

Physikalische Chemie 2015

Die molekularen Prozesse des Lebens in Zellen finden auf engstem Raum statt, unter Bedingungen, die im Reagenzglas kaum nachgestellt werden können. In-Zell-Experimente und Simulationen entschlüsseln Funktion und Struktur von Proteinen. Eine neue spektroskopische Methode auf Basis hochauflösender Rotationsspektroskopie unterscheidet Enantiomere in der Gasphase. Sie ist auf Moleküle mit mehreren stereogenen Zentren anwendbar wie auf chirale Mischungen, und zwar ohne Aufbereitung.

Neuentwicklungen in der ultraschnellen Spektroskopie verbinden zeitliche mit räumlicher Information. Dies eröffnet Möglichkeiten, photoinduzierte Prozesse in Funktionsmaterialien, etwa Polymerhalbleitern, aufzuklären. Isolierte Moleküle können mit Hilfe starker elektrischer Felder gezielt nach Größe, Form, Struktur und sogar nach ihrem Quantenzustand sortiert und dann im Raum orientiert werden.

Vom Reagenzglas in die Zelle

◆ Das Innere einer Zelle bietet nicht viel Platz. Bis zu 40 Prozent des Volumens nehmen biologische Makromoleküle und organische Verbindungen ein (Abbildung 1): Proteine, Nukleinsäuren, membranformende Lipide, Kohlenhydrate, Metabolite, etc.^{1,2)} Selbst einfache Modellorganismen wie *Escherichia coli* enthalten mehr als 4000

unterschiedliche Proteine verschiedenster Formen und Größen.³⁾ Diese können eine Vielzahl spezifischer und nichtspezifischer Wechselwirkungen eingehen.⁴⁾ Die Menge an Makromolekülen erhöht die intrazelluläre Viskosität deutlich im Vergleich zu verdünntem Puffer.⁵⁾ Trotzdem funktionieren Biomoleküle in dieser Umgebung. Im Laufe der Evolution haben sich Struktur, Funktion und Flexibilität von Proteinen optimal an die intrazelluläre Umgebung angepasst.⁶⁾

Beobachtungen von Proteinen in lebenden Zellen mit dem Ziel, diese in ihrer nativen Umgebung zu verstehen, waren aus technischen Gründen bis vor wenigen Jahren nur begrenzt möglich. Um die Funktion einzelner Proteine zu verstehen, wurden diese daher oft aus dem zellulären Kontext gelöst, in verschiedenen Expressionssystemen wie Bakterien, Hefen, menschlichen Zellen etc. exprimiert, um sie anschließend als isolierte Proteine in stark verdünnten Pufferumgebungen zu untersuchen.

Isolierte Proteine werden mit biochemischen und biophysikali-

schen Methoden wie Röntgenstrukturanalyse, Kalorimetrie, Spektroskopie, Aktivitäts-Assays, etc. untersucht. Doch lassen diese Experimente auf das native Verhalten und die native Struktur von Proteinen in der Zelle schließen? Um die zelluläre Umgebung nachzustellen, werden oft künstliche Crowding-Moleküle verwendet. Das sind Makromoleküle, die in hohen Konzentrationen das verfügbare Volumen in einer Lösung reduzieren. Erste Experimente in Anwesenheit von solchen Crowdern deuten darauf hin, dass der Platzmangel in einer Zelle Proteine beeinflusst. So unterscheiden sich Stabilität und Aggregationseigenschaften von Proteinen in dicht gepackten und in verdünnten Lösungen.⁷⁾ Solche Unterschiede können essenziell sein, zum Beispiel bei der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen, in denen die Fehlfaltung und Aggregation von Proteinen entscheidende Auslöser sind.^{6,8)}

Daher gibt es aktuell zwei Trends: Zum einen wird versucht, die intrazellulären Effekte der Um-

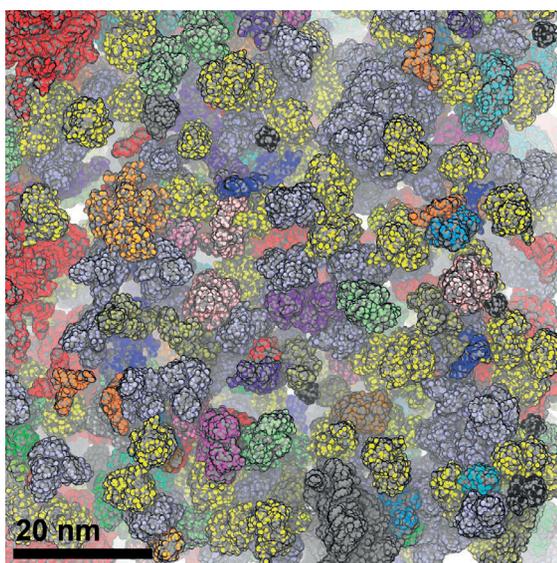


Abb. 1. Das dicht gepackte Innere einer Zelle. Das molekulare Modell von McGuffee und Elcock enthält die 50 meist vertretenen Makromoleküle des *E.-coli*-Zytoplasmas.²⁶⁾

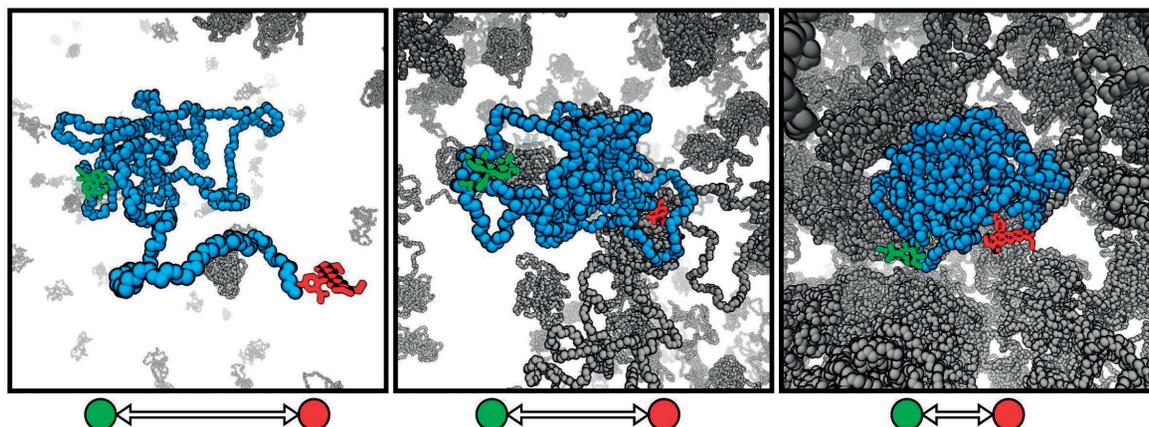


Abb. 2. Crowding-Sensor. Steigende Konzentrationen künstlicher Crowding-Substanzen (von links nach rechts) führen zu einer Kompression der Random-coil-Kette. Dadurch nähern sich Donor- und Akzeptor-Fluorophor, und das FRET-Signal steigt an. Damit erlaubt der Sensor Rückschlüsse auf das molekulare Volumen in dicht gedrängten Lösungen.¹³⁾

gebung allgemein zu verstehen und zu beschreiben. Zum anderen wird an experimentellen Techniken gearbeitet, die es erlauben, Proteine in ihrer nativen zellulären Umgebung zu untersuchen.

Die Enge in der Zelle

◆ Modelle, die generell Ergebnisse aus dem Reagenzglas verlässlich auf die zelluläre Ebene übertragen, gibt es bisher nicht. Auf biomolekulare Reaktionen wirken viele Effekte, die zu betrachten sind.

Häufig in der Literatur beschrieben ist das makromolekulare Crowding. Dies betrachtet den Einfluss der hohen makromolekularen Konzentration auf ein Biomolekül. Ein bisher oft verwendetes Modell, um Crowding zu beschreiben, basiert auf der Volumenausschluss-Theorie.⁹⁾ Diese beschreibt das verminderte Platzangebot durch das verdrängte Volumen und die abstoßenden Wechselwirkungen zwischen den gelösten Biomolekülen. Dieser Effekt führt zu einer Kompression von Biomolekülen. Bei der Proteinfaltung stabilisiert sich dadurch die kompaktere native Struktur, da der entfaltete Zustand ein größeres Volumen einnimmt.⁹⁾

Kompression ist jedoch nicht der einzige Mechanismus, der in hochkonzentrierten Lösungen von Biomolekülen relevant ist. Die Art der Wechselwirkungen zwischen den Biomolekülen wie auch ihre

Interaktionen mit dem Lösungsmittel Wasser spielen eine ebenso entscheidende Rolle.^{10–12)} Unsere Arbeitsgruppen verfolgen experimentelle und theoretische Ansätze, um neuartige Modelle hierfür zu entwickeln.

So haben wir kürzlich einen Crowding-Sensor entworfen, der das makromolekulare Crowding in lebenden Zellen messbar macht.¹³⁾ Dazu haben wir ein ungeordnetes und ungeladenes Polymer, Polyethylenglykol (PEG), an beiden Enden mit Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt.¹³⁾ Quantifizierung des intramolekularen Förster-Resonanzenergietransfers (FRET) zeigt den Abstand der Fluoreszenzmarkierungen und damit indirekt das molekulare Volumen. In dicht gedrängten Umgebungen, beispielsweise durch künstliche Crowding-Agenzien, sind kompakte Konformationen des Sensors durch Volumenausschlusseffekte bevorzugt (Abbildung 2). Erstaunlicherweise ist dies im Inneren lebender Zellen nicht zu beobachten. Nichtspezifische attraktive Wechselwirkungen des Polymers mit Proteinoberflächen kompensieren die Effekte, die der Platzmangel in der Zelle hervorruft. Allerdings ist unter bestimmten Bedingungen, zum Beispiel in hypertotonischer Lösung, diese Balance verschoben. Extrazelluläres Salz entzieht den Zellen Wasser und verstärkt den intrazellulären Volumenausschlusseffekt.

