, 519–522.
- [246] T. Hirschfeld, *Can. Spectrosc.* **1965**, *10*, 128.
- [247] A. G. Tweet, G. L. Gaines, W. D. Bellamy, *J. Chem. Phys.* **1964**, *40*, 2596–2600.
- [248] C. K. Carniglia, L. Mandel, K. H. Drexhage, *J. Opt. Soc. Am.* **1972**, *62*, 479–486.
- [249] M. B. J. Roeffaers, G. De Cremer, H. Uji-i, B. Muls, B. F. Sels, P. A. Jacobs, F. C. De Schryver, D. E. De Vos, J. Hofkens, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 12603–12609.
- [250] S. M. Canham, J. Y. Bass, O. Navarro, S.-G. Lim, N. Das, S. A. Blum, *Organometallics* **2008**, *27*, 2172–2175.
- [251] N. M. Esfandiari, S. A. Blum, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 18145–18147.
- [252] P. Tchenio, A. B. Myers, W. E. Moerner, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 2491–2493.
- [253] T. D. Lacoste, X. Michalet, F. Pinaud, D. S. Chemla, A. P. Alivisatos, S. Weiss, *Proc. Natl.*

- Acad. Sci.* **2000**, 97, 9461–9466.
- [254] J. Beckmann, Aufbau Eines Einzelmolekülfluoreszenzspektrometers, Masterarbeit, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2018**.
- [255] C. F. Seebacher, Einzelmolekülspektroskopie von Organischen Farbstoffmolekülen in Porösen Festkörpern Und Tieftemperaturspektroskopie an Dem Grün Fluoreszierenden Protein, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **2002**.
- [256] H. P. Lu, X. S. Xie, *Nature* **1997**, 385, 143–146.
- [257] R. Kettner, J. Tittel, T. Basche, C. Braeuchle, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 6671–6674.
- [258] A. Zumbusch, L. Fleury, R. Brown, J. Bernard, M. Orrit, *Phys. Rev. Lett.* **1993**, 70, 3584–3587.
- [259] T. Basché, W. P. Ambrose, W. E. Moerner, *J. Opt. Soc. Am. B* **1992**, 9, 829–836.
- [260] W. P. Ambrose, T. Basché, W. E. Moerner, *J. Chem. Phys.* **1991**, 95, 7150–7163.
- [261] J. K. Trautman, J. J. Macklin, L. E. Brus, E. Betzig, *Nature* **1994**, 369, 40–42.
- [262] M. N. Bongiovanni, J. Godet, M. H. Horrocks, L. Tosatto, A. R. Carr, D. C. Wirthensohn, R. T. Ranasinghe, J. E. Lee, A. Ponjavic, J. V. Fritz, C. M. Dobson, D. Klenerman, S. F. Lee, *Nat. Commun.* **2016**, 7, 1–9.
- [263] A. Sharonov, R. M. Hochstrasser, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2006**, 103, 18911–18916.
- [264] Z. Qu, P. Li, X. Zhang, E. Wang, Y. Wang, P. Zhou, *J. Lumin.* **2016**, 177, 197–203.
- [265] P. Verma, A. Rosspeintner, B. Dereka, E. Vauthey, T. Kumpulainen, *Chem. Sci.* **2020**, 11, 7963–7971.
- [266] M. Rini, B.-Z. Magnes, E. Pines, E. T. J. Nibbering, *Science* **2003**, 301, 349–352.
- [267] J. C. Penedo, M. Mosquera, F. Rodríguez-Prieto, *J. Phys. Chem. A* **2000**, 104, 7429–7441.
- [268] Y. M. Lee, S.-Y. Park, H. Kim, T. G. Kim, O.-H. Kwon, *Methods Appl. Fluoresc.* **2016**, 4, 024004.
- [269] P. Verma, A. Rosspeintner, T. Kumpulainen, *RSC Adv.* **2020**, 10, 23682–23689.

-
- [270] S. R. Sternberg, *Computer (Long. Beach. Calif)*. **1983**, *16*, 22–34.
- [271] A. Yadigarli, Q. Song, S. I. Druzhinin, H. Schönherr, *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 2552–2562.
- [272] S. Kummer, F. Kulzer, R. Kettner, T. Basché, C. Tietz, C. Glowatz, C. Krysch, *J. Chem. Phys.* **1997**, *107*, 7673–7684.
- [273] P. Bordat, R. Brown, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 229–236.
- [274] F. Kulzer, Untersuchungen Zum Nichtphotochemischen Lochbrennen Auf Einzelmolekülebene Am Modellsystem Terrylen in p-Terphenyl, Dissertation, Johannes Gutenberg Universität Mainz, Mainz, **2000**.
- [275] E. C. J. Gießelmann, Photosäure-Komplex in Fester Matrix, Bachelorarbeit, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2019**.
- [276] R. J. Gillespie, R. H. Cole, *Trans. Faraday Soc.* **1956**, *52*, 1325–1331.
- [277] M. D. Mason, K. Ray, R. D. Grober, G. Pohlers, J. Cameron, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 073004.
- [278] Z. Ristanović, A. D. Chowdhury, R. Y. Brogaard, K. Houben, M. Baldus, J. Hofkens, M. B. J. Roelfaers, B. M. Weckhuysen, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 14195–14205.
- [279] E. D. Bott, E. A. Riley, B. Kahr, P. J. Reid, *ACS Nano* **2009**, *3*, 2403–2411.
- [280] E. A. Riley, C. M. Hess, J. R. L. Pioquinto, W. Kaminsky, B. Kahr, P. J. Reid, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 4313–4324.
- [281] S. Cai, W. Deng, F. Huang, L. Chen, C. Tang, W. He, S. Long, R. Li, Z. Tan, J. Liu, J. Shi, Z. Liu, Z. Xiao, D. Zhang, W. Hong, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2019**, *58*, 3829–3833.
- [282] M. Bitsch, A. K. Boehm, A. Grandjean, G. Jung, M. Gallei, *Molecules* **2021**, *26*, 7350.