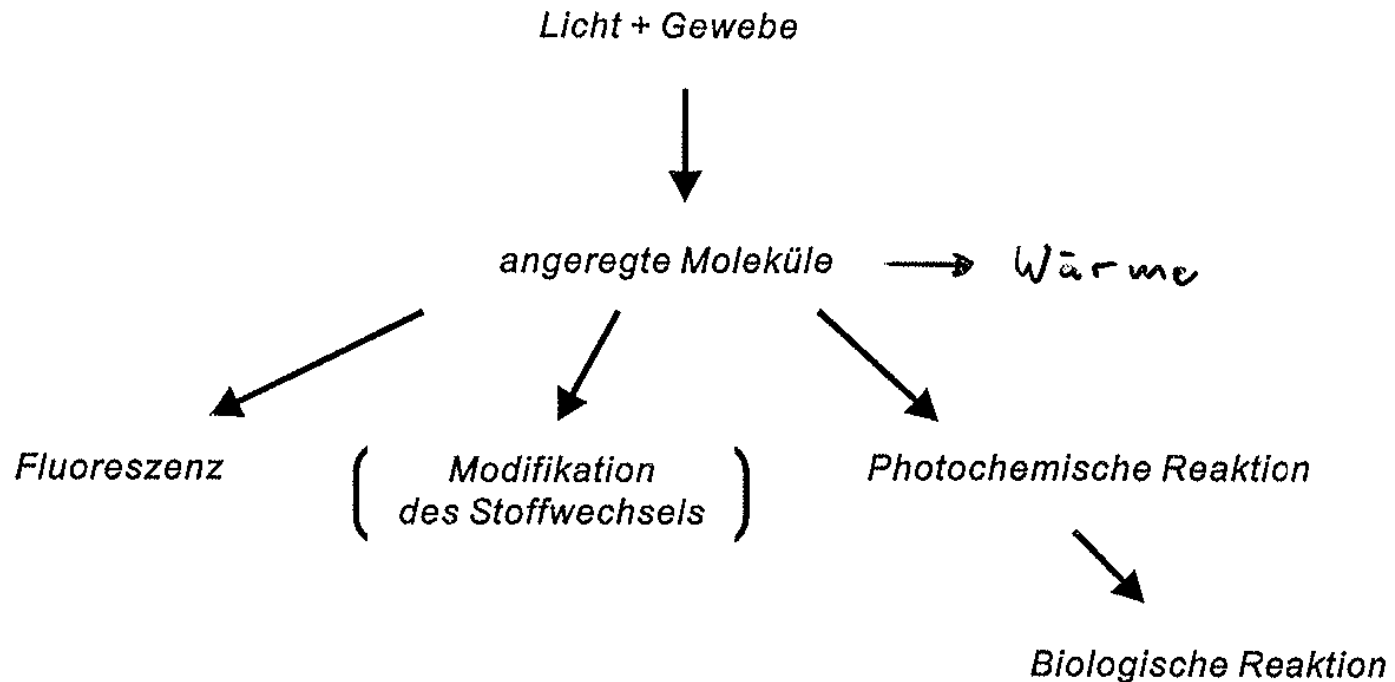


# Photophysik & Photochemie

---

Gereon Hüttmann, Medizinisches Laserzentrum Lübeck



# 1. Photophysikalische und photochemische Elementarprozesse

Wechselwirkung Licht und Materie

Energiezustände von Molekülen

Elementarprozesse

Kinetik

# 2. Photochemische Reaktionen

Photooxidation

# 3. Beispiele

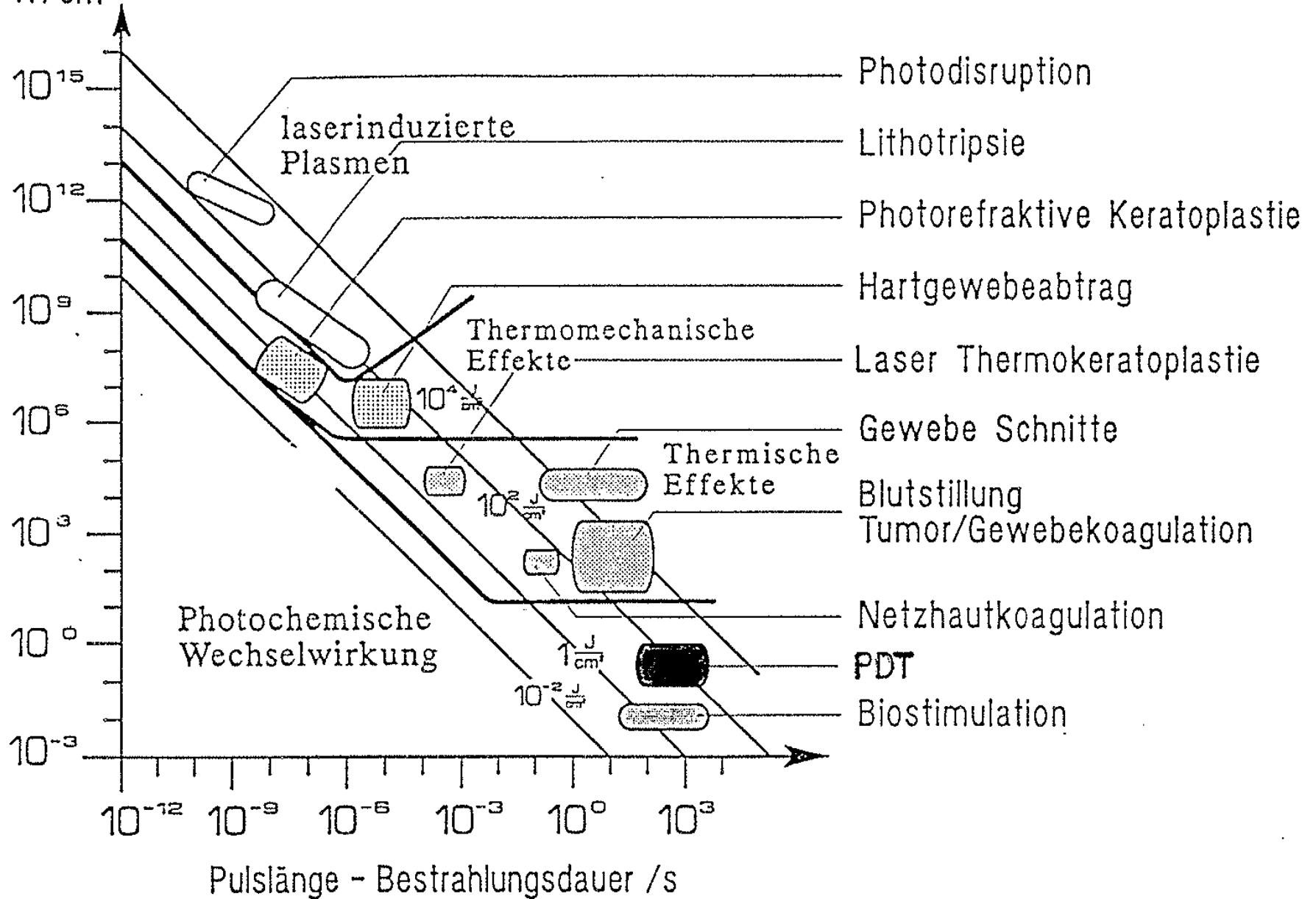
Photosynthese

Vitamin D Synthese

PUVA

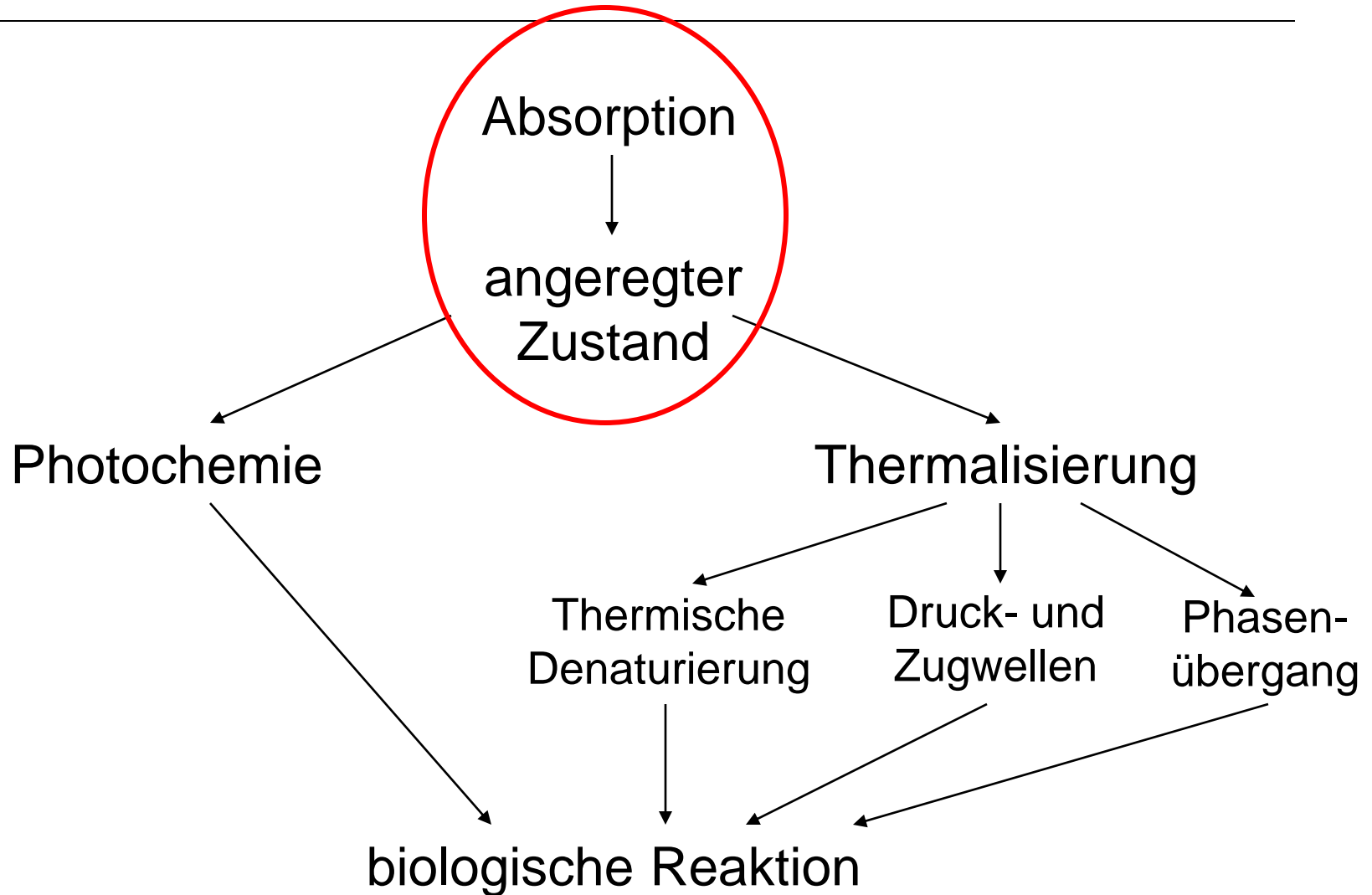
PDT

Intensität  
W/cm<sup>2</sup>



# Was sind die entscheidenden Prozesse?

---



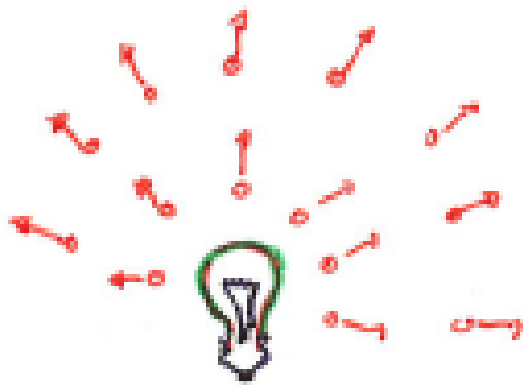
# Photoschäden

---

- Sonnenbrand
- Schneeblindheit
- Glasbläser-Katarakt
- Photokoagulation der Retina
- Verbrennungen durch IR-Strahlung
- PRK, LASIK, LASEK
- Iridektomie
- Etc...

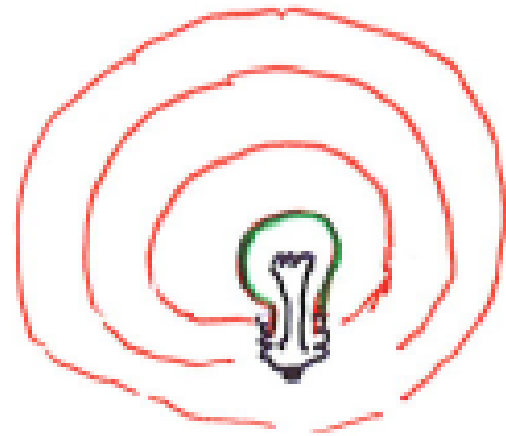
# Was ist Licht?

Newton (1643-1727)



Licht als Teilchen

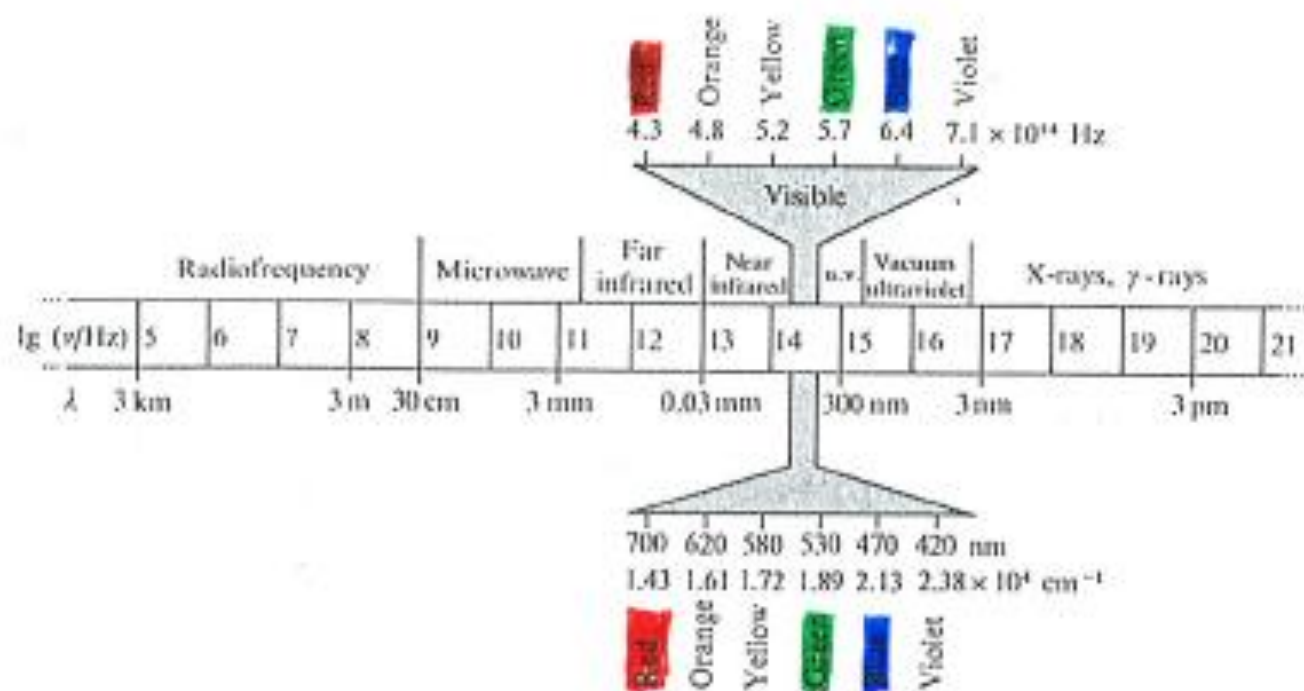
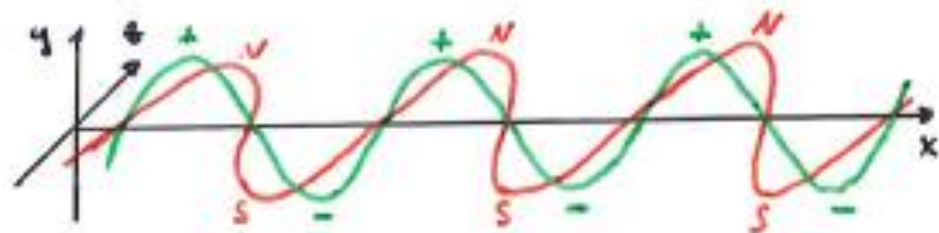
Huygens (1629-1695)



Licht als Welle

Maxwell (1831-1879) Hertz (1857-1894)

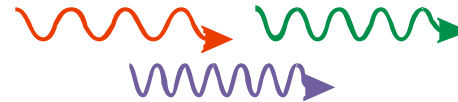
Licht sind Schwingungen elektrischer und magnetischer Felder, die sich wellenförmig ausbreiten.