Als Folge ist eine Kompression des Sensors zu beobachten.¹³⁾

Um den Crowding-Effekt im Zellinneren zu beschreiben, sind sowohl Volumenausschlusseffekte als auch nichtspezifische attraktive Interaktionen zu berücksichtigen.¹³⁾ Je nachdem, wo sich ein Protein in der Zelle befindet, oder welche Umgebungsbedingungen (z. B. Salzkonzentration) vorliegen, überwiegt der eine oder andere Effekt und beeinflusst somit Struktur und Funktion.

Intermolekulare Wechselwirkungen simulieren

◆ Computersimulationen zeigen detailliert den Einfluss der jeweiligen intermolekularen Wechselwirkung. Wir verwenden Monte-Carlo-Simulationen wechselwirkender PEG-Moleküle, die ein Ensemble unterschiedlich gefalteter Konformationen beschreiben. In den Simulationen sind repulsive und attraktive Wechselwirkungen unabhängig voneinander skalierbar, um ihren jeweiligen Einfluss auf die Stabilität von kompakten und entfalten Molekülen zu analysieren.

Das verwendete Interaktionsmodell berücksichtigt sowohl elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den Molekülen in einer dielektrischen Lösungsumgebung als auch indirekte Wechselwirkungen, die sich aus den Wechselwirkungen mit dem Lösungsmit-

tel selbst ergeben.¹⁴⁾ Bei unterschiedlichen Konzentrationen, also unterschiedlicher Packungsdichte des PEG, beschreibt die Simulation somit quantitativ das Gleichgewicht zwischen repulsiven Wechselwirkungen und unspezifischen attraktiven Wechselwirkungen. Die repulsiven Wechselwirkungen stabilisieren die durch den Volumenausschluss kompakt gefalteten Polymere; die unspezifischen attraktiven Wechselwirkungen sind proportional zur Moleküloberfläche und stabilisieren entfaltete Polymere.

Neben Modellen, welche die Unterschiede von Pufferlösungen und der nativen zellulären Umgebung vorhersagen, ist es erstrebenswert, Experimente zu entwickeln, die Biomoleküle direkt in der Zelle vermessen. Eine von uns entwickelte Methode, um Proteine zu untersuchen, ist Fast Relaxation Imaging (FRiI).¹⁵⁾ Dies ist eine Kombination aus zeitlich aufgelöster Fluoreszenzmikroskopie und schnellen la-

serinduzierten Temperatursprüngen. Das zu untersuchende Protein ist an beiden Enden mit fluoreszierenden Proteinen markiert, um die Faltung über FRET zu verfolgen. Durch den Temperatursprung ist dann sowohl die Thermodynamik als auch die Kinetik der Entfaltung über die Fluoreszenzänderung zu beobachten, und zwar in der lebenden Zelle und mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung.

Das im Metabolismus involvierte Protein Phosphoglyceratkinase (PGK) wird in der Zelle leicht stabilisiert, das heißt, es weist einen höheren Schmelzpunkt auf.¹⁵⁾ Doch Zellen sind keine homogenen Lösungen, sondern in Kompartimente aufgeteilt. So finden sich Regionen in der Zelle, in denen unterschiedliche Faltungseigenschaften vorliegen.¹⁶⁾ Weitere Unterschiede sind zwischen verschiedenen Kompartimenten wie dem Nukleus, dem Zytosol und dem endoplasmatischen Retikulum zu beobachten.¹⁷⁾

Doch nicht nur räumliche Unterschiede verändern die Faltungseigenschaften. Auch zeitliche Veränderungen der zellulären Umgebung, wie sie im Zellzyklus vorzufinden sind, modulieren die Faltungseigenschaften von Proteinen.¹⁸⁾

Kernspinresonanz

◆ Eine andere Methode beruht auf der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR). Über In-Zell-NMR lassen sich isotoopenmarkierte Proteine direkt in prokaryotischen und eukaryotischen Zellen mit molekularer Auflösung untersuchen.^{19–21)} Erstmals erlaubte diese Form von NMR die De-novo-Strukturbestimmung einer kompletten Proteinstruktur in lebenden Zellen, ein Meilenstein für die zelluläre Strukturbiologie.^{19, 22)}

Auch um die Stabilität von Proteinen in lebenden Zellen zu untersuchen, bietet NMR neue Möglichkeiten. Ein wichtiges Beispiel ist die Stabilität der Superoxid-Dismutase 1 (SOD1), deren Fehlfaltung ein Auslöser der schwerwiegenden neu-

rodegenerativen Krankheit Amyotrophe Lateralsklerose ist.^{23, 24)} So wird SOD1 intrazellulär destabilisiert, in Lösungen mit künstlichen Crowding-Agenzien jedoch stabilisiert.²⁵⁾ Die feine Balance stabilisierender Volumenausschlusseffekte und nichtspezifischer Interaktionen mit der zellulären Umgebung beeinflusst die Faltung von SOD1 somit maßgeblich.²⁵⁾

Diffusion in der Zelle

◆ Die Umgebung in einer Zelle in einer Computersimulation realistisch darzustellen, ist anspruchsvoll. Für eine richtungweisende Studie konstruierten McGuffee und Elcock ein molekulares Modell des Zytoplasmas von *E. coli*, das 1000 individuelle Biomoleküle enthält, inklusive häufiger Proteine, ribosomaler Untereinheiten und t-RNAs (Abbildung 1).²⁶⁾ Dieses Modell steckte in Simulationen der Brownschen Dynamik der als starr angenommenen Moleküle. Ziel war, den Einfluss des makromolekularen Crowdings auf die Diffusion der Moleküle auf der Mikrosekundenzeitskala zu untersuchen. Zurzeit arbeiten wir daran, dieses Modell in die beschriebenen Monte-Carlo-Simulationen des PEG-Polymers zu implementieren, um neben dem Gleichgewicht repulsiver und attraktiver Wechselwirkungen die Rolle der Heterogenität der biomolekularen Umgebung im Inneren lebender Zellen einzubeziehen.

Bisher gibt es nur wenige, meist komplexe Techniken, um Proteine in ihrer nativen Umgebung zu studieren. Doch die ersten Ergebnisse zeigen, dass die Unterschiede zwischen einem verdünnten Puffer und dem komplexen zellulären Milieu deutlich sind.^{15, 25, 27, 28)} So zeigt das Beispiel SOD1, dass ein krankheitsrelevantes Protein in der Zelle stark destabilisiert sein kann. Anders als im Reagenzglas verändern in der lebenden Zelle direkte Interaktionen, zum Beispiel mit Chaperonen, das Verhalten von Proteinen maßgeblich.^{29, 30)} In-Zell Techniken wie FRiI oder In-Zell-NMR kön-

GDCh

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

GDCh Inhouse-Kurse



Profitieren Sie von unserem langjährigen Know-how und nutzen Sie zahlreiche Vorteile!

- ✓ Individualität und Effizienz
- ✓ Kosten- und Zeitersparnis
- ✓ Übung an gewohnten Geräten

Sprechen Sie uns an!

Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V. · Fortbildung
Telefon: +49 69 7917-485 · E-mail: fb@gdch.de

www.gdch.de/inhouse

nen somit helfen, krankheitsauslösende Mechanismen aufzudecken sowie neue Therapeutika, und Therapieansätze zu entwerfen und zu testen. Die Zelle als komplexes Lösungsmittel ist nicht nur die passive Umgebung eines Proteins, sondern wichtiger Bestandteil biomolekularer Prozesse.

Literatur

- 1) S. Zimmerman, S. Trach, *J. Mol. Biol.* 1991, 222, 599–620.
- 2) R. Ellis, A. Minton, *Nature* 2003, 425, 27–28.
- 3) F. Blattner, G. Plunkett, C. Bloch et al., *Science* 1997, 277, 1453–1462.
- 4) E. H. McConkey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1982, 79, 3236–3240.
- 5) J. A. Dix, A. S. Verkman, *Annu. Rev. Biophys.* 2008, 37, 247–263.
- 6) M. A. DePristo, D. M. Weinreich, D. L. Hartl, *Nat. Rev. Genet.* 2005, 6, 678–687.
- 7) H.-X. Zhou, G. Rivas, A. Minton, *Annu. Rev. Biophys.* 2008, 37, 375–397.
- 8) C. Dobson, *Nature* 2003, 426, 884–890.
- 9) A. Minton, *Biopolymers* 1981, 20, 2093–2120.
- 10) L. Sapir, D. Harries, *Curr. Opin. Colloid. Interface Sci.* 2015, 20, 3–10.
- 11) I. M. Kuznetsova, B. Y. Zaslavsky, L. Breydo, K. K. Turoverov, V. N. Uversky, *Molecules* 2015, 20, 1377–1409.
- 12) M. Senske, L. Tork, B. Born, M. Havenith, C. Herrmann, S. Ebbinghaus, *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 136, 9036–9041.
- 13) D. Gnutt, M. Gao, O. Brylski, M. Heyden, S. Ebbinghaus, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 2548–2551.
- 14) P. Mereghetti, R. R. Gabdoulina, R. C. Wade, *Biophys. J.* 2010, 99, 3782–3791.
- 15) S. Ebbinghaus, A. Dhar, J. McDonald, M. Gruebele, *Nat. Methods* 2010, 7, 319–323.
- 16) S. Ebbinghaus, M. Gruebele, *J. Phys. Chem. Lett.* 2011, 2, 314–319.
- 17) A. Dhar, K. Girdhar, D. Singh, H. Gelman, S. Ebbinghaus, M. Gruebele, *Biophys. J.* 2011, 101, 421–430.
- 18) A. J. Wirth, M. Platkov, M. Gruebele, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 19215–19221.
- 19) Y. Ito, P. Selenko, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2010, 20, 640–648.
- 20) D. I. Freedberg, P. Selenko, *Annu. Rev. Biophys.* 2014, 43, 171–192.
- 21) R. Hänsel, L. M. Luh, I. Corbeski, L. Trantirek, V. Dötsch, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 10300–10314.
- 22) D. Sakakibara, A. Sasaki, T. Ikeya, et al. *Nature* 2009, 458, 102–105.
- 23) D. R. Rosen, T. Siddique, D. Patterson et al., *Nature* 1993, 362, 59–62.
- 24) M. J. Lindberg, R. Bystrom, N. Boknas, P. M. Andersen, M. Oliveberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005, 102, 9754–9759.

- 25) J. Danielsson, X. Mu, L. Lang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015, 112, 12402–12407.
- 26) S. R. McGuffee, A. H. Elcock, *PLoS Comput. Biol.* 2010, 6, e1000694.
- 27) W. B. Monteith, R. D. Cohen, A. E. Smith, E. Guzman-Cisneros, G. J. Pielak, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015, 112, 1739–1742.
- 28) I. Guzman, H. Gelman, J. Tai, M. Gruebele, *J. Mol. Biol.* 2014, 426, 11–20.
- 29) M. Guo, H. Gelman, M. Gruebele, *PLoS one* 2014, 9, e113040.
- 30) F. U. Hartl, A. Bracher, M. Hayer-Hartl, *Nature* 2011, 475, 324–332.

Dank

Die Autoren bedanken sich für die Förderung durch das Rückkehrprogramm des Ministeriums für Innovation, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen und den Exzellenzcluster Resolv.

David Gnutt hat an der Universität Bochum Biochemie studiert und mit dem Master abgeschlossen. Seit dem Jahr 2013 promoviert er am Lehrstuhl für Physikalische Chemie II bei Simon Ebbinghaus. Für seine Doktorarbeit charakterisiert er intrazelluläre Crowding-Effekte und ihren Einfluss auf das Verhalten von Biomolekülen in lebenden Zellen.



Matthias Heyden hat an der Universität Bochum Biochemie studiert und im Jahr 2010 bei Martina Havenith promoviert. Anschließend arbeitete er als Postdoktorand mit Douglas J. Tobias an der University of California, Irvine. Seit dem Jahr 2013 ist er Resolv-Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr. Hier untersucht er mit Molekulardynamik- und Monte-Carlo-Simulationen die Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen und ihrer Umgebung. heyden@kofo.mpg.de



Simon Ebbinghaus hat an den Universitäten Bochum und Oxford Chemie und Biochemie studiert und im Jahr 2007 in physikalischer Chemie bei Martina Havenith promoviert. Von 2008 bis 2010 arbeitete er mit Martin Gruebele an der University of Illinois in Urbana-Champaign (USA). Im Rahmen des NRW-Rückkehrprogramms kehrte er als Junior-Professor nach Bochum zurück. Mit eigenen entwickelten In-Zell-Methoden untersucht er die Einflüsse zellulärer Umgebungen auf biomolekulare Funktion und Fehlfunktion. Simon.Ebbinghaus@rub.de



Chirale Analyse komplexer Molekülmischungen

◆ Trotz der vielen konzeptionell unterschiedlichen Methoden, chirale Mischungen zu analysieren und Enantiomere zuzuordnen, gibt es hier weiterhin Probleme und offene Fragen. Schwierig zu analysieren sind unter anderem Mischungen, die mehrere chirale Moleküle, mögliche Konformere derselben und Stereoisomere gleichzeitig enthalten. Auch die absolute Konfiguration von Molekülen zu bestimmen, ist eine Herausforderung. Analytische Methoden mit hoher spektroskopischer Auflösung sind hier eine Alternative zu etablierten Methoden.

In Zusammenarbeit mit Dave Patterson und John M. Doyle, Harvard University, entwickelten wir kürzlich eine neue, empfindliche und speziesspezifische Methode, die Enantiomere in der Gasphase eindeutig unterscheidet.^{1–4)} Die Methode basiert auf der hochauflösenden Rotationsspektroskopie.

Dipolmomente der Enantiomere als Spiegelbilder

◆ Im rotationsspektroskopischen Experiment ist die Molekülantwort direkt mit den Trägheitsmomenten der Moleküle und somit mit ihrer Struktur verknüpft. Sie lassen sich so eindeutig unterscheiden und zuzuordnen. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Massen und damit Trägheitsmomente können auch Isotopologe sowie Konformere unterschieden und ihre Strukturen hochpräzise bestimmt werden. Voraussetzung ist, dass die Moleküle in die Gasphase gebracht werden können und polar sind.

Da die Strukturen und somit die Dipolmomente der beiden Enantiomere eines chiralen Moleküls spiegelbildlich zueinander sind (Abbildung 1), nimmt das Skalarprodukt der drei Übergangsdipolmomentenkomponenten μ_a , μ_b und μ_c für die

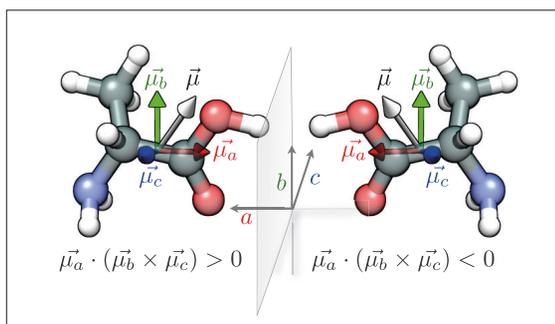


Abb. 1. Auch die Dipolmomente der beiden Enantiomere eines chiralen Moleküls verhalten sich wie Bild und Spiegelbild zueinander. Diese Eigenschaft führt zu entgegengesetzten Vorzeichen des skalaren Dreifachprodukts der Übergangsdipolmomentenkomponenten μ_a , μ_b und μ_c innerhalb eines festen Koordinatensystems, da das Vorzeichen dieses skalaren Dreifachprodukts von der Anordnung der Einzelvektoren abhängt. Bei einer Spiegelung ändert es sich und bleibt unter Zeitumkehr unverändert, sodass das Vorzeichen eine Messgröße für Chiralität ist.

beiden Enantiomere verschiedene Vorzeichen an. Das kann man sich so vorstellen: Die Enantiomere orientieren sich entlang von zwei Raumrichtungen, beispielsweise durch zwei senkrecht zueinander polarisierte elektromagnetische Felder, die mit μ_a und μ_b koppeln, dann zeigt die dritte Dipolmomentenkomponente, in diesem Fall μ_c , für die beiden Enantiomere in entgegengesetzte Richtungen. Diesen Vorzeichenwechsel nutzen wir im spektroskopischen Experiment. Dafür verwenden wir geschlossene Zyklen aus drei dipolerlaubten Rotationsübergängen, die jeweils mit einem der drei Übergangsdipolmomentenkomponenten des chiralen Moleküls assoziiert und in einer der drei Raumrichtungen linear polarisiert sind (Abbildung 2). Die Moleküle werden resonant angeregt, sodass es möglich ist, verschiedene Moleküle gleichzeitig zu untersuchen und eindeutig zuzuordnen. Dies macht die Methode auf Mischungen anwendbar.

Da es sich um insgesamt drei verschiedene Mikrowellenfelder handelt, die mit den Molekülen wechselwirken beziehungsweise aus ihrer Wechselwirkung entstehen – zwei zur Anregung und eines in Emission gemessen – bezeichnen wir diese Methode als Mikrowellen-Drei-Wellen-Mischen (M3WM).

Mikrowellen-Drei-Wellen-Mischen

◆ Beim M3WM handelt es sich um ein Doppelresonanzexperiment mit zwei senkrecht zueinander polarisierten Mikrowellenpulsen, die zu zwei Rotationsübergängen resonant sind, die wiederum jeweils nur von einer Dipolmomentenkomponente abhängen (Abbildung 2). Diese Doppelanregung resultiert in einer Mikrowellenemission, die entlang der dritten Richtung, also senkrecht zu den beiden Anregungsfeldern polarisiert ist. Diese Mikrowellenemission ist resonant zu dem Rotationsübergang, der von der dritten Übergangsdipolmomentenkomponente abhängt. Da es sich dabei um den Übergang handelt, den wir detektieren, bezeichnen wir ihn als listen-Übergang (Abbildung 2).

Bei der Breitband-Rotations-spektroskopie wie auch beim M3WM handelt es sich um Fourier-Transformationsmethoden, sodass die Aufnahme der chiralen Molekülanwort als freier Induktionszerfall (free-induction decay, FID) in der Zeitdomäne erfolgt wie in der Fourier-Transformations-NMR-Spektroskopie. Die Phase dieser Molekülanwort in der Zeitdomäne (des listen-Übergangs) hängt vom Vorzeichen des Skalarprodukts der drei Übergangsdipolmomentenkomponenten μ_a , μ_b und μ_c ab und spiegelt daher den Vorzeichenwechsel für die beiden Enantiomere wider. Aufgrund dieses Vorzeichenwechsels beobachten wir für den FID des listen-Übergangs um 180° verschiedene Phasen für Moleküle entgegengesetzter Chiralität (Abbildung 2, unten), was somit ein eindeutiges Unterscheidungsmerkmal ist. Dies