# Quantisierung von Licht und Materie

**Planck (1858 -1947)**

**Einstein (1879 - 1955)**



Licht besteht aus "Energiepaketen"

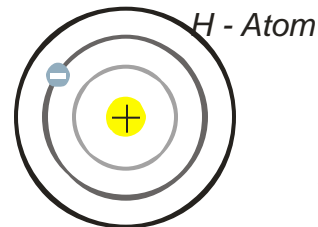
$$E = h f$$

$$h = 6,6 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$$

$f$  = Frequenz des Lichtes

$10^{14}$  für sichtbares Licht

**Bohr (1885 - 1962)**



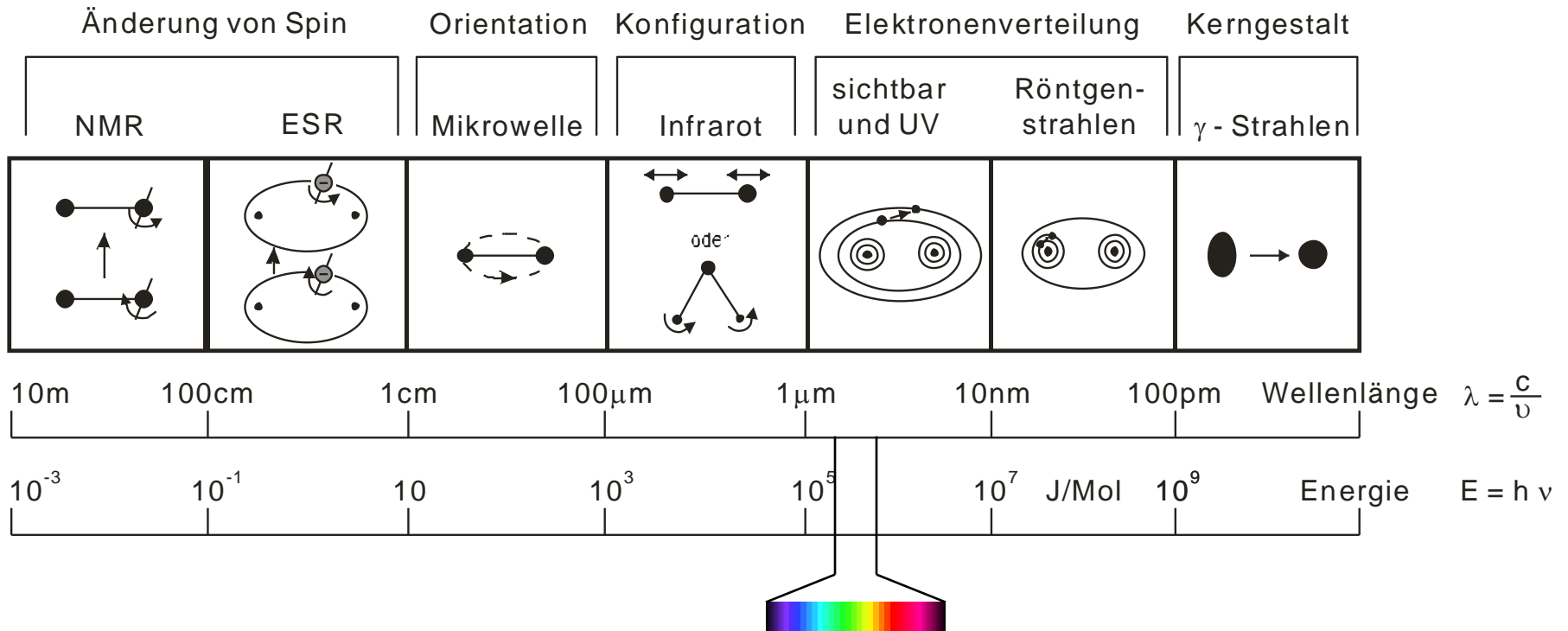
$$E_n = R_y \cdot \frac{1}{n^2}$$
$$n = 1, 2, 3, \dots$$

Atome und Moleküle können  
Energie nur in gewissen Portionen  
aufnehmen oder abgeben.

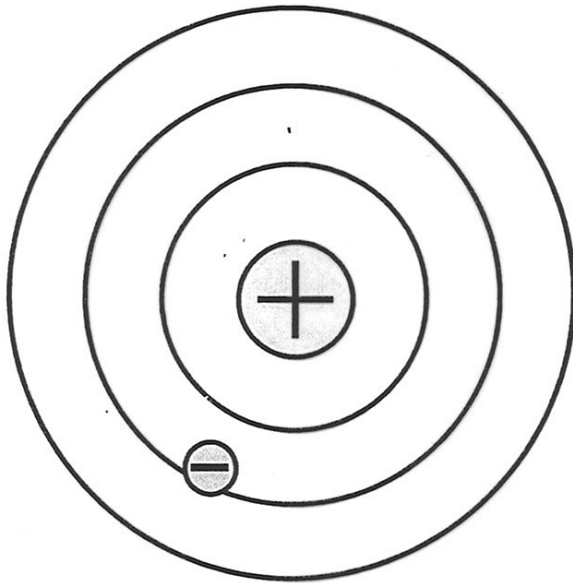
$$h \cdot f = E_i - E_k$$



# Quantisierung von Licht und Materie



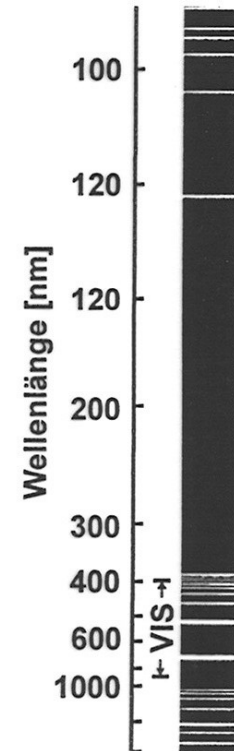
# Energiezustände des H-Atoms



$$E_n = R_y \cdot \frac{1}{n^2} \quad n = 1, 2, 3, \dots$$

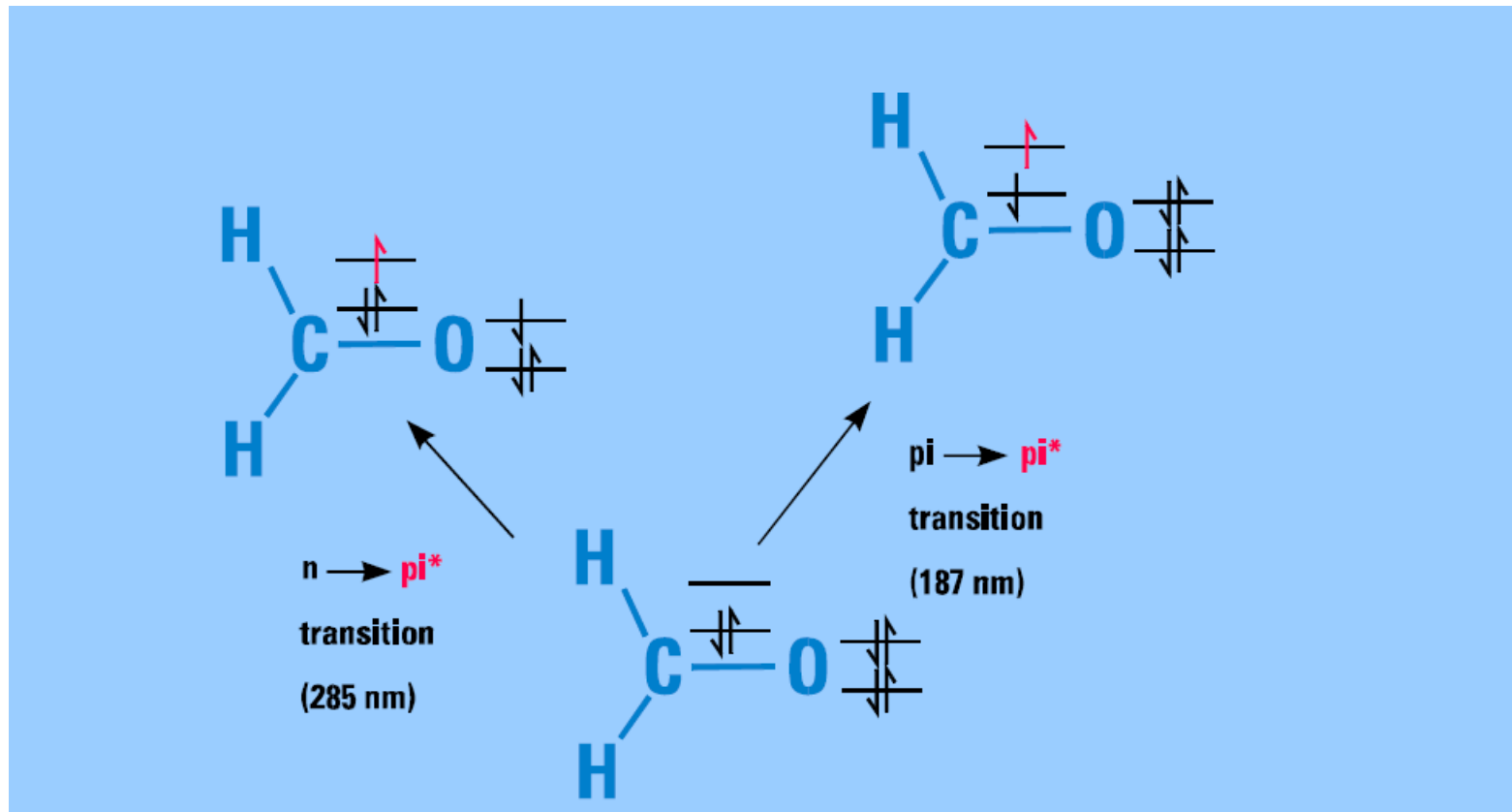


Energieschema



Emissions-  
spektrum

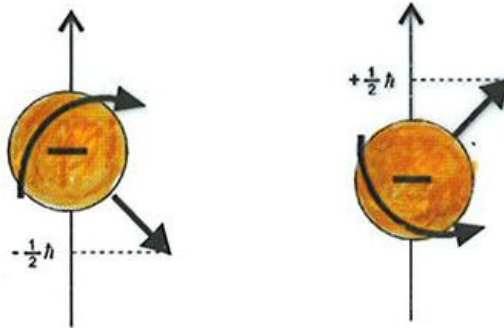
# Elektronische Anregungen von Formaldehyd



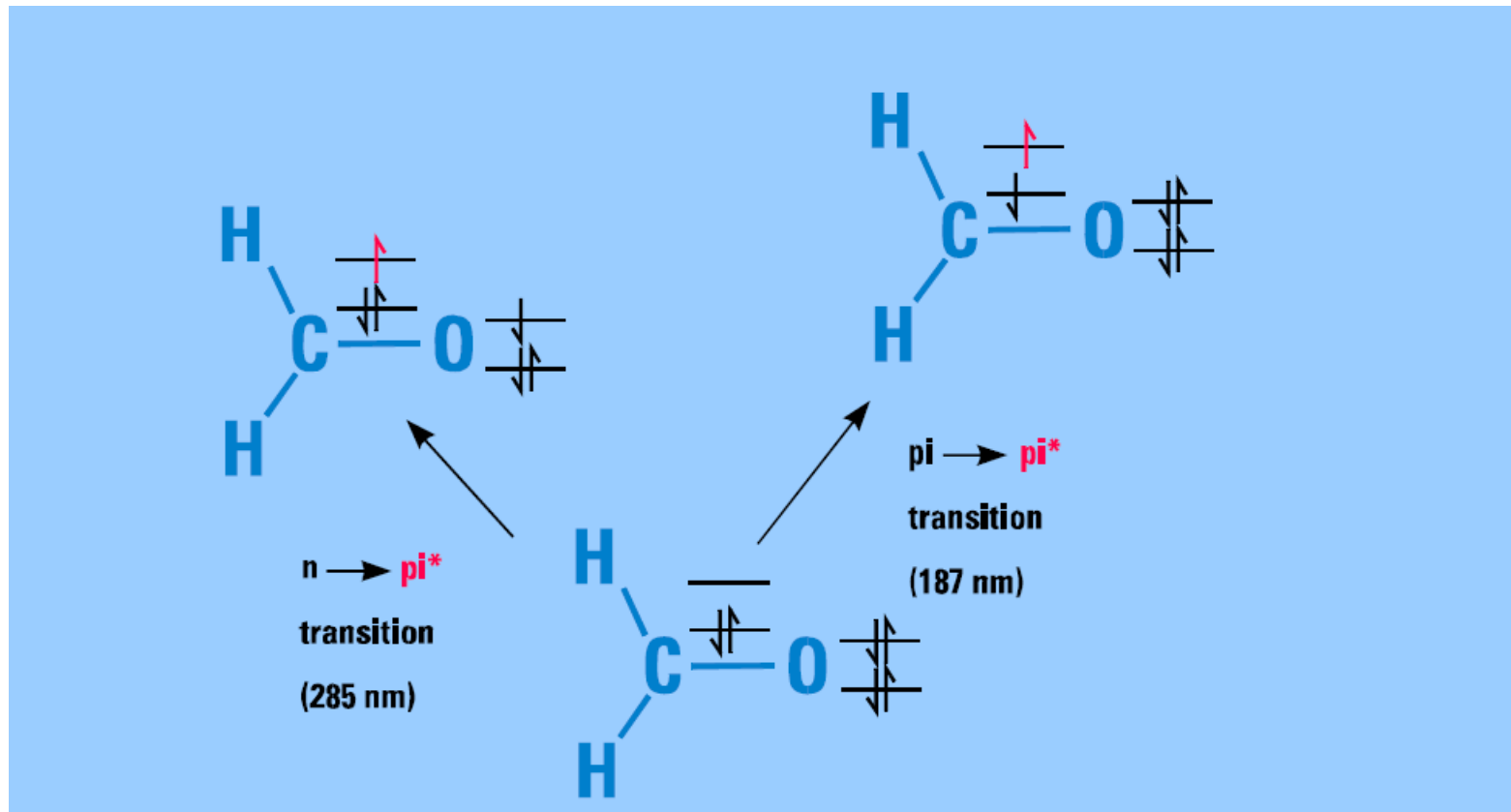
# Eigendrehimpuls des Elektrons (Spin)