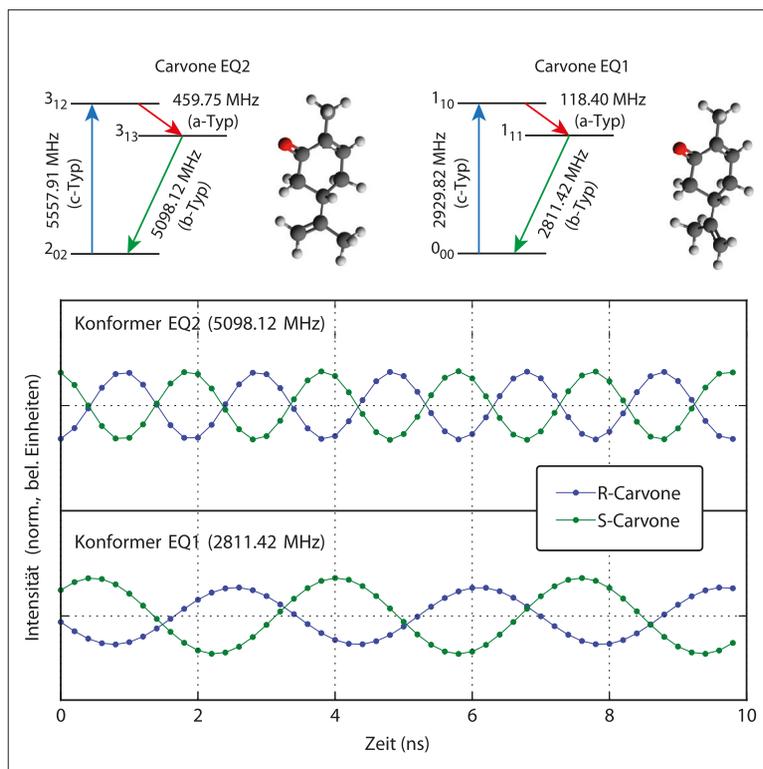


Abb. 2. Mikrowellen-Drei-Wellen-Mischen (M3WM) unterscheidet die Enantiomere der beiden Carvon-Konformere EQ1 und EQ2. Im oberen Teil sind die Molekülstrukturen und die verwendeten M3WM-Schemata dargestellt. Dieses polarisationssensitive Doppelresonanzexperiment nutzt Zyklen aus Rotationsübergängen, die mit den drei Raumrichtungen und den drei Übergangsdipolmomentenkomponenten des chiralen Moleküls assoziiert sind. Im unteren Teil ist vergrößert die chirale Molekülanwort in Form eines Freien Induktionszerfalls (FID) in der Zeitdomäne für beide Konformere und ihre Enantiomere gezeigt. Der Phasenunterschied von 180° zwischen den R- und S-Enantiomeren beider Konformere ist deutlich sichtbar.

zeigt Abbildung 2 am Beispiel zweier Konformere des Terpens Carvon. Die beiden Konformere unterscheiden sich lediglich in der Orientierung der Isopropylgruppe zum Molekülrest. Ihre unterschiedlichen Rotationskonstanten erlauben ihre Unterscheidung und eindeutige Anregung.

Bei enantiomerenangereicherten Proben lassen sich die Enantiomere beider Konformere über ihre Phasen unterscheiden. Während die Phase des FIDs Aufschluss über das jeweilige Enantiomer und dessen eindeutige Unterscheidung gibt, lässt sich aus der Amplitude des chiralen Signals der Enantiomerenüberschuss durch Vergleich mit einem internen Standard bestimmen.^{3,5,6)}

Sowohl die Doppelresonanzanregung als auch die Aufnahme der chiralen Molekülantwort erfolgen resonant. Zusammen mit der hohen Auflösung eignet sich Breit-

band-Rotationsspektroskopie im Allgemeinen und M3WM im Besonderen also für Mischungen. Diese Eigenschaften machen M3WM für die chemische Analyse interessant. Chirale Proben können ohne vorherige Auftrennung analysiert werden, da alle Moleküle, also auch Isomere, Konformere und Isotopologe unverwechselbare Rotationspektren haben.

Chirale Moleküle in etherischem Pfefferminzöl

◆ Die Mischungskompatibilität der Rotationsspektroskopie und des M3WM haben wir kürzlich an handelsüblichem Pfefferminzöl gezeigt (Abbildung 3). Diese etherischen Öle natürlichen Ursprungs setzen sich häufig aus einer Menge verschiedener Inhaltsstoffe zusammen, die strukturell miteinander verwandt sind und sich in ihren Ei-

genschaften stark ähneln. Im Breitband-Rotationsspektrum des Pfefferminzöls identifizieren wir sieben verschiedene Terpene auf Basis ihrer Rotationskonstanten. Eukalyptol und Menthol sind am häufigsten, während Pulegon und Limonen um zwei Größenordnungen geringere Intensitäten in den Spektren haben. Zudem sind derartige Öle aufgrund ihres pflanzlichen Ursprungs oftmals enantiomerenangereicht, und es gelang uns, das M3WM-Signal für Menthon in der Mischung aufzunehmen.

Die einfachste Art, die absolute Konfiguration eines Moleküls in einer derartigen Mischung zu bestimmen, ist der Vergleich der Phasen mit einer Probe desselben Moleküls mit bekannter chiraler Zusammensetzung (diese Proben müssen nicht enantiomerenrein, sondern nur -angereicht sein). Die Phasen des M3WM-Signals

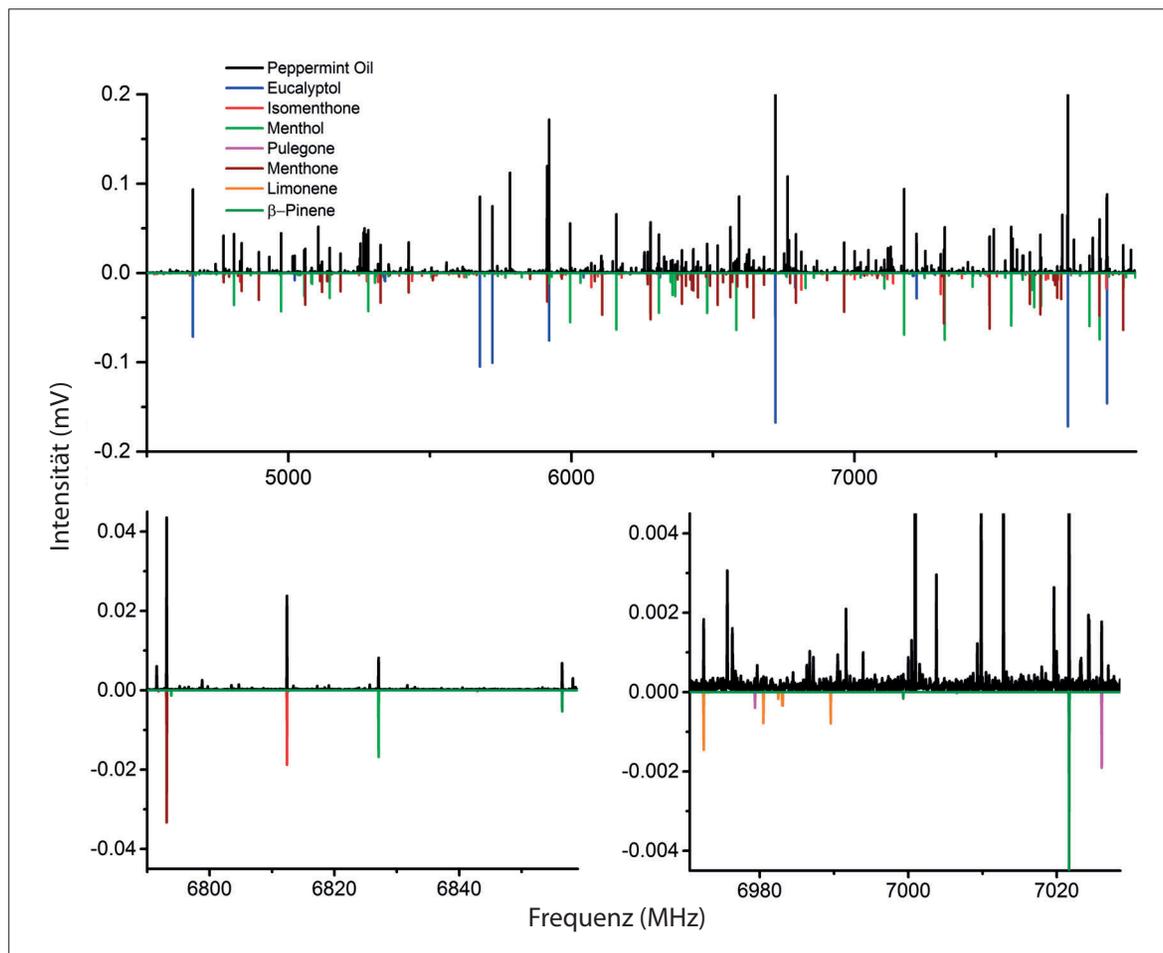


Abb. 3. Ausschnitt des Breitbandrotationsspektrums (300 000 Mittelungen, zirka 3 Stunden Messzeit) für natürliches Pfefferminzöl. Sieben verschiedene Terpene sind anhand ihrer Rotationsspektren eindeutig identifizierbar. Die beiden Vergrößerungen (unten) zeigen die weniger häufigen Moleküle Pulegon und Limonen. Die Intensitäten der beiden Vergrößerungen unterscheiden sich um jeweils eine Größenordnung.

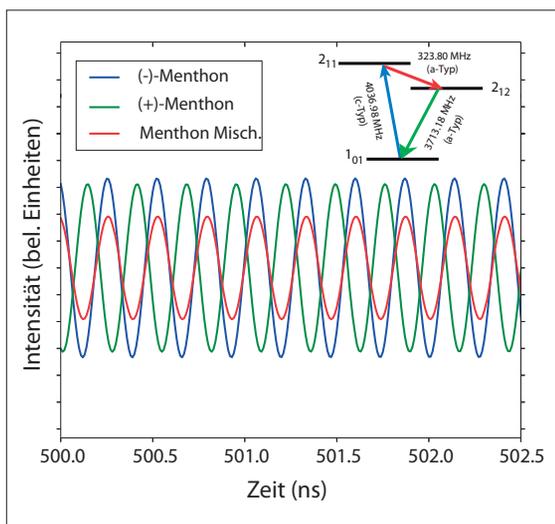


Abb. 4. M3WM-Messungen an Menthol, einem Molekül mit zwei stereogenen Zentren. Der Phasenunterschied zwischen den beiden Enantiomeren des Menthols ist klar ersichtlich. Die rote Kurve zeigt die Messung eines kommerziell erhältlichen Menthol-Isomerenmischs. Die Phase folgt der des (-)-Menthols, sodass das Enantiomer im Überschuss in diesem Isomerenmisch eindeutig zuzuordnen ist.

sind robust und reproduzierbar, auch wenn zwischen den einzelnen Messungen die Probe gewechselt werden muss. Abbildung 4 zeigt für Menthol einen Ausschnitt des FIDs für die Frequenz des listen-Übergangs des oben rechts dargestellten M3WM-Zyklus. Wie erwartet zeigt die Messung für (+)- und (-)-Menthol gegensätzliche Phasen des FID in der Zeitdomäne. Die Vermessung eines kommerziell erhältlichen Isomerenmischs aus Menthol und Isomenthol zeigt, dass (-)-Menthol im Überschuss vorliegt: Die Phase des FIDs entspricht der des (-)-Menthols.

Die M3WM-Methode lässt sich, wie das Beispiel zeigt, auch auf Moleküle mit mehreren stereogenen Zentren anwenden.⁶⁾ Diastereomere unterscheiden sich aufgrund ihrer Strukturunterschiede bereits in ihren Rotationskonstanten. Über Isotopensubstitution, entweder in natürlicher Häufigkeit oder mit isotenangereicherten Proben, sind die Molekülstrukturen präzise bestimmbar, was dann die eindeutige Identifizierung der Diastereomere ermöglicht. Da sich auch die Enantiomere von Molekülen mit mehreren stereogenen Zentren im Vorzeichen ihrer Dipolmomentskomponenten unter-

scheiden, lassen sie sich über M3WM eindeutig differenzieren.

Fazit

◆ Mikrowellen-Drei-Wellen-Mischen (M3WM) ist eine empfindliche Methode, mit der sich die Enantiomere chiraler Moleküle auch in komplexen Mischungen eindeutig unterscheiden, zuordnen und quantifizieren lassen. Die Untersuchung erfolgt in der Gasphase unter den isolierten Bedingungen eines Überschallstrahls, sodass Lösungsmittelleffekte keine Rolle spielen. Der Phasenunterschied zwischen den beiden Enantiomeren ist eine eindeutige Messgröße für Chiralität. Dieser Phasenunterschied bietet sich auch an, in zukünftigen Experimenten Enantiomere über einen weiteren, phasensensitiven und resonanten Mikrowellenpuls zu trennen.

Literatur

- 1) D. Patterson, M. Schnell, J. M. Doyle, *Nature*, 2013, 497, 475.
- 2) D. Patterson, J. M. Doyle, *Phys. Rev. Lett.*, 2013, 111, 023008.
- 3) V. A. Shubert, D. Schmitz, D. Patterson, J. M. Doyle, M. Schnell, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 1152–1155.
- 4) D. Patterson, M. Schnell, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, 16, 11114–11123.
- 5) V. A. Shubert, D. Schmitz, C. Medcraft et al., *J. Chem. Phys.* 2015, 142, 214201.
- 6) V. A. Shubert, D. Schmitz, M. Schnell, *J. Mol. Spec.* 2014, 300, 31–36.

Melanie Schnell, Jahrgang 1978, promovierte im Jahr 2004 in physikalischer Chemie an der Universität Hannover, und zwar auf dem Gebiet der hochauflösenden Spektroskopie. Nach einem Forschungsaufenthalt in den USA wechselte sie zum Fritz-Haber-Institut in Berlin. Dort entwickelte sie Methoden, um kalte Moleküle mit Mikrowellenstrahlung zu erzeugen. Seit dem Jahr 2010 leitet sie eine unabhängige Max-Planck-Forschungsgruppe in Hamburg, seit 2013 am Max-Planck-Institut für Struktur und Dynamik der Materie am Center for Free-Electron Laser Science. Ihre Gruppe beschäftigt sich mit der hochauflösenden Spektroskopie komplexer Moleküle, insbesondere chiraler Moleküle und Systeme von astrochemischer Relevanz.

melanie.schnell@mpsd.mpg.de



Die Zukunft der ultraschnellen Spektroskopie

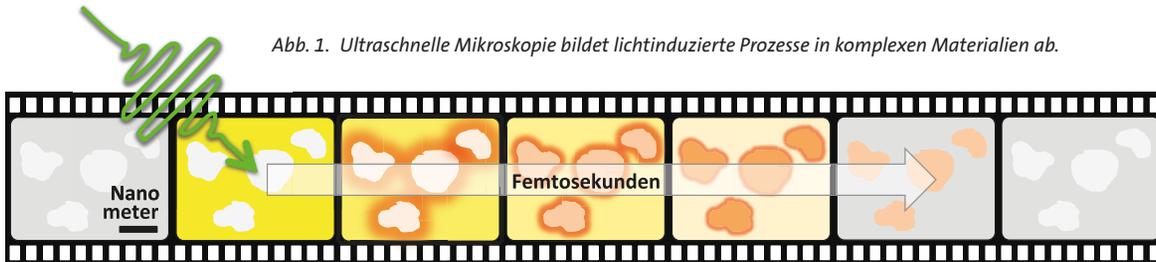
◆ Neue experimentelle Ansätze in der ultraschnellen Spektroskopie liefern bereits jetzt zeitliche und räumliche Informationen. Dieser Trend entwickelt sich rasch und wird es ermöglichen, bisher unbekannte Informationen über die Wechselwirkung von Licht mit funktionalen Materialien zu erhalten.

Die Wechselwirkung von Materialien mit Licht spielt eine entscheidende Rolle in technischen Anwendungen wie optischen Sensoren, Photovoltaikzellen, Photokatalysatoren oder Materialien, deren optische und mechanische Eigenschaften mit Licht gesteuert werden können. Die eingesetzten Materialien sind oft komplex, bestehen etwa aus organisch-anorganischen Hybridmaterialien, Polymerhalbleitern und Halbleitermischungen oder aus Nanokompositen, bei denen Nanopartikel oder -strukturen in andere Materialien eingebettet sind. Diese sind auf der Nanoskala nicht homogen und weisen zahlreiche unterschiedliche Grenzflächen auf. Wie sich Nanostruktur und Grenzflächen auf die Eigenschaften des gesamten Materials auswirken, ist nur in den seltensten Fällen verstanden.

Um das Material insgesamt zu verstehen und damit zu optimieren, ist ein detailliertes mikroskopisches Bild der Materialien und deren Wechselwirkung mit Licht unabdingbar (Abbildung 1). Dies erfordert Methoden, die gleichzeitig räumliche und zeitliche Informationen liefern. In den vergangenen Jahren wurden dazu mehrere Techniken entwickelt. Sie alle verbinden eine hochauflösende Mikroskopietechnik (laterale Auflösung < 100 nm) mit einem Femtosekunden-Lasersystem in einem Pump-Probe-Ansatz (Kasten).

Die Abbildung ultraschneller Prozesse und mit Nanometerauflösung gelingt mit ultraschneller op-

Abb. 1. Ultraschnelle Mikroskopie bildet lichtinduzierte Prozesse in komplexen Materialien ab.



tischer Rasternahfeldmikroskopie (SNOM), mit ultraschneller Elektronenmikroskopie (SEM und TEM) und mit ultraschneller Photoemissions-Elektronenmikroskopie (PEEM).

Ultraschnelle optische Rasternahfeldmikroskopie

◆ Die SNOM-Technik (scanning probe near-field optical microscopy) nutzt das optische Nahfeld in der Nähe einer sehr feinen Spitze.¹⁾ Das räumliche Auflösungsvermögen ist dann nicht mehr durch die Wellenlänge des verwendeten Lichts limitiert, sondern durch die Dimension der Spitze. So sind late-

rale Auflösungen unter 100 nm erreichbar. Die Spitze rastert über die Probe und detektiert an jedem Punkt spektroskopische Informationen des Materials.²⁾ Wird an jedem Punkt ein Femtosekunden-Pump-Probe-Experiment durchgeführt, so ergibt sich ultraschnelle Spektroskopie mit hoher räumlicher Auflösung.³⁻⁵⁾

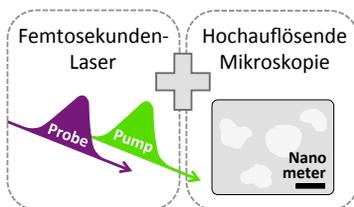
Ultraschnelle Elektronenmikroskopie

◆ Bei der ultraschnellen Elektronenmikroskopie wird die Probe mit einem Laserpuls (Pump-Puls) angeregt und mit einem Elektronen-

puls abgefragt. Der Elektronenpuls entsteht, indem der Probe-Puls auf eine Photokathode fokussiert wird. Dieses Prinzip wird sowohl im scanning ultrafast electron microscope (SUEM)^{6,7)} als auch im ultrafast transmission electron microscope (UTEM oder UEM)⁸⁻¹⁰⁾ eingesetzt. Die Entwicklung beider Techniken hat maßgeblich die Gruppe von Ahmed Zewail vorangetrieben. Der wesentliche Unterschied zwischen den Techniken besteht darin, dass im SUEM der Elektronenpuls fokussiert über die Probe gerastert wird und in jedem Pixel Sekundär- oder Rückstreuungselektronen detektiert werden. Im UTEM hingegen werden transmittierte Elektronen detektiert, was atomare Auflösung erlaubt. Allerdings sind die Anforderungen an die Probenpräparation entsprechend hoch, da die Probe so dünn sein muss, dass genügend Elektronen transmittiert werden.