---

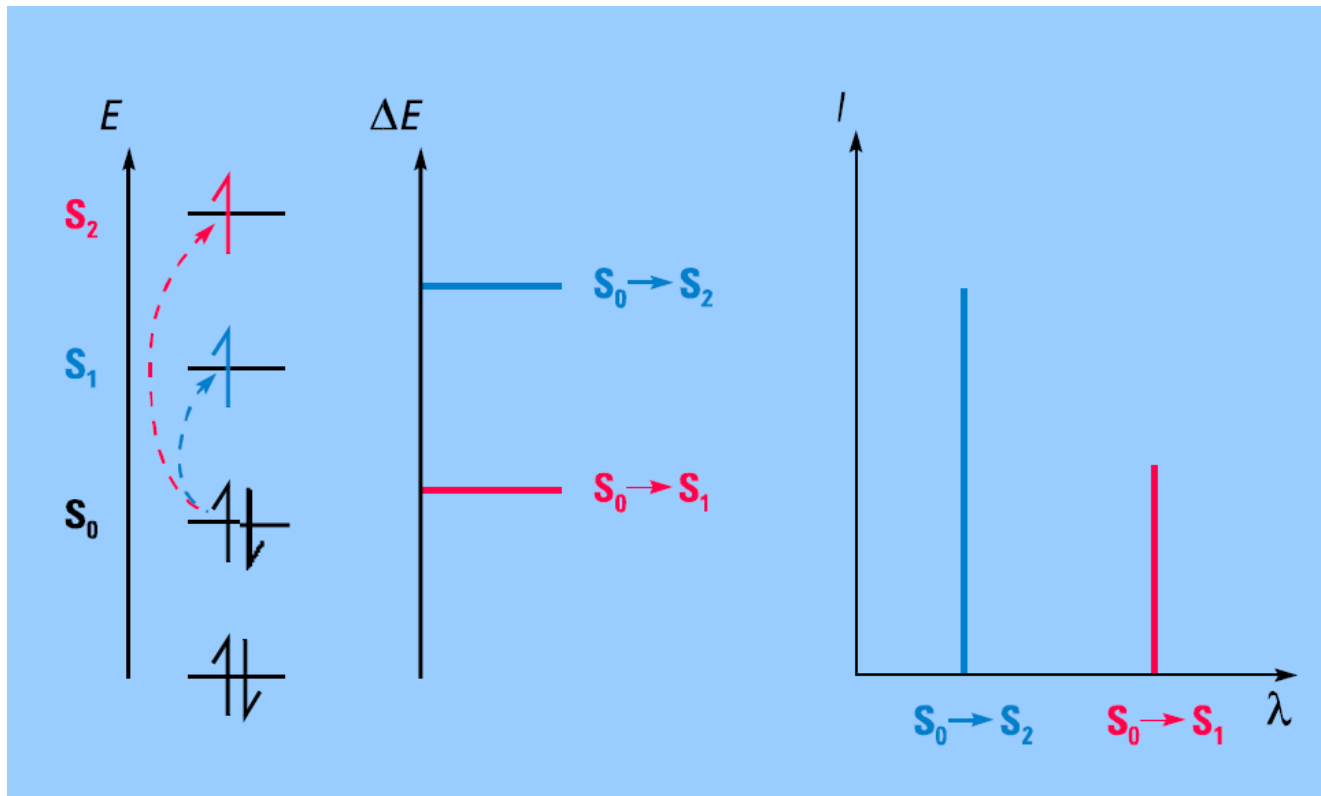
Der Spin des Elektrons bestimmt wesentlich die Besetzung der Energieniveaus (Pauli-Prinzip)



# Elektronische Anregungen von Formaldehyd

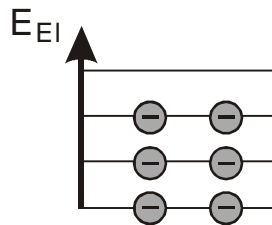
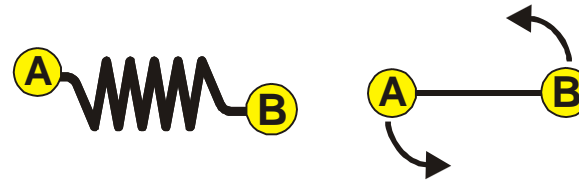
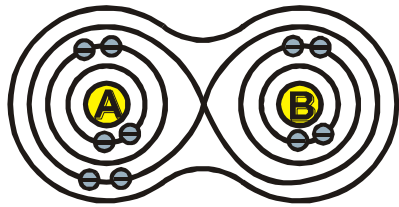


# Die Energieleiter

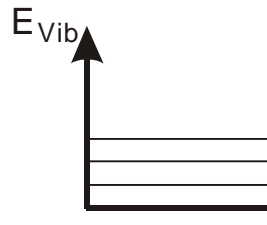


# Schwingungs- und Rotationsenergie

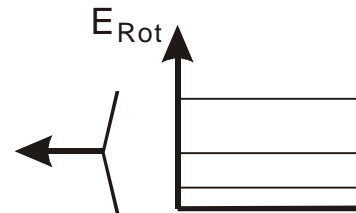
---



Elektronische  
Energie



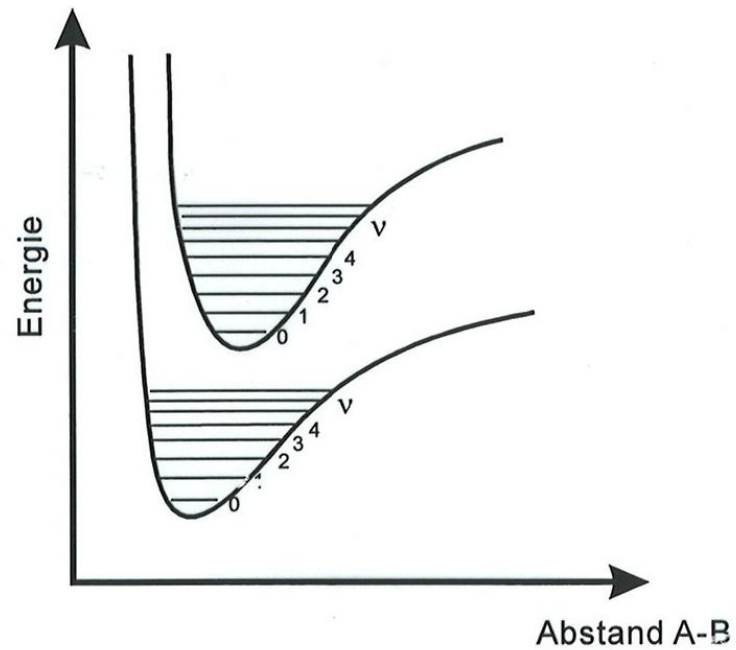
Schwingungs-  
energie



Rotations-  
energie

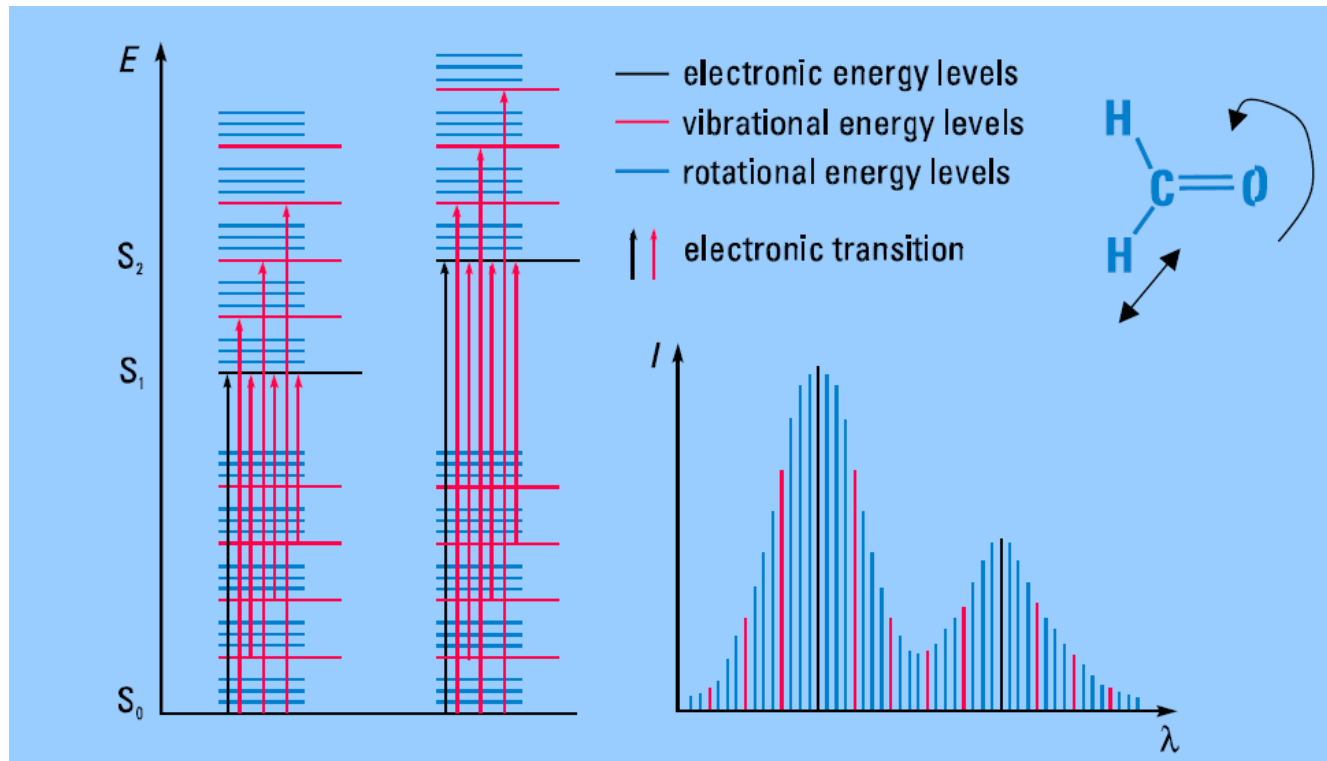
# Potenzialtöpfe bei Anregung

---

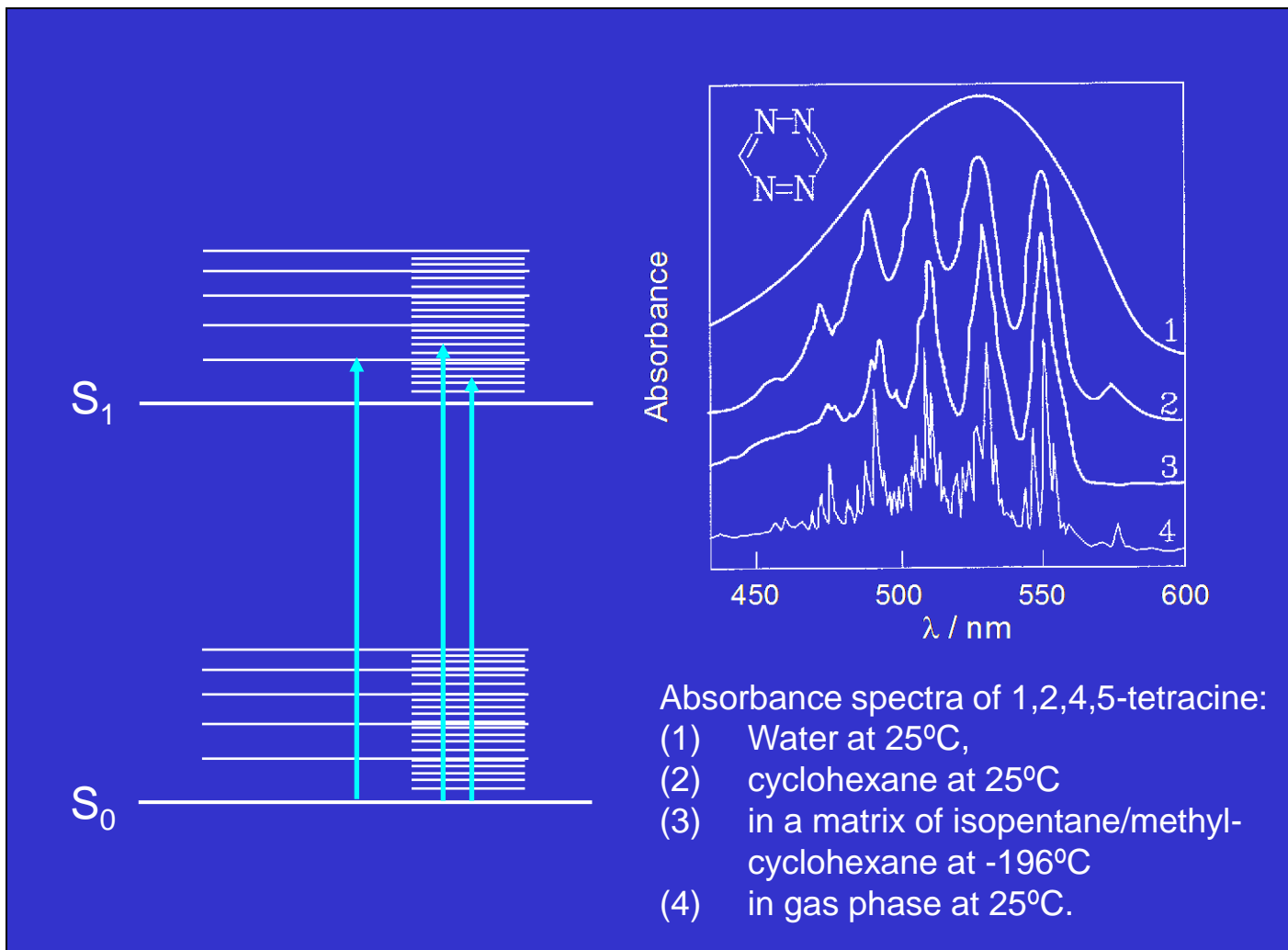




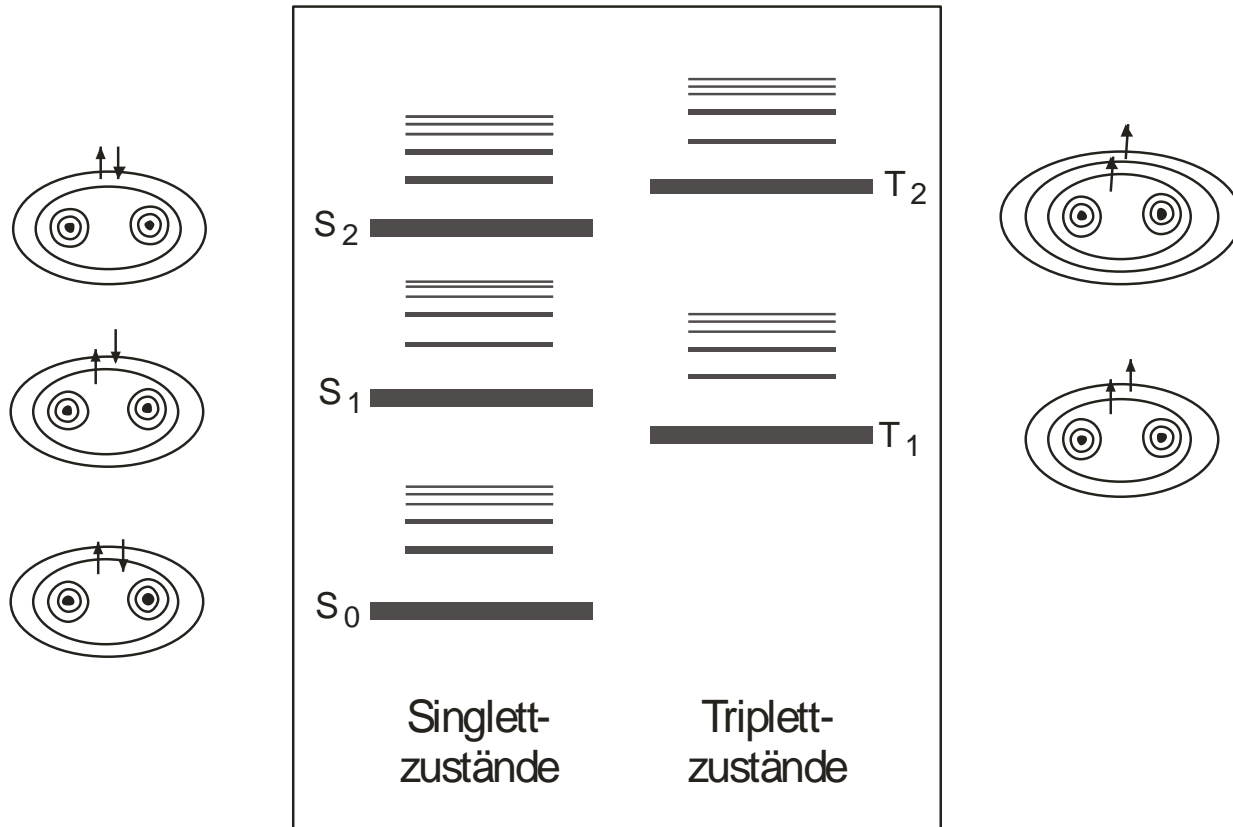
# Das Absorptionsspektrum



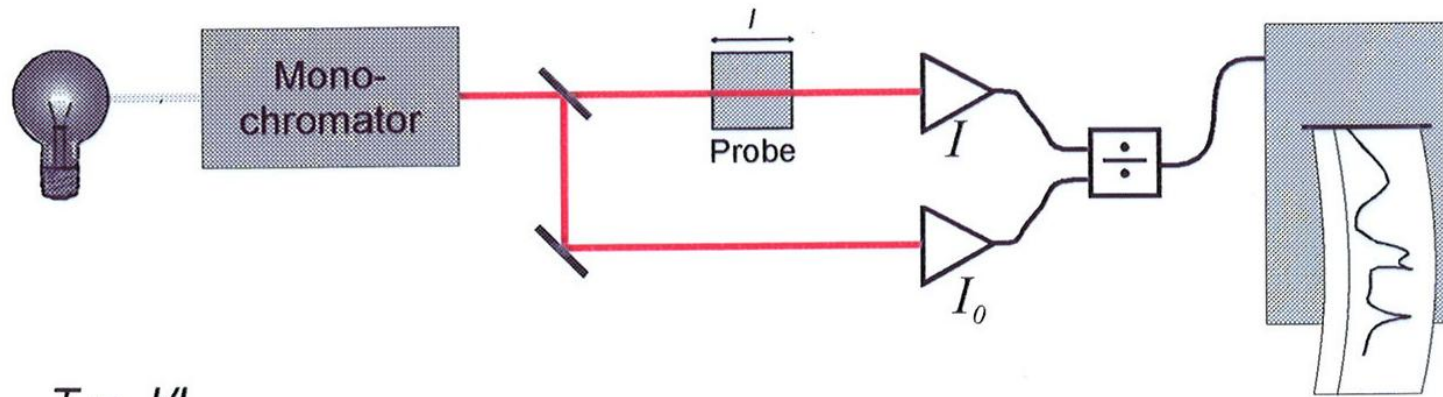
# Temperaturabhängigkeit der Absorption



# Jablonski-Diagramm



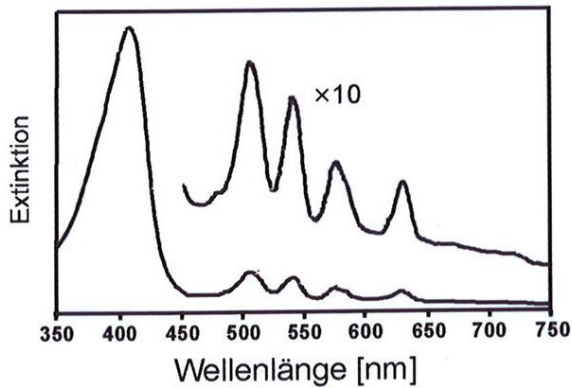
# Absorption



$$T = I/I_0$$

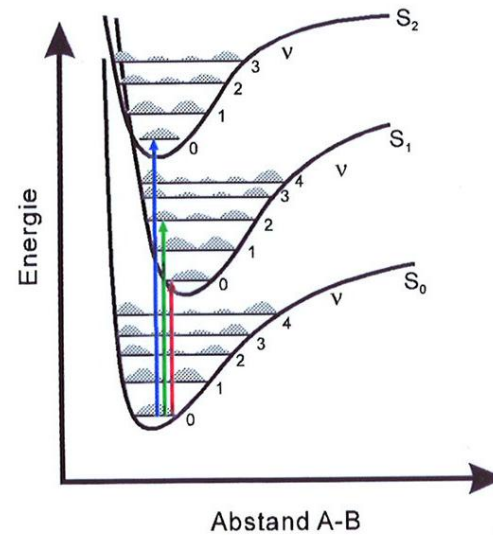
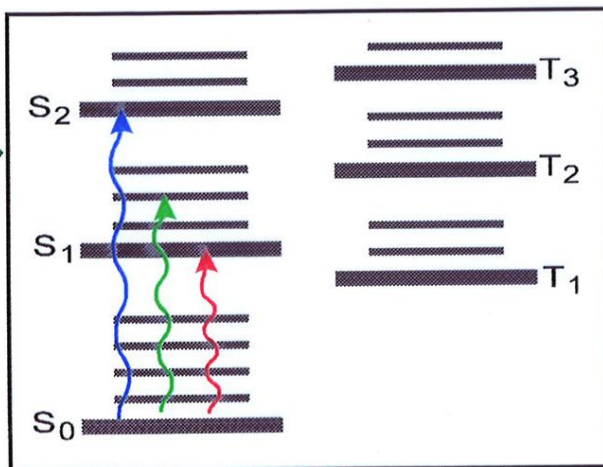
$$A = -\text{Log}(T) = \epsilon c l$$

# Absorption



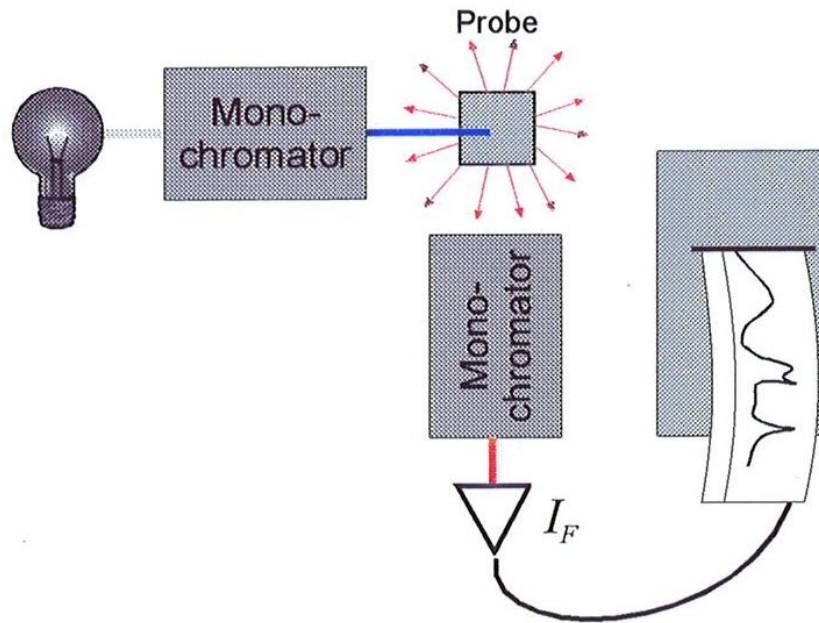
## Anwendungen:

- Identifikation von chemischen Substanzen
- Quantitative Bestimmung von Substanzmengen



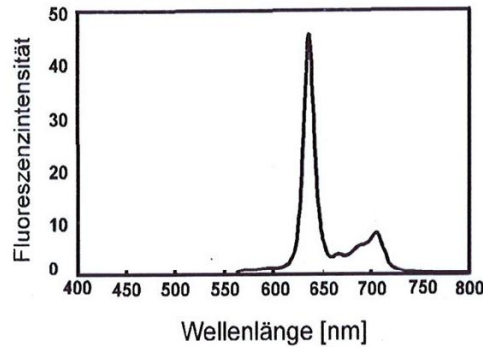
# Fluoreszenz und Phosphoreszenz

---



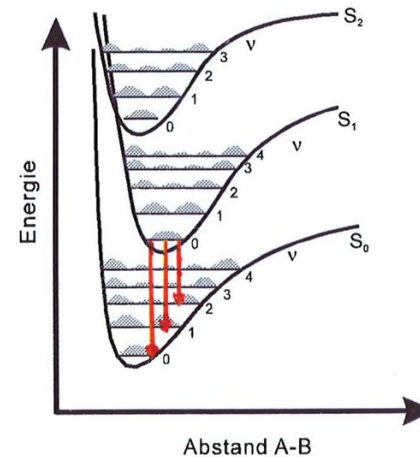
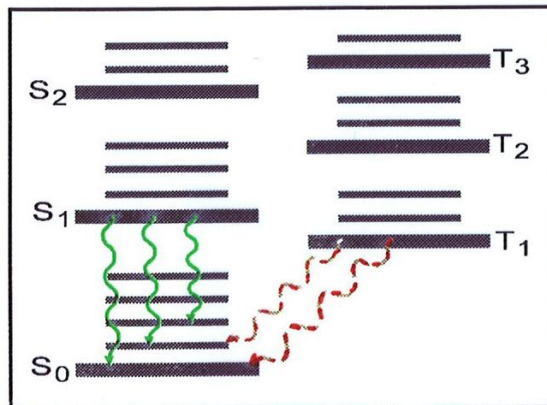
$$I_F \sim \Phi_F I_A$$

# Fluoreszenz und Phosphoreszenz

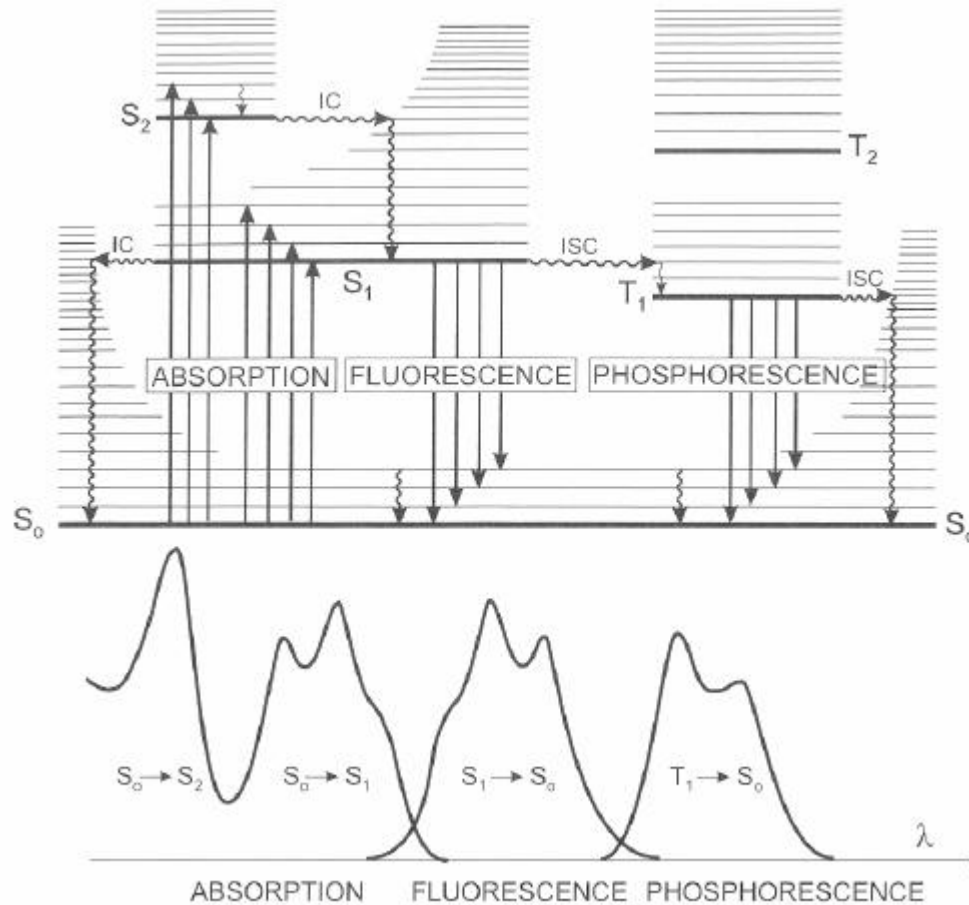


## Anwendungen:

- Identifikation und quantitative Bestimmung von extrem kleinen Substanzmengen
- Empfindlicher Marker für Strukturen und Biomoleküle (z. B. Antikörper)
- Lokale Messung von pH,  $O_2^-$ ,  $Ca^{2+}$ -Konzentration
- Untersuchung endogener Moleküle der Atmungskette (NADH, Flavine)