◆ Der Pump-Probe-Ansatz

Das Pump-Probe-Prinzip (Anregungs-Abfrage-Prinzip, Abbildung) macht Zeitaufklärung im Femtosekundenbereich zugänglich. Hierbei wird ein Femtosekunden-Laserpuls an einem teilweise durchlässigen Spiegel in zwei Pulse (Pump- und Probe-Puls) aufgeteilt. Während einer über eine feste Strecke gelenkt wird, variiert die Weglänge, die der andere Puls zurücklegt. Treffen beide Laserpulse auf die Probe, weisen sie dabei einen Zeitversatz auf, der ihrer Wegdifferenz entspricht. Der erste Puls (Pump-Puls) regt das System an, zum Beispiel indem er Elektronen vom Valenzband eines Halbleiters in das Leitungsband hebt. Der zweite Puls (Probe-Puls) fragt den angeregten Zustand nach einer bestimmten Verzögerungszeit ab. Diese Abfrage kann zum Beispiel durch die Messung der Absorption des Pulses geschehen (tran-



Bei der ultraschnellen Mikroskopie wird eine hochauflösende Mikroskopietechnik mit einem Femtosekunden-Lasersystem gekoppelt.

siente Absorption) oder durch Photoionisation des angeregten Zustandes (zeitaufgelöste Photoelektronenspektroskopie). Führt man nun Messungen bei verschiedenen Zeitversätzen der beiden Laserpulse durch, kann man die Dynamik der angeregten Zustände mit einer Zeitaufklärung untersuchen, die durch die Dauer der Laserpulse vorgegeben ist. Heutzutage sind Zeitaufösungen bis zu wenigen Femtosekunden möglich.

Ultraschnelle Photoemissions-Elektronenmikroskopie

◆ Bei der Photoemissions-Elektronenmikroskopie (PEEM) werden mit Licht (im UV- oder Röntgenbereich) Photoelektronen aus der Probe herausgelöst (Abbildung 2, S. 318). Eine Hochspannung beschleunigt die Photoelektronen in Richtung des Mikroskops, und anschließend werden sie über mehrere Elektronenlinsen auf einen Detektor geleitet, der den Probenausschnitt vergrößert abbildet. Da alle Photoelektronen gleichzeitig abgebildet werden, ist das PEEM keine Rastertechnik. Das Auflösungsvermögen eines PEEMs liegt in der Regel im Bereich von einigen 10 nm. Spezielle aberrationskorrigierte Modelle erreichen auch Auflösun-

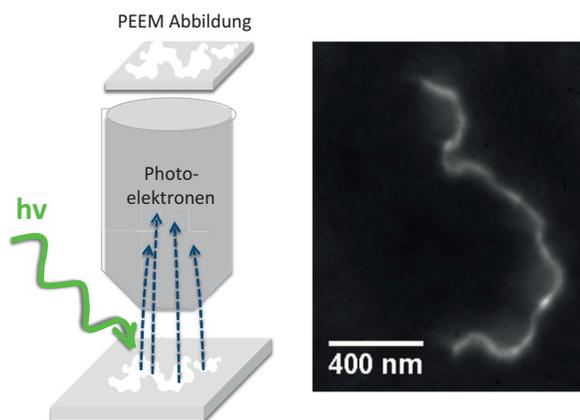


Abb. 2. Photoemissions-Elektronenmikroskopie (PEEM) beruht darauf, dass eine Elektronenoptik die Photoelektronen einer Probe auf einen Detektor abbildet (links). Hochaufgelöstes PEEM-Bild einer Kohlenstoffnanoröhre (rechts).

gen unter 10 nm.¹¹⁾ Abbildung 3 (S. 318) zeigt ein hochaufgelöstes PEEM-Bild einer Kohlenstoffnanoröhre bei Beleuchtung mit einer Hg-Lampe.¹²⁾ Bei dieser Auflösung (unter 40 nm) ist ein Intensitätskontrast entlang der Nanoröhre detektierbar, der ihre Topographie widerspiegelt.

Die Photoemissions-Elektronenmikroskopie bildet neben Nanoobjekten Hybridmaterialien ab. Bereits geringe Unterschiede in den elektronischen Strukturen der Materialien, insbesondere Austrittsarbeit und Zustandsdichte, resultieren in deutlichem Kontrast im PEEM-Bild, speziell bei Photonen-

energien nahe der Ionisationschwelle. Verfügt das PEEM über einen Energieanalysator, so kann zusätzlich die kinetische Energie der Photoelektronen analysiert werden. Dadurch erhält man prinzipiell für jeden Bildpunkt der PEEM-Abbildung ein Photoelektronenspektrum.

Bei der ultraschnellen Photoemissions-Elektronenmikroskopie ist das Gerät mit einem Femtosekunden-Pump-Probe-Aufbau kombiniert. Hierbei wird die Wellenlänge des Pump-Pulses so gewählt, dass die Probe elektronisch angeregt, aber noch nicht ionisiert wird. Der zeitlich verzögerte Probe-Puls hat ausreichend Photonenenergie, um Elektronen aus den angeregten Zuständen ins Vakuum zu heben, wo das PEEM die resultierenden Photoelektronen detektiert. Dieses Prinzip wird 2-Photonen-Photoemission (2PPE) genannt.^{13–15)} Auf diese Weise kann zusätzlich zur Nanostruktur der Materialien direkt die zugehörige ultraschnelle Dynamik lichtinduzierter Prozesse abgebildet werden (Abbildung 3).

Photoinduzierte Prozesse in Halbleitern

◆ Seit den ersten Proof-of-Principle-Experimenten¹⁶⁾ dient ultraschnelle PEEM zur Untersuchung

von Oberflächenplasmonen an Metallnanopartikeln und strukturierten Oberflächen.^{17–19)} Ultraschnelle PEEM macht diese Plasmonen und ihre Ausbreitung direkt sichtbar. In den letzten Jahren wurden zunehmend photoinduzierte Prozesse in organischen und anorganischen Halbleitern untersucht. Wall et al. zeigten mit ultraschneller PEEM, dass sich die Lebensdauer von Exzitonen in dünnen Pentacenfilmen und vereinzelt Pentaceneinseln (auf diesen Filmen) unterscheidet.²⁰⁾ Fukumoto et al. bildeten im Jahr 2014 die ultraschnelle laterale Bewegung von photogenerierten Ladungsträgern in einem GaAs-Halbleiter ab, an den ein elektrisches Feld angelegt war.²¹⁾

Unsere Gruppe hat im Herbst 2015 erste ultraschnelle PEEM an halbleitenden Polymerfilmen durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass ultraschnelle PEEM die Morphologie dieser Materialien abbildet und dass die Dynamik photoinduzierter Prozesse von der lokalen Morphologie abhängt. Dieses Potenzial der ultraschnellen PEEM wollen wir nutzen, um den Zusammenhang zwischen Materialmorphologie und (photo-)physikalischen Eigenschaften aufzuklären, der für die Weiterentwicklung dieser Materialien essenziell ist.

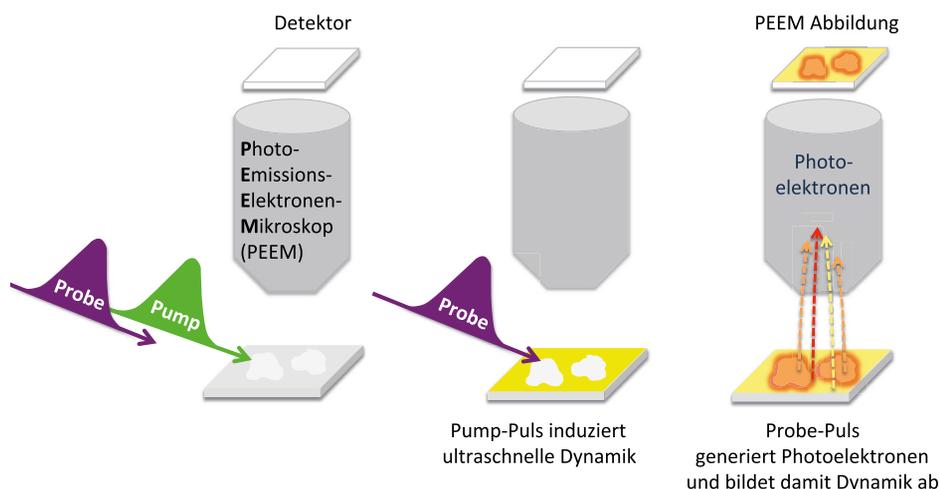


Abb. 3. Bei der ultraschnellen Photoemissions-Elektronenmikroskopie regt ein Pump-Puls die Probe optisch an. Zeitverzögert dazu photoionisiert der Probe-Puls das System und erzeugt dadurch ein Abbild der Probe. Durch Variation der zeitlichen Verzögerung zwischen Pump- und Probe-Puls lassen sich photoinduzierte Prozesse in einem Material direkt abbilden.

Literatur

- 1) E. Betzig, A. Lewis, A. Harootunian, M. Isaacson, E. Kratschmer, *Biophys. J.* 1986, 49, 269–279.
- 2) S. Kuehn, P. Pingel, M. Breusing et al., *Adv. Funct. Mater.* 2011, 21, 860.
- 3) J. Levy, V. Nikitin, J. M. Kikkawa, et al., *Phys. Rev. Lett.* 1996, 76, 1948.
- 4) T. Guenther, C. Lienau, T. Elsaesser et al., *Phys. Rev. Lett.* 2002, 89, 057401.
- 5) K. Karki, M. Nambodiri, T. Zeb Khan, A. Materny, *Appl. Phys. Lett.* 2012, 100, 153103.
- 6) D.-S. Yang, O. F. Mohammed, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010, 107, 14993.
- 7) E. Najafi, T.D. Scarborough, J. Tang, A. Zewail, *Science* 2015, 347, 164.
- 8) V. a Lobastov, R. Srinivasan, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005, 102, 7069.
- 9) B. Barwick, H.S. Park, O.-H. Kwon, J.S. Baskin, A.H. Zewail, *Science* 2008, 322, 1227.