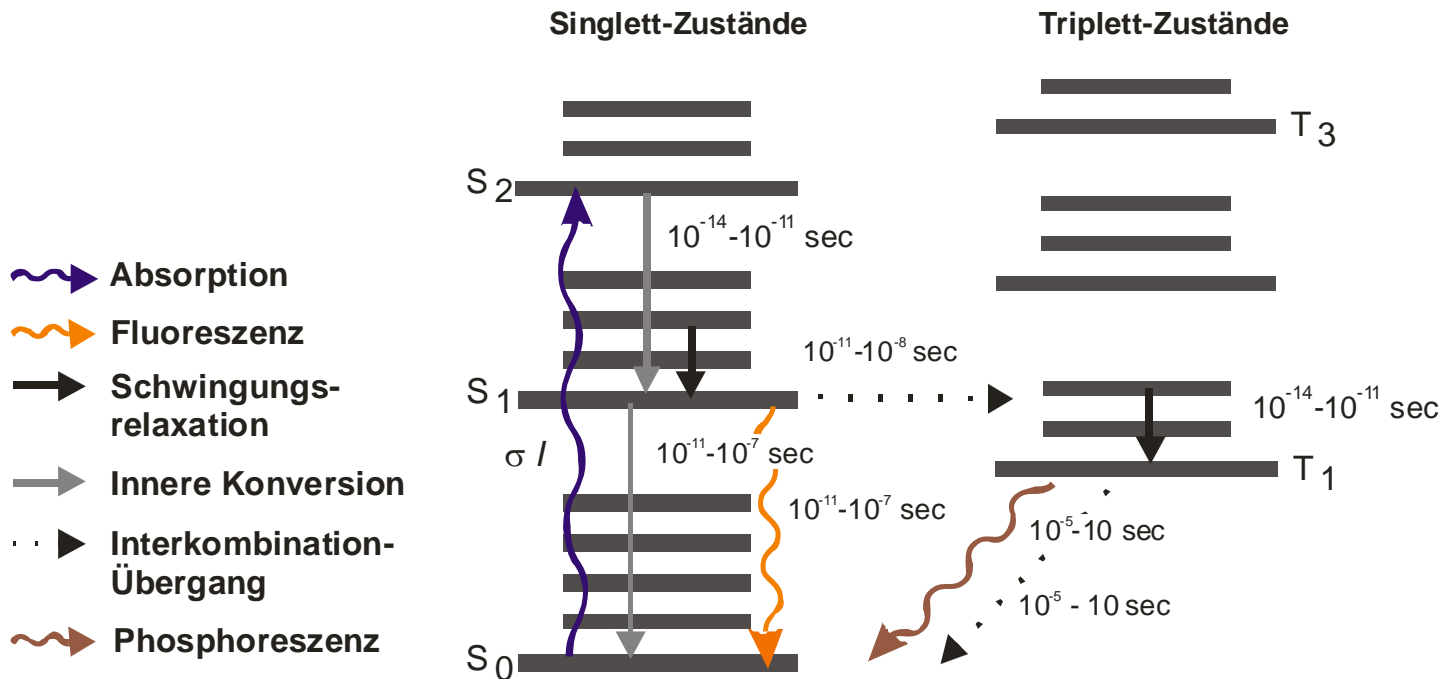
# Jablonski Diagramm und Spektren





# Kinetik der Elementarprozesse

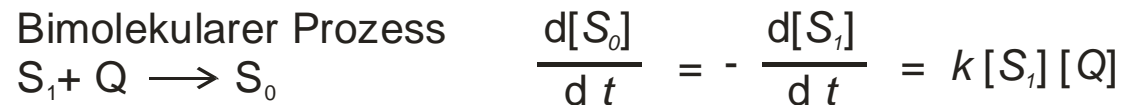
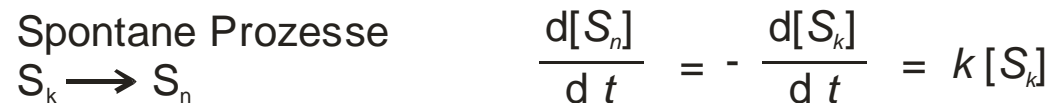
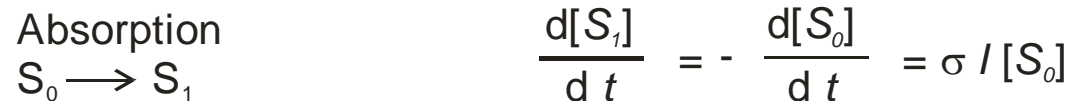
Kinetik der einzelnen Prozesse bestimmt den Ablauf und Endprodukte einer photochemischen Reaktion



# Kinetik der Elementarprozesse

---

Beschreibung der Kinetik mit Ratengleichungen



# Energietransfer

Anregungsenergie kann von einem Donator D auf einen Akzeptor A übertragen werden (Löschung von D durch A)

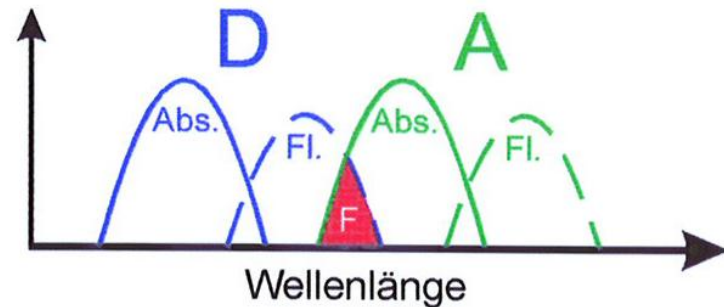


## Dipol-Dipol-Mechanismus (Förster-Transfer):

Coulombwechselwirkung führt zu Energieübertragung (gekoppelte Oszillatoren).

$$k \sim F/r^6$$

Reichweite bis 10 nm.



# Energietransfer

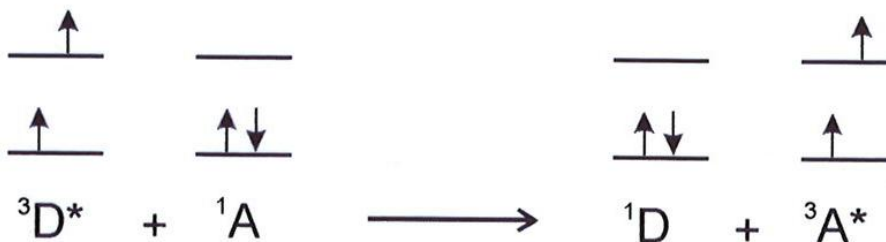
## Austausch-Mechanismus:

Bei überlappenden Orbitalen infolge von Kollision (<1 nm) werden wechselseitig Elektronen ausgetauscht:

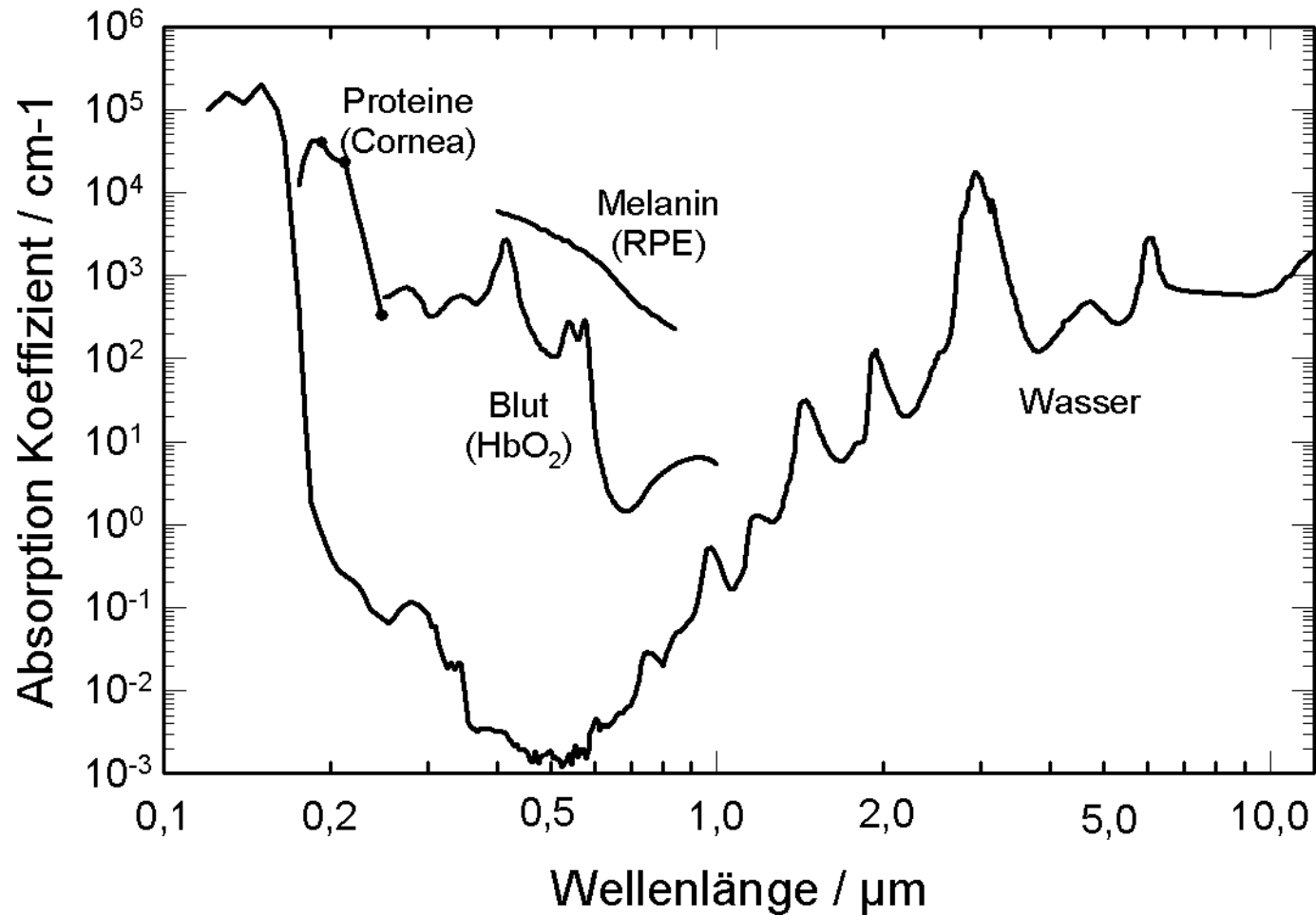
*Singulett-Singulett-Transfer:*



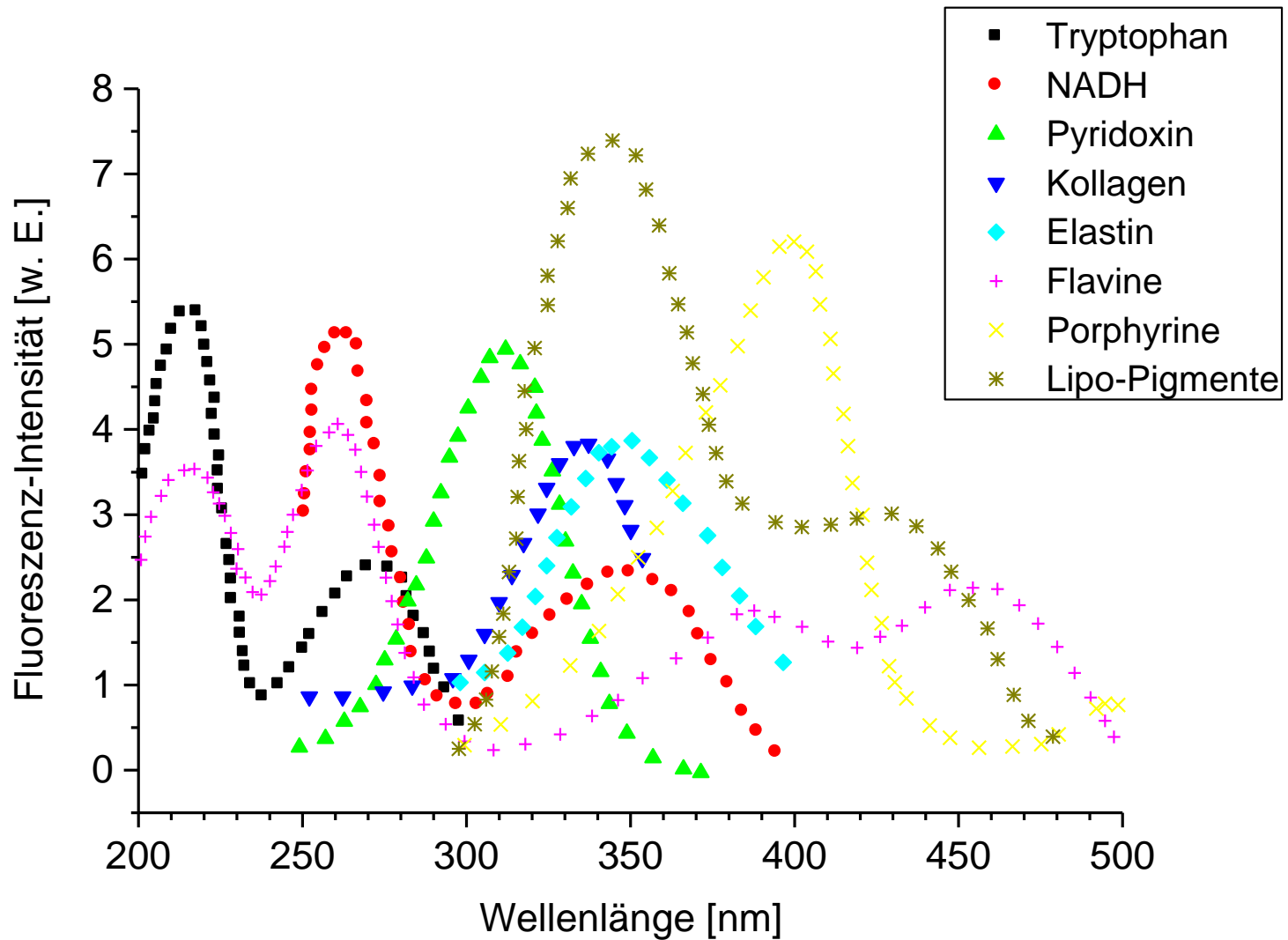
*Triplett-Triplett-Transfer:*



# „Starke“ Absorber

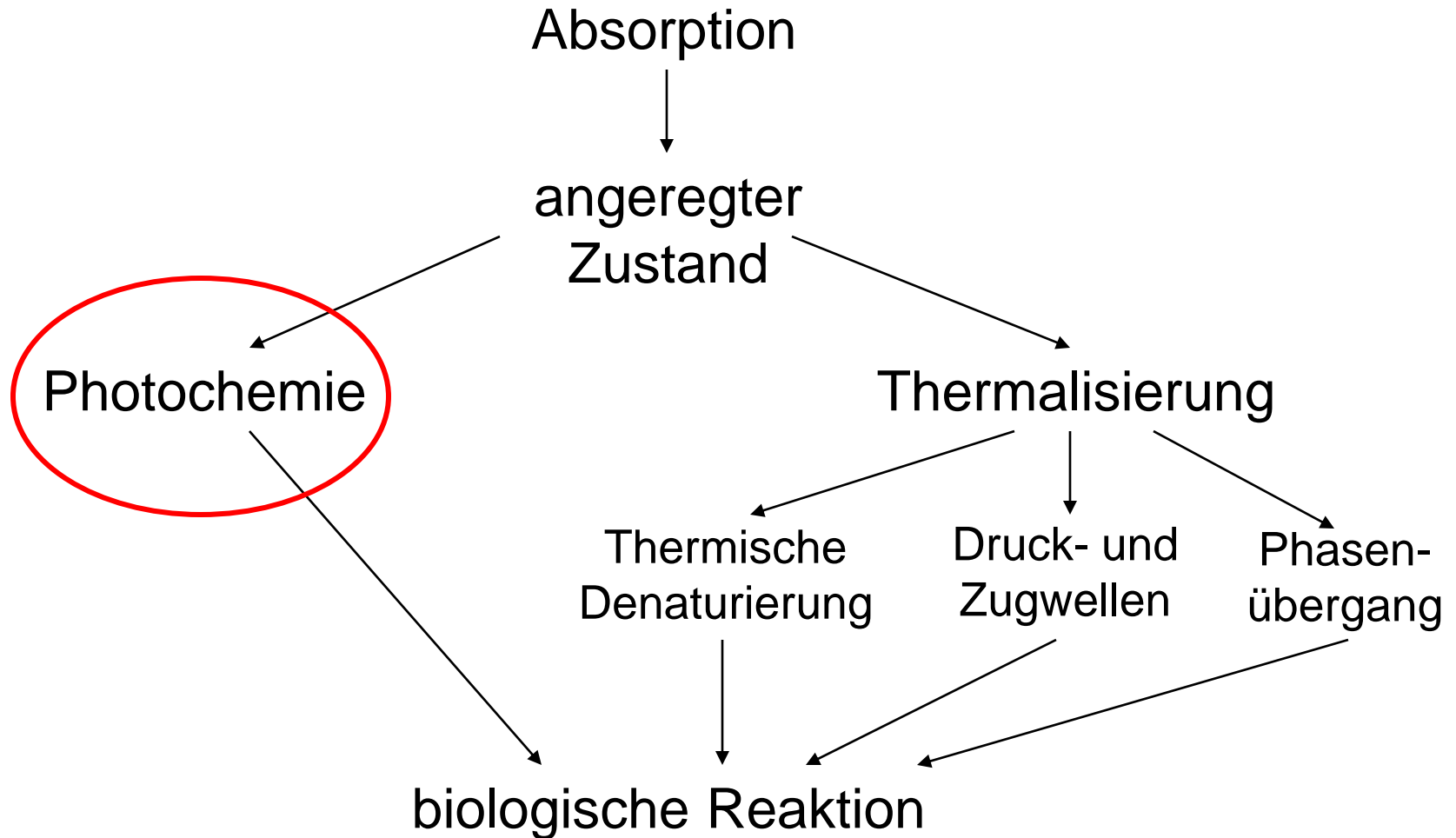


# „Schwache“ Absorber

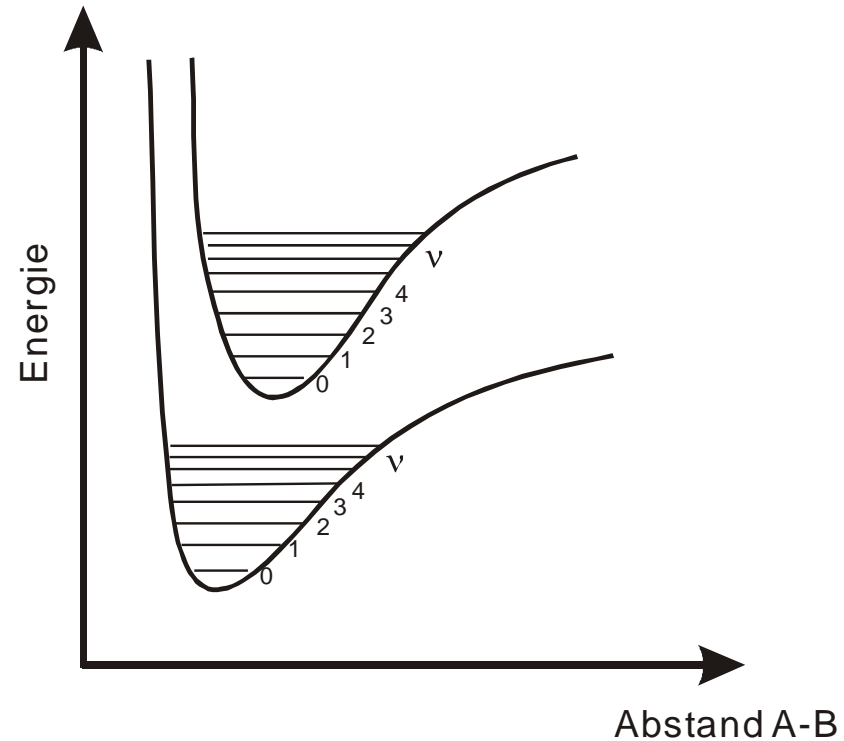
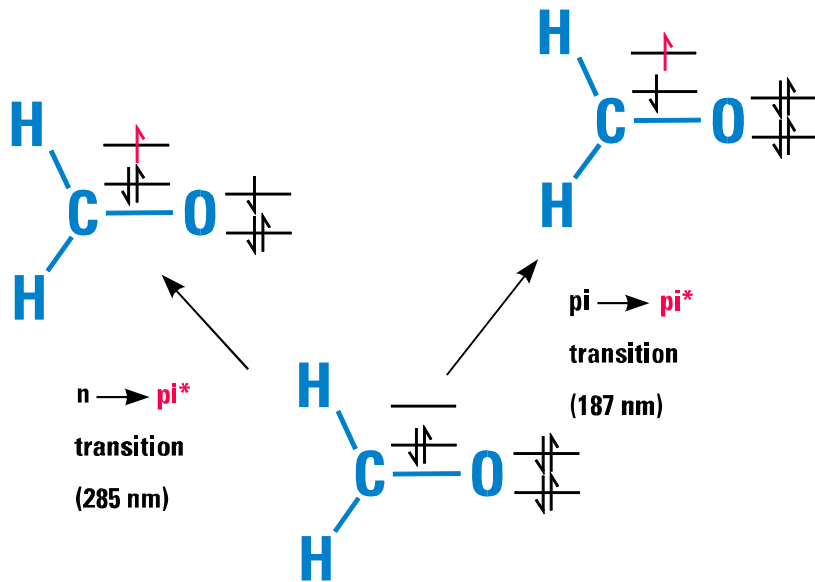


# Was sind die entscheidenden Prozesse?

---



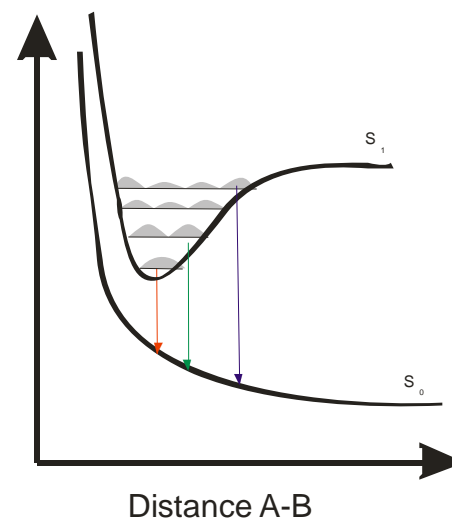
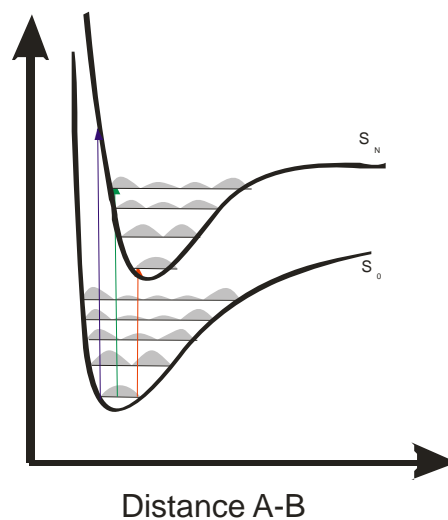
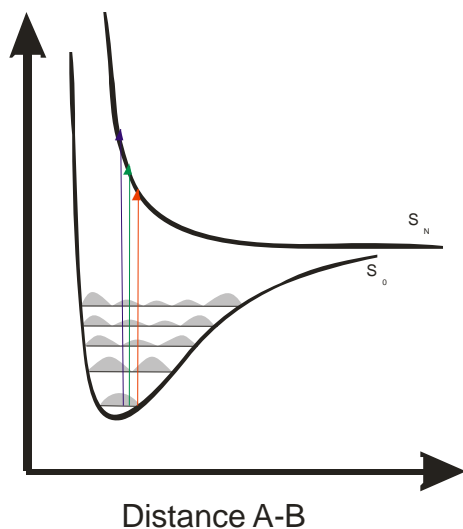
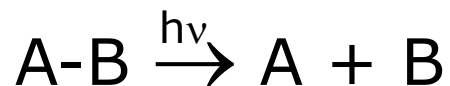
# Energiezustände und chemische Bindung





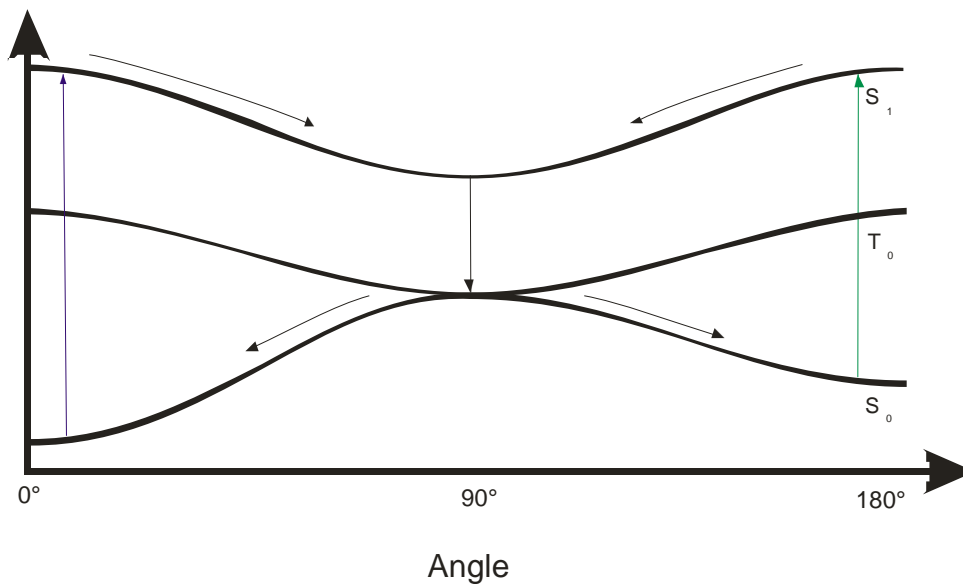
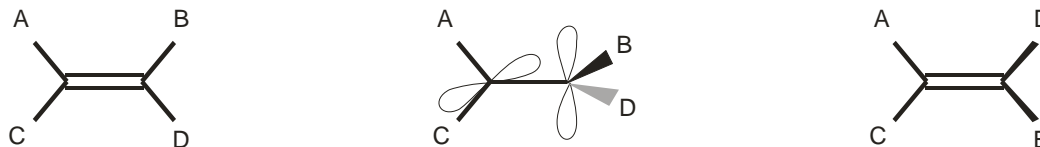
# Elementary Photochemical Reaction

**Bond Breakage:**



# Elementary Photochemical Reaction

***Isomerisation (Rotation around a bond):***



***Formation of Radical Ions***



# Quantenausbeute

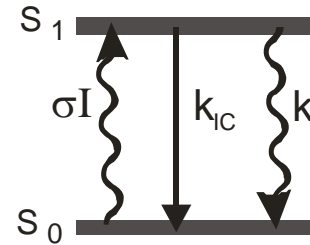
---

Die Quantenausbeute  $\Phi$  gibt, an mit welcher Effizienz ein Produkt oder bestimmter Zustand ( $A$ ) nach Anregung gebildet wird:

$$\Phi = [A] / N_{\text{photon}} = \text{Reaktionsrate} / \text{Anregungsrate}$$

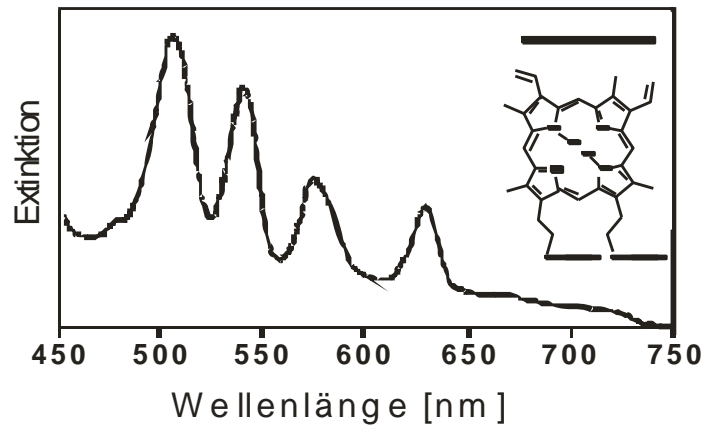
**Beispiel:** Fluoreszenzquantenausbeute

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_{ic}}$$

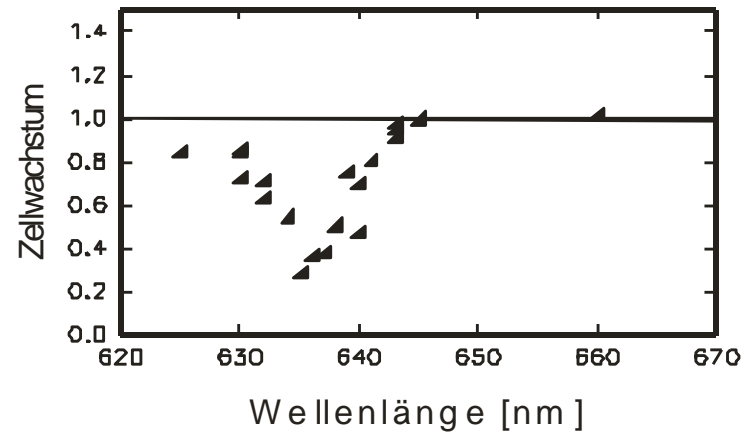


# Wirkungsspektrum

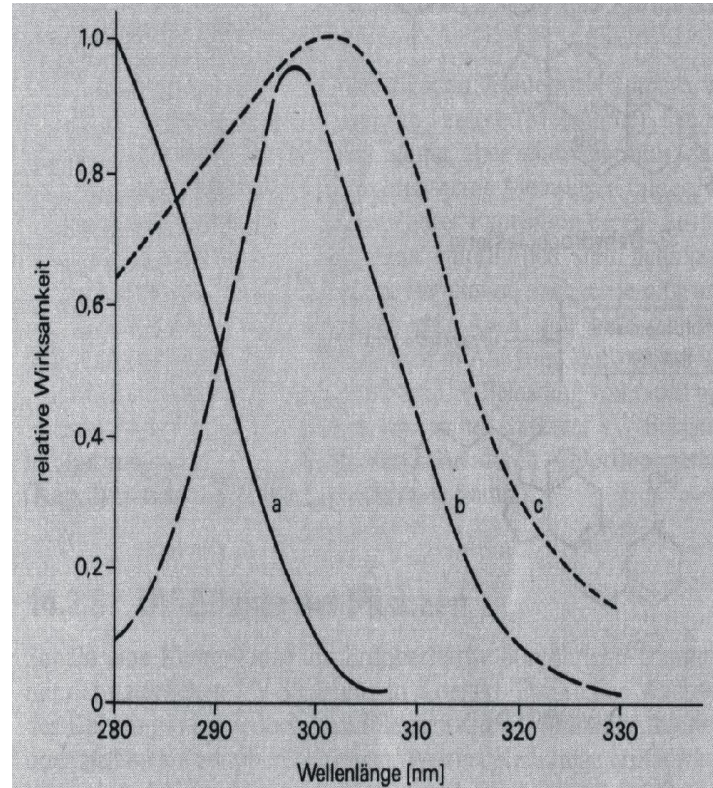
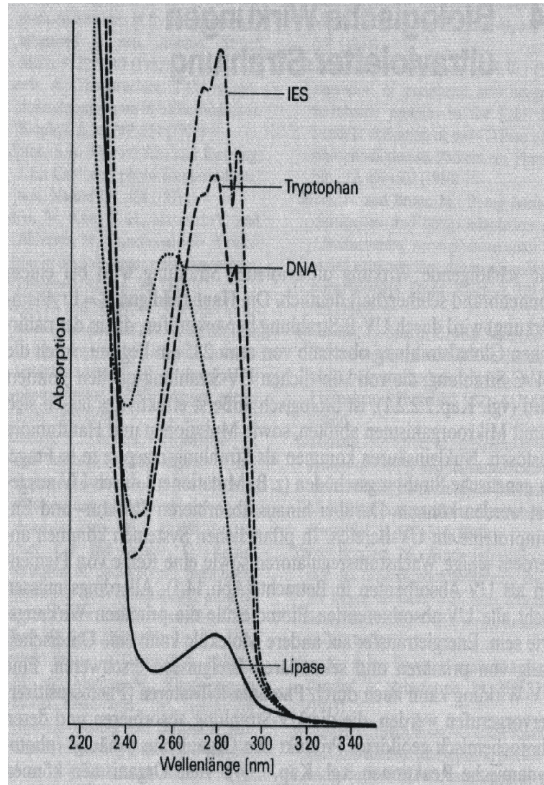
Absorption



Phototoxische Wirkung



# Wirkungsspektrum



- a) Erythembildung der menschlichen Haut
- b) DNA Schäden bei Bakterien
- c) Anthocyansynthese in Maiskeimlingen

# Photooxidation mittels eines Sensibilisators

---

Ein Sensibilisator ermöglicht die Photooxidation von Substanzen, die selbst nicht absorbieren.