10) A. Feist, K. E. Echternkamp, J. Schauss, S. V. Yalunin, S. Schäfer, C. Ropers, *Nature* 2015, 521, 200.
 11) R. Könenkamp, R. C. Word, G. F. Rempfer, T. Dixon, L. Almaraz, T. Jones, *Ultramicroscopy* 2010, 110, 899.
 12) A. Neff, O. Naumov, T.-J. Kühn et al. *Am. J. Nano Res. Appl.* 2014, 2, 27.
 13) R. T. Williams, T. R. Royt, J. C. Rife, J. P. Long, M. N. Kabler, *J. Vac. Sci. Technol.* 1982, 21, 509.
 14) X.-Y. Zhu, Q. Yang, M. Muntwiler, *Acc. Chem. Res.* 2009, 42, 1779.
 15) J. Stähler, J.-C. Deinert, D. Wegkamp, S. Hagen, M. Wolf, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, 137, 3520.
 16) O. Schmidt, M. Bauer, C. Wiemann et al. *Appl. Phys. B* 2002, 74, 223.
 17) A. Kubo, K. Onda, H. Petek, Z. Sun, Y. S. Jung, H. K. Kim, *Nano Lett.* 2005, 5, 1123.
 18) F.-J. Meyer zu Heringdorf, L. I. Chelaru, S. Möllenbeck, D. Thien, M. Horn-von Hoegen, *Surf. Sci.* 2007, 601, 4700.
 19) M. Bauer, C. Wiemann, J. Lange et al., *Appl. Phys. A* 2007, 88, 473.
 20) S. Wall, D. Thien, F.-J. Meyer zu Heringdorf, *J. Electron Spectros. Relat. Phenomena* 2012, 185, 436.
 21) K. Fukumoto, Y. Yamada, K. Onda, S.Y. Koshihara, *Appl. Phys. Lett.* 2014, 104, 053117.

Andreas Neff, Jahrgang 1988, ist seit 2013 mit einem Stipendium der Beilstein-Stiftung Doktorand in der Gruppe von Katrin Siefertmann am Leibniz-Institut für Oberflächenmodifizierung (IOM) in Leipzig. Er hat in Göttingen Physik studiert und erlangte 2013 den Abschluss Master of Science. Seine Forschungsinteressen liegen auf dem Gebiet der zeitaufgelösten Abbildung ultraschneller Prozesse in Materialien für neuartige Photovoltaiksysteme.



Katrin R. Siefertmann, Jahrgang 1982, leitet seit September 2012 eine Forschungsgruppe am Leibniz-Institut für Oberflächenmodifizierung (IOM) in Leipzig. Sie studierte am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) und promovierte im Jahr 2010 an der Universität Göttingen bei Bernd Abel. Anschließend forschte sie zwei Jahre in den Gruppen von Daniel Neumark und Oliver Gessner am Lawrence Berkeley National Laboratory (LBNL) in den USA. Ihre Gruppe am IOM entwickelt und nutzt experimentelle Techniken der ultraschnellen Spektroskopie, um die Wechselwirkung von Licht mit funktionalen Materialien aufzuklären.
 katrin.siefertmann@iom-leipzig.de



Kontrollierte Moleküle für Beobachtungen von Struktur und Dynamik

◆ Struktur definiert Funktion. Wirklich? Haben Moleküle überhaupt eine wohldefinierte Struktur? Ist es die geometrische Anordnung, ausgedrückt in einer Lewis-Formel? Oder ist es die Elektronendichteverteilung, die widerspiegelt, dass die Elektronen Bindungen formen und die Chemie definieren? Nach unserer Auffassung muss man weiter gehen: Die Definition von Struktur und Molekül hängt von der spezifischen wissenschaftlichen Fragestellung ab und genau genommen davon, was wir unter Molekül und Struktur verstehen.

Wir definieren ein Molekül durch seine Wechselwirkungen, zum Beispiel mit elektromagnetischen Feldern.¹⁾ Nach dieser Definition sind Strukturisomere und Enantiomere eines Moleküls sowie selbst ortho- und para-Wasserstoff, verschiedene Spezies, da sie unterschiedliche elektromagnetische Wechselwirkungen eingehen. Den Zusammenhang von Struktur und Funktion experimentell zu untersuchen, erfordert entsprechend definierte molekulare Proben.

Experimenteller Ansatz

◆ Mit starken inhomogenen elektrischen Feldern können wir heute Moleküle in der Gasphase nach Form, Spezies und sogar einzeltem Quantenzustand separieren und diese kontrollierten Proben individuell untersuchen und manipulieren. Diese detaillierte Kontrolle über Moleküle und Zustände ist dann vorteilhaft und oft unausweichlich, wenn die Experimente selbst nicht zustandsspezifisch sind, zum Beispiel bildgebende Verfahren für Moleküldynamiken, molecular movies, mit ultraschneller (Femtosekunden) und atomarer räumlicher Auflösung.

Röntgen- und Elektronenbeugung, die Technik der Erzeugung

von hohen Harmonischen (high-harmonic generation, HHG) oder Photoelektronenabbildungen im molekularen Koordinatensystem (molecular-frame photoelectron imaging, MFPAD) sind nicht speziesspezifisch, sondern mitteln über alle vorhandenen Spezies im Probenvolumen. Diese erfordern daher die Vorbereitung reiner und kontrollierter Moleküle. Diese selektierten Moleküle erlauben gezielte quantenmechanische Manipulationen mittels elektrischer Felder, zum Beispiel ihre Ausrichtung und Orientierung.

In unseren Experimenten werden Moleküle in Überschallstrahlen auf zirka 1 K abgekühlt. Dann können sie aufgrund der Wechselwirkung mit starken inhomogenen elektrischen Feldern kontrolliert und separiert werden.¹⁾ Da das effektive Moleküldipolmoment quantenzustandsspezifisch ist,²⁾ dispergiert diese Wechselwirkung den Molekülstrahl und separiert die Moleküle analog einem Prisma räumlich nach ihrem Quantenzustand. Die separierten Proben lassen sich spektroskopisch charakterisieren und stehen für weitere Experimente zur Verfügung, zum Beispiel für Reaktionskinetik³⁾ oder Röntgenbeugungsexperimente.^{4,5)}

Einzelne Quantenzustände

◆ Die Separationsmethode ist empfindlich genug, um quantenzustandsreine Proben kleiner Moleküle, zum Beispiel Wasser oder Carbonylsulfid (OCS), zu erzeugen.

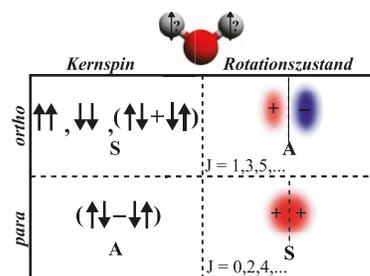


Abb. 1. Kombinationen von Kernspin- und Rotationszuständen im Wassermolekül.

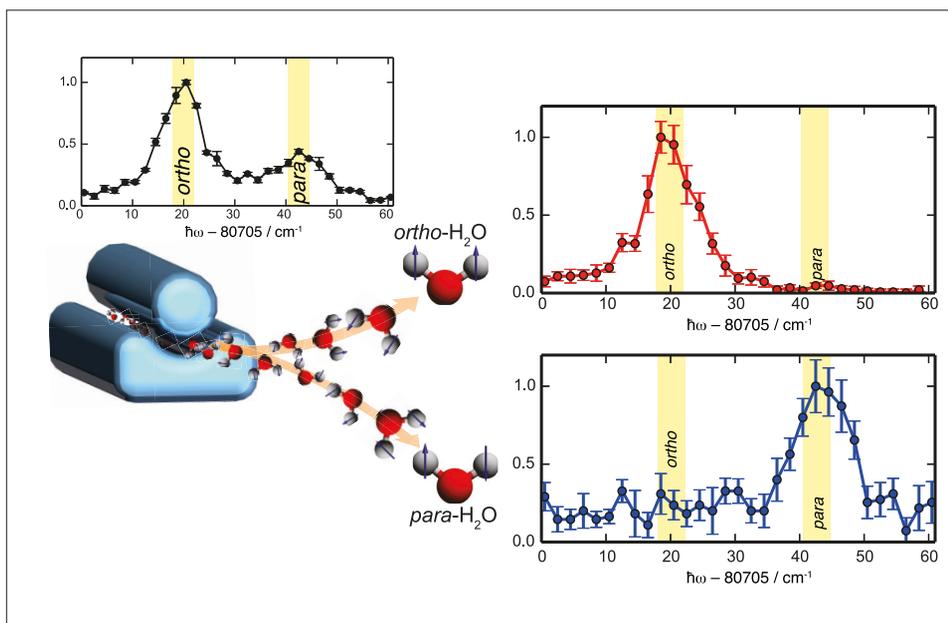


Abb. 2. Separation von ortho- und para-Wasser mit einem elektrostatischen Deflektor. Die Separation einzelner Quantenzustände ist spektroskopisch nachweisbar.

gen. So ist es kürzlich gelungen, die Kernspinisomere des Wassers, ortho- und para-Wasser, in der Gasphase zu trennen.⁶⁾ Die Kernspinisomere sind hier als unterschiedliche, sich nicht ineinander umwandelnde Spezies zu betrachten. Sie leiten sich aus der Nichtunterscheidbarkeit der identischen Wasserstoffkerne im Wasser ab, die jeweils einen Kernspin von $+1/2$ (up) oder $-1/2$ (down) besitzen. Im Wassermolekül sind diese nun symmetrisch (ortho, $I=1$) oder anti-symmetrisch (para, $I=0$) kombiniert (Abbildung 1, S. 319).