**Typ-I-Reaktion (Ladungstransfer):**

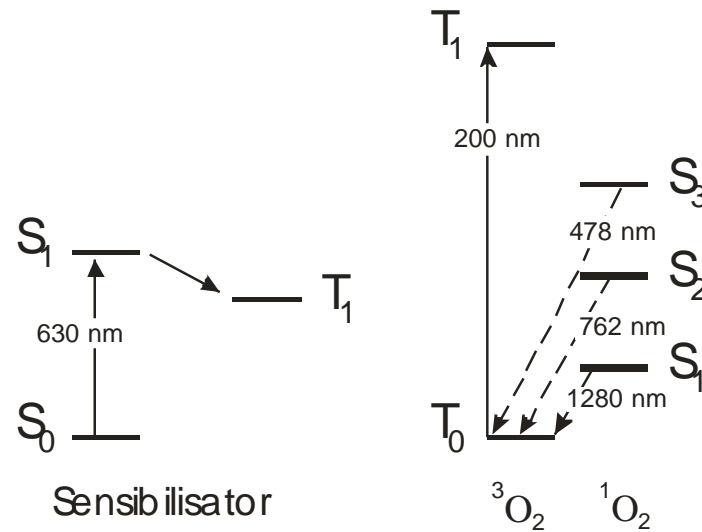


**Typ-II-Reaktion (Energietransfer):**



# Energietransfer auf Sauerstoff

In Lösung wird Energie effektiv auf molekularen Sauerstoff übertragen.



# Grundregeln der Photochemie

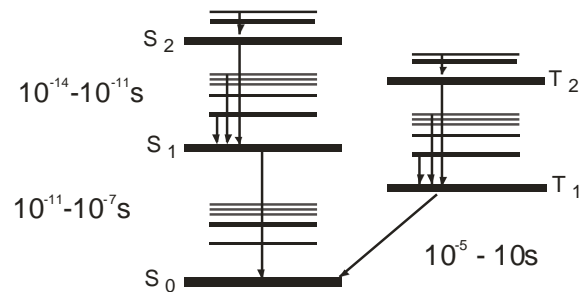
---

## ***Grotthus-Draper-Regel:***

Nur absorbiertes Licht erzeugt eine Wirkung

## ***Regel von Kasha:***

Lichtemission und Photochemie erfolgen in der Regel aus dem tiefsten angeregten Zustand ( $S_1$ ,  $T_1$ ).



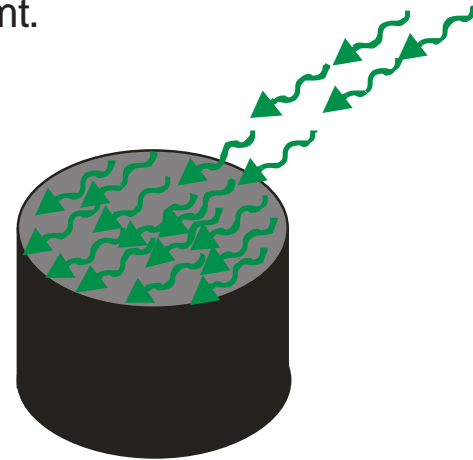
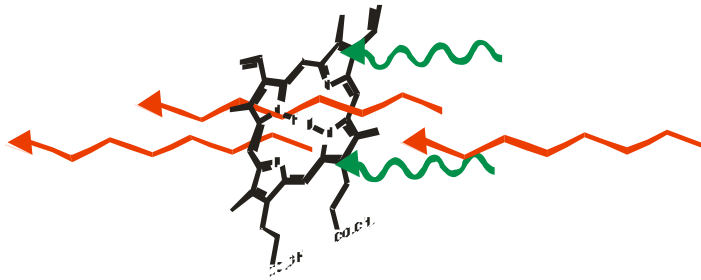


# Grundregeln der Photochemie

---

## ***Einstein-Stark-Gesetz:***

Die primäre photochemische Wirkung wird durch die Zahl der absorbierten Photonen bestimmt.



Hieraus folgt:

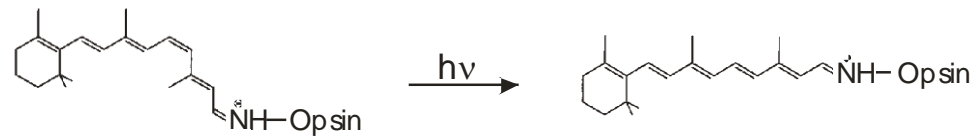
## ***Gesetz von Bunsen und Roscoe:***

Die photochemische Wirkung wird durch das Produkt aus Zeit und Bestrahlungsstärke (= Bestrahlung)

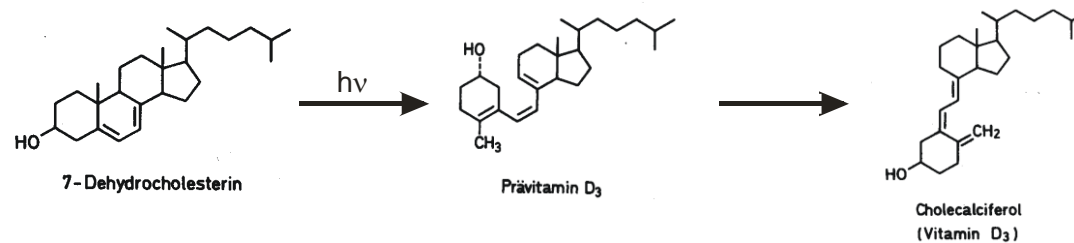
# Beispiele

---

## *Isomerisierung des Retinals*

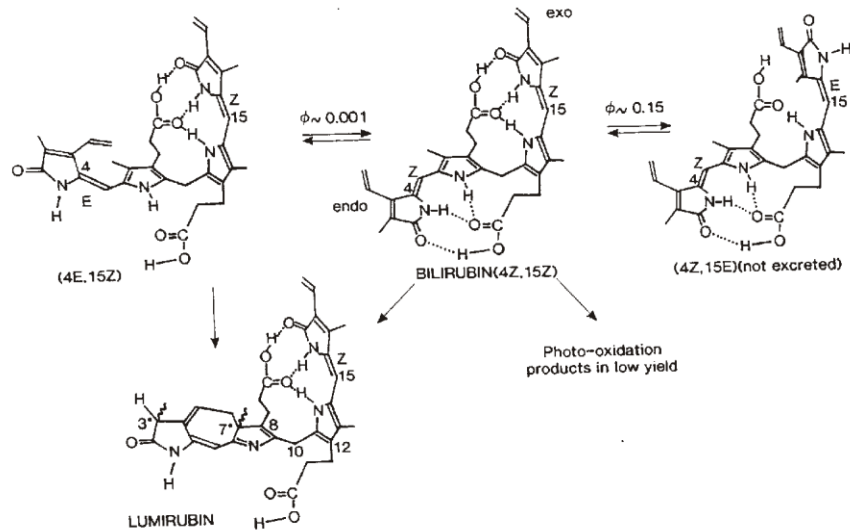


## *Synthese von Vitamin D*



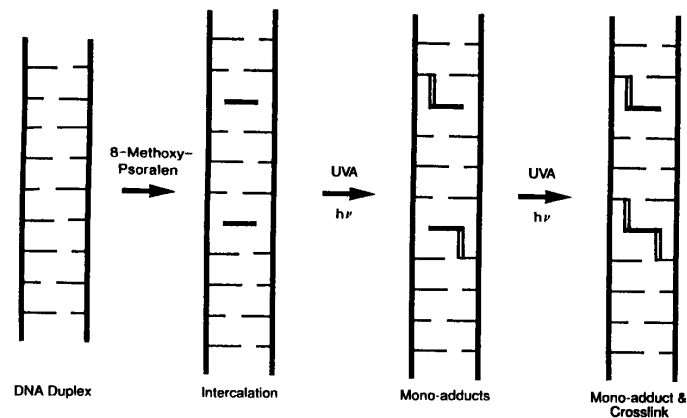
# Beispiele

## Behandlung der Hyperbilirubinämie

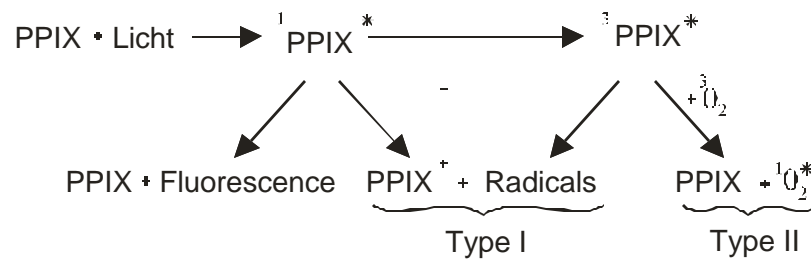
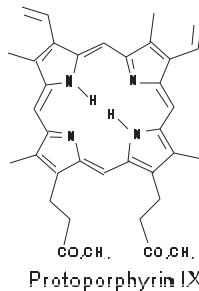
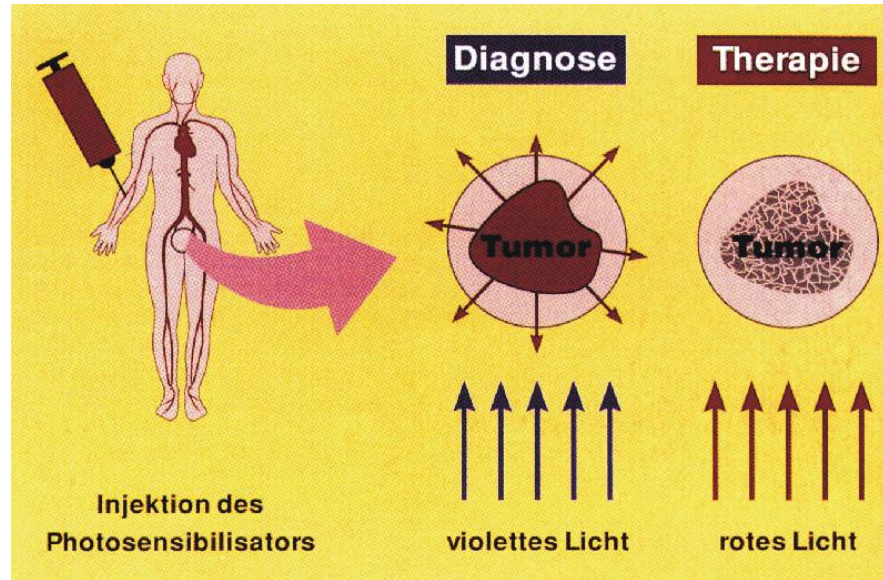


## PUVA-Therapie

Vernetzung der DNA mit Psoralem und UV-Bestrahlung

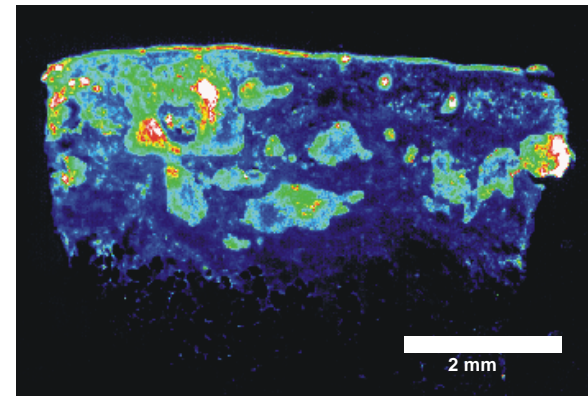
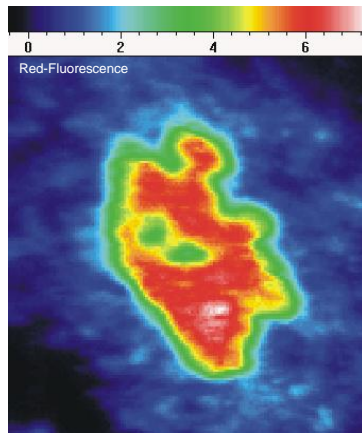


# Photodynamic Therapy (PDT)



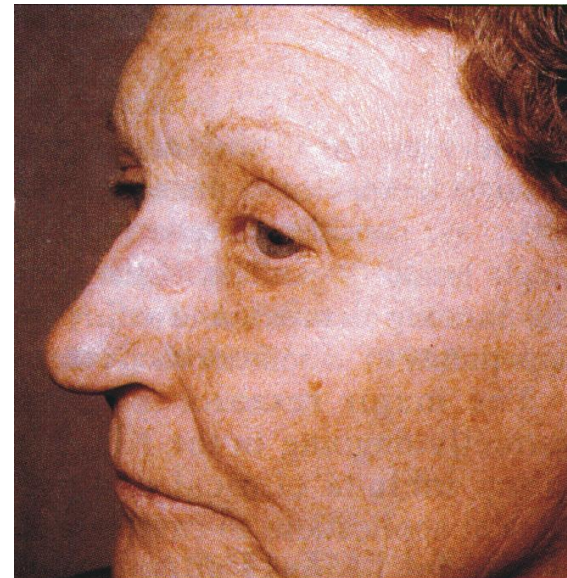
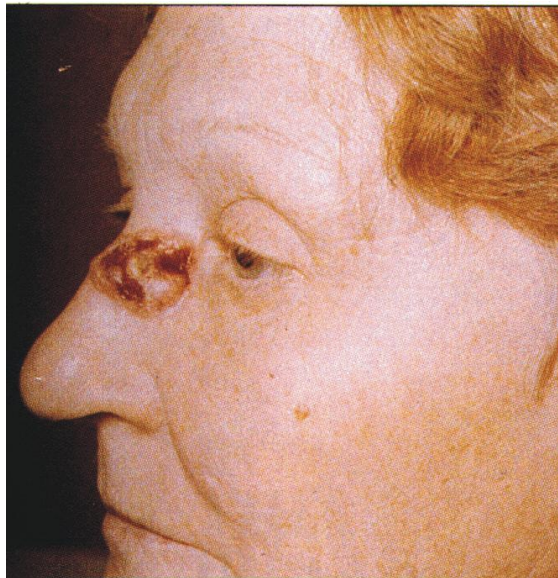
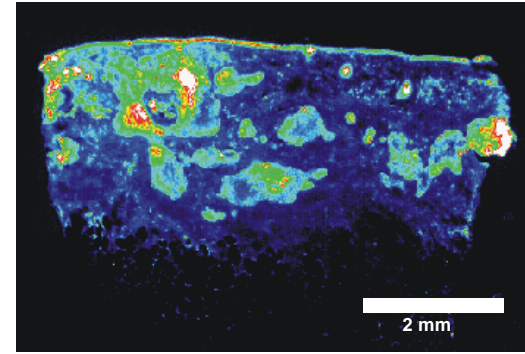
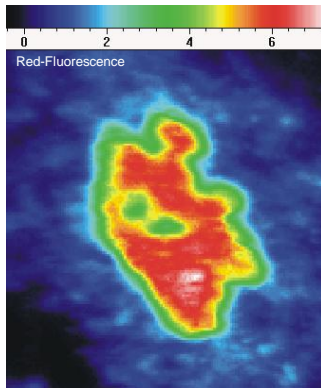
# Selective Accumulation of the Sensitizer

---



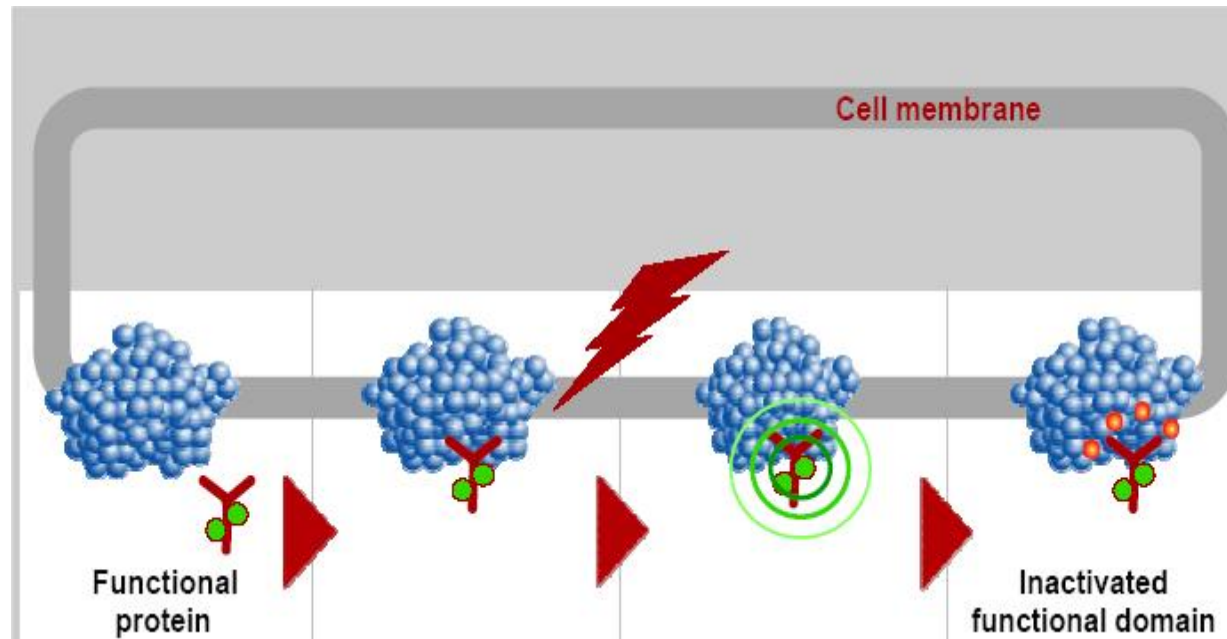
# PDT of Skin Cancer

---



# Chromophore Assisted Laser Inactivation (CALI)

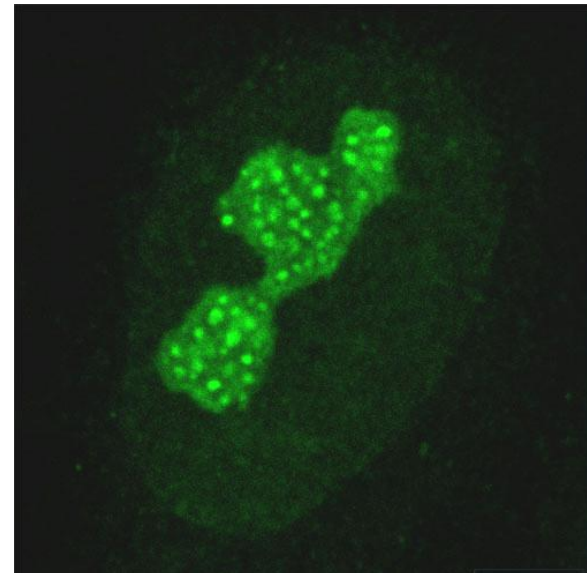
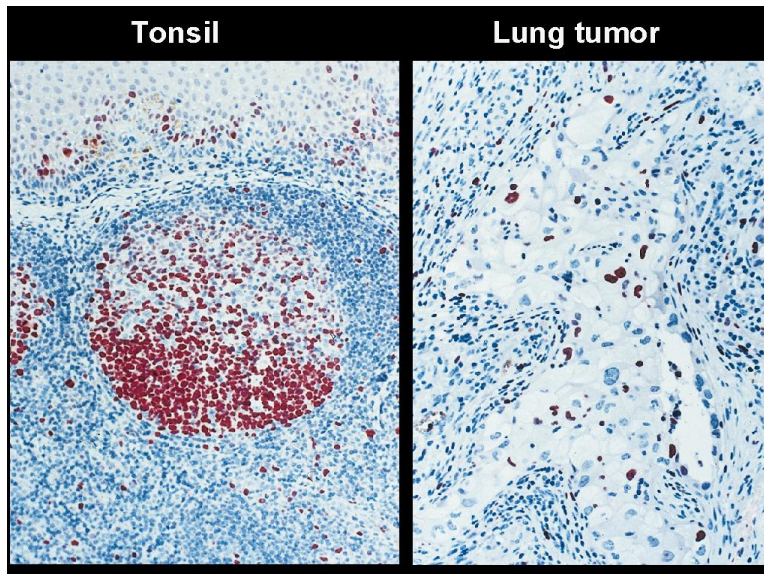
---



# Das Ki-67 Protein

---

- **Zellproliferation assoziiert**
- Antikörper gegen Ki-67 gehören zu den meist verwendeten Markern in der Tumordiagnostik
- Lokalisation: im Kern, v.a. in den Nukleoli proliferierender Zellen



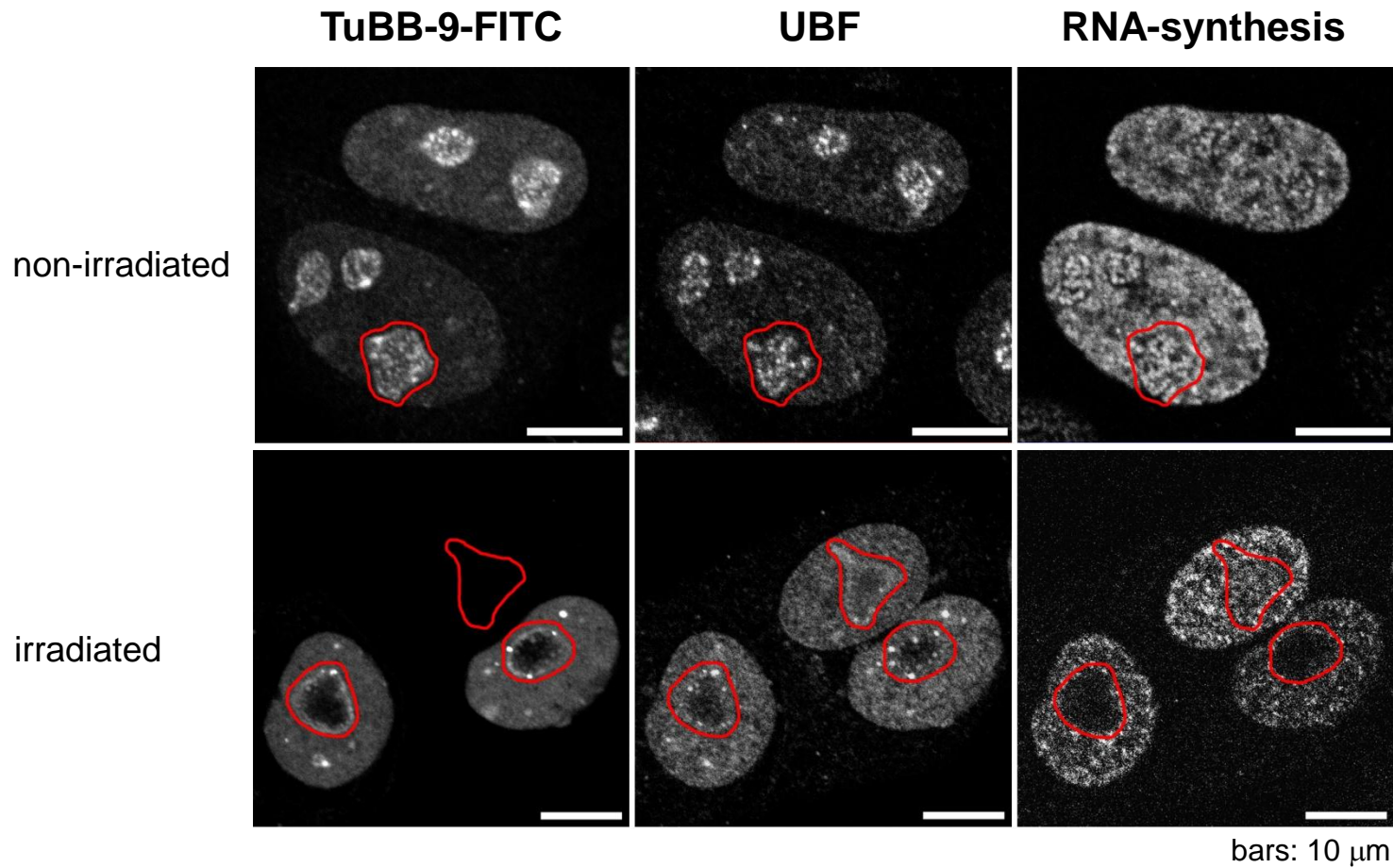


NO MATTER - TRY AGAIN - FAIL AGAIN -- FAIL BETTER (SAMUEL BECKETT)

A photograph of a brown frog with white spots and a dark stripe through its eyes, sitting on a grey, pebbly surface. A small white tag with the text 'Ki-67' is attached to the frog's mouth with thin wires.

**Ki-67**

# pKi-67-CALI with TuBB-9-antibody



# Übungen

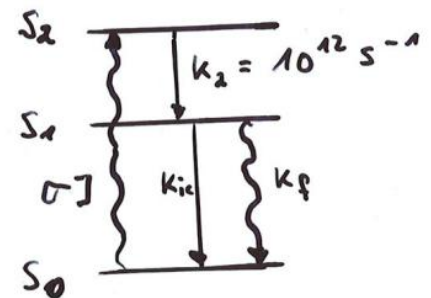
---

1. Mit welchem Modellvorstellungen kann Licht beschrieben werden? Welches Modell ist für photochemische Prozesse wichtig?
2. Was ist das Jablonski-Diagramm?
3. Warum sind die Spektren von Molekülen in Lösung relativ breit?
4. Gibt es Moleküle, die nur im angeregten Zustand stabil sind?
5. Was ist Phosphoreszenz?
6. Warum ist die Fluoreszenzwellenlänge immer langwelliger als die Anregungswellenlänge?

# Übungen

---

7. Kann die Quantenausbeute größer als eins sein? Geben Sie eine Begründung für Ihre Antwort.
8. Wie kann das Wirkungsspektrum einer photochemischen Reaktion abgeschätzt werden? Welche Voraussetzungen müssen hierbei erfüllt sein?
9. Nennen Sie mindestens zwei Effekte, durch die bei einem photochemischen Prozess das Bunsen-Roscoe-Gesetz verletzt werden kann.
10. Berechnen Sie die für folgendes System die Quantenausbeute in Abhängigkeit der Ratenkonstanten.



# Übungen

---

11. Die Fluoreszenz eines Farbstoffes A wird durch eine zweite Substanz Q gelöscht. Wie kann die Geschwindigkeitskonstante  $k_Q$  des Lösprozesses gemessen werden? Leiten Sie eine entsprechende Gleichung zur Berechnung von  $k_Q$  ab.

# Lösungen

---

Frage:

Kann die Quantenausbeute größer als eins sein? Geben Sie eine Begründung für Ihre Antwort.

Antwort:

Ja, z.B. bei der Bildung von zwei identischen Produkten:  $A-A + h\nu \rightarrow A + A$

Frage:

Wie kann das Wirkungsspektrum einer photochemischen Reaktion abgeschätzt werden?

Welche Voraussetzungen müssen hierbei erfüllt sein?

Antwort:

Das Wirkungsspektrum kann durch das Absorptionsspektrum oder Fluoreszenzanregungsspektrum multipliziert mit der Wellenlänge (Einstein-Stark-Gesetz) abgeschätzt werden. Es muß die Regel von Kasha gelten und eine direkte photochemische Reaktion vorliegen (keine Kettenreaktion). Außerdem darf nur die photochemisch aktive Substanz zur Absorption oder Fluoreszenz beitragen.

Frage:

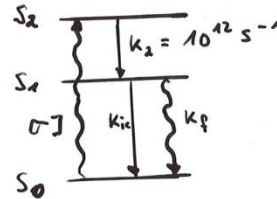
Nennen Sie mindestens zwei Effekte, durch die bei der photodynamischen Therapie das Bunsen-Roscoe-Gesetz verletzt werden kann.

Antwort:

1. Sättigungs- und Mehrphotonenprozesse beim Einsatz gepulster Laser mit hoher Spitzenbestrahlungsstärke der einzelnen Pulse.
2. Reduktion der Sauerstoffkonzentration im Gewebe während der Therapie durch eine zu hohe durchschnittliche Bestrahlungsstärke oder eine schlechte Perfusion des Gewebes.
3. Reparaturprozesse der Zellen, falls sehr lange Bestrahlungszeiten verwandt werden.

# Lösungen

$$\Phi_f = \frac{k_f [S_1]}{\sigma_j [S_0]}$$



$$\frac{d[S_0]}{dt} = -\sigma_j [S_0] + (k_{ic} + k_f) [S_1]$$

$$\frac{d[S_1]}{dt} = - (k_{ic} + k_f) [S_1] + k_2 [S_2]$$

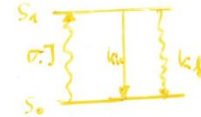
$$\frac{d[S_2]}{dt} = \sigma_j [S_0] - k_2 [S_2]$$

Stationärer Zustand ( $\frac{d}{dt} = 0$ ):

$$\frac{[S_2]}{[S_0]} = \frac{\sigma_j}{k_2} = \frac{10}{10^{12}} \approx 0$$

$$\frac{[S_1]}{[S_0]} = \frac{\sigma_j}{k_{ic} + k_f}$$

$$\Phi_f = \frac{k_f}{\sigma_j} \frac{\sigma_j}{k_{ic} + k_f} = \frac{k_f}{k_{ic} + k_f}$$



# Lösungen

---

## Frage:

Die Fluoreszenz eines Farbstoffes A wird durch eine zweite Substanz Q gelöscht. Wie kann die Geschwindigkeitskonstante  $k_Q$  des Löschprozesses gemessen werden? Leiten Sie eine entsprechende Gleichung zur Berechnung von  $k_Q$  ab.

## Antwort:

Durch Messung der Fluoreszenzintensität (oder Quantenausbeute  $\Phi_f$ ) in Abhängigkeit von der Konzentration der Substanz Q und die Bestimmung der Fluoreszenzlebensdauer  $1/k_f$  der Substanz A.

Für die Quantenausbeute gilt:

$$\Phi_f = (k_f [A^*]) / (\sigma I [A])$$

Die Besetzung des angeregten Zustandes  $A^*$  kann mit folgender Differentialgleichung beschrieben werden:

$$d[A^*]/dt = \sigma I [A] - k_f [A^*] - k_Q [A^*] [Q]$$

Im Gleichgewicht wird  $d[A^*]/dt$  gleich Null gesetzt. Aus beiden Gleichungen erhält man:

$$\Phi_f = k_f / (k_f + k_Q [Q]) \quad (\text{Stern-Volmer-Gleichung})$$

Durch Auftragung von  $1/\Phi_f$  gegen die Konzentration der Substanz Q kann  $k_Q/k_f$  bestimmt werden. Bei Kenntnis von  $k_f$  kann  $k_Q$  dann berechnet werden.