Unter den experimentellen Voraussetzungen im kalten Molekülstrahl befinden sich alle Moleküle im Schwingungsgrundzustand. Da die Gesamtwellenfunktion des Moleküls nach dem Pauli-Prinzip bezogen auf die Vertauschung der beiden Protonen (Fermionen) antisymmetrisch sein muss, kombinieren die Kernspinisomere mit unterschiedlichen Rotationszuständen. So hat para-Wasser einen Rotations-Grundzustand von $J_{KaKc} = 0_{00}$ und ortho-Wasser $J_{KaKc} = 1_{01}$. Es ist diese Kopplung der Rotationszustände mit den Kernspinzuständen, die das Separieren der

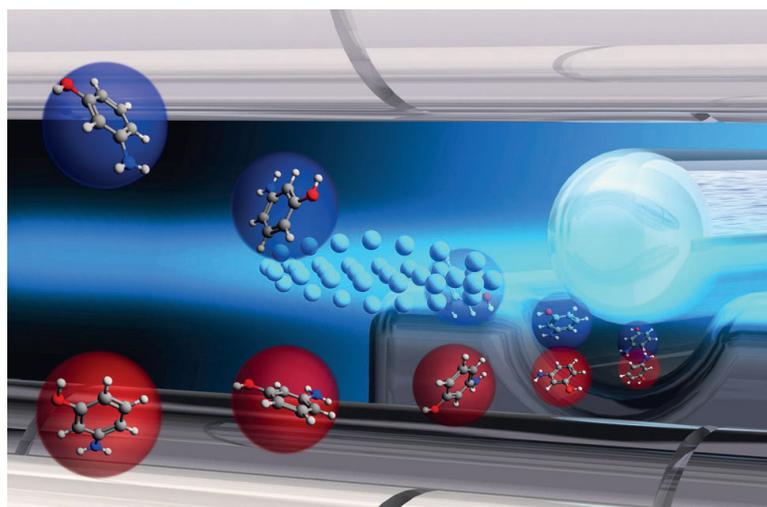


Abb. 3. Kollisionsexperimente von konformerselektierten Molekülen mit lasergekühlten Calciumionen.

Bild: Yuan-Pin Chang, CFEL/Desy

Kernspinisomere im elektrischen Feld ermöglicht (Abbildung 2). Wir erzielen eine spektroskopische Reinheit von 97% bei ortho-Proben und 74% bei para-Proben. Diese Proben erlauben eine ganze Reihe neuartiger Experimente: zur ortho-para-Umwandlung, zur Astrochemie des Wassers oder zu hyperpolarisierten Proben, die den Kontrast von NMR-Messungen steigern.

Trennung von Strukturisomeren

◆ Die an kleinen Molekülen demonstrierte Methodik eignet sich auch für größere Moleküle. Allerdings ist es hier nicht mehr möglich, einzelne Quantenzustände zu separieren, da die Zustandsdichte sehr hoch ist und sich einzelne Zustände zu ähnlich sind. Trotzdem lassen sich Spezies mit verschiedenen Dipolmomenten voneinander trennen, so zum Beispiel Rotationsisomere⁷⁾ (Konformere) oder Molekülcluster.⁸⁾ Wir haben so die *cis-trans*-Konformere *meta*-substituierter Phenole in der Gasphase voneinander getrennt.^{3,7,9)} Diese reinen Proben erlauben es, die Funktionen einzelner Konformere zu untersuchen und damit den Zusammenhang zwischen molekularer Struktur und Funktion zu erforschen.

Erste Experimente mit konformerseparierten Molekülstrahlen erlaubten die Bestimmung der individuellen Reaktionsraten von *cis*- und *trans*-3-Aminophenol mit Calciumionen.³⁾ In diesen Untersuchungen stießen zustandsselektierte Moleküle auf lasergekühlte Ionen in einem Coulomb-Kristall.¹⁰⁾ Die Reaktionsrate ergibt sich aus der zeitlichen Abnahme der Calciumionen in der Falle (Abbildung 3). Daraus ergab sich, dass *cis*-3-Aminophenol mehr als doppelt so schnell mit Ca^+ -Ionen reagiert wie das *trans*-Konformer. Weiterhin erlauben die kontrollierten Moleküle neuartige Experimente zur Untersuchung ihrer ultraschnellen Dynamik.^{4,5)}

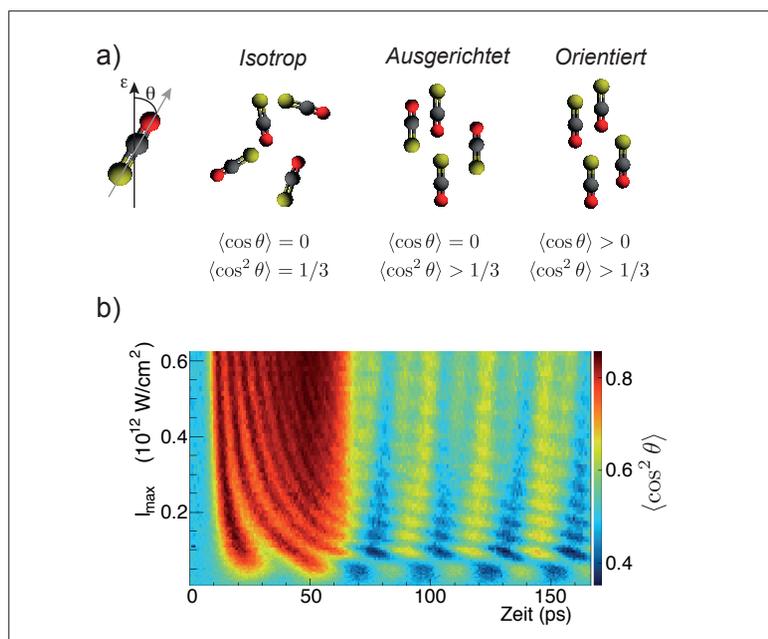


Abb. 4. a) Ausrichtung und Orientierung von Molekülen, quantifiziert durch die Erwartungswerte von $\cos^2\theta$ und $\cos\theta$. b) Ausrichtung von OCS im Laserfeld. Der Laserpuls ist zwischen 10 und 60 ps zugegen. Die Anregung von Pendelzuständen erzeugt ein quantenmechanisches Pendel, das zu charakteristischen Oszillationen in der molekularen Ausrichtung während des Laserpulses führt. Nach dem Laserpuls (>60 ps) ist eine komplexe feldfreie Ausrichtungsdynamik zu sehen.

Ausrichtung und Orientierung von Molekülen

◆ Auch wenn der elektrostatische Deflektor Proben großer Moleküle nicht in einzelne Rotationszustände separieren kann, so erlaubt er doch die Dispersion des Ensembles aller besetzten Rotationszustände. Dadurch stellt er vielen anderen Experimenten Proben dieser Moleküle bereit, die kälter sind, als sie herkömmliche Überschallmolekularstrahlen erzeugen können.¹⁾ Diese kalten Moleküle sind vorteilhaft, wenn es darum geht, zum Beispiel ihre Ausrichtung und Orientierung in starken elektrischen und Laserfeldern zu kontrollieren. In solchen Experimenten wechselwirkt ein starker Laserpuls mit der Polarisierbarkeitsanisotropie des Moleküls und richtet es so im Raum aus (Abbildung 4a). Da das elektrische Wechselfeld eines Laserpulses diese Ausrichtung bewirkt, gibt es keine bevorzugte Orientierung des Dipolmoments im Feld, und Moleküle richten sich gleichzeitig parallel und antiparallel dazu aus. Anlegen eines weiteren, statischen

elektrischen Felds bricht diese Symmetrie, und ein dreidimensional orientiertes Ensemble an Molekülen entsteht.

In weiteren Experimenten entfällt die sonst typische Mittelung über alle Orientierungen, und man erhält Daten im Koordinatensystem des Moleküls. Diese erlauben direkte Einblicke in die nukleare und elektronische Struktur und deren zeitliche Entwicklung.^{1,11)} Diese Methode ist vielseitig anwendbar und wurde bereits für eine Reihe großer Moleküle demonstriert,^{12–14)} zum Beispiel Iodbenzol, 2,5-Dibromthiophen oder 6-Chloropyridazin-3-carbonitril.

Dynamik einzelner Quantenzustände

◆ Um detailliertes Verständnis der adiabatischen und nichtadiabatischen Dynamiken während der Ausrichtung und Orientierung von Molekülen zu entwickeln, nutzen wir die kontrollierten und quantenzustandselektierten Proben kleiner Moleküle. Unter anderem haben wir OCS im Rotationsgrundzustand ($J = 0$) mit einem

50-ps-Laserpuls ausgerichtet, der damit kürzer als eine Rotationsperiode des Moleküls im Grundzustand ist ($\tau_{\text{rot}} = 82$ ps). Dies führt zu einer nichtadiabatischen Ausrichtung im Laborkoordinatensystem.¹⁵⁾

Der Laserpuls regt ein Wellenpaket von Pendelzuständen an, dem Quantenäquivalent eines klassischen Pendels. Die Fortpflanzung dieses Wellenpakets spiegelt sich als Oszillationen in der zeitaufgelösten Messung der molekularen Ausrichtung wider (Abbildung 4b). Beimischung eines statischen elektrischen Feldes erzeugt nun auch eine Orientierung, also eine Vorzugsrichtung des Dipolmoments der Moleküle im Raum. Hier eignen sich selbst Laserpulse mit 500 ps Pulsdauer, um Zustände unterschiedlicher Parität zu mischen. Das so produzierte Wellenpaket resultiert in einer starken Orientierung, nachdem der Laserpuls bereits vorüber ist. Der hier erzielte Grad der Orientierung im feldfreien Raum von $\langle \cos\theta \rangle = 0,6$ ist deutlich höher, als es bisher eine Technik mit kurzen Terahertz-Pulsen erreichte.¹⁶⁾

Durch die Kombination quantenzustandsselektierter Moleküle mit der Messung nichtadiabatischer Dynamiken von Ausrichtung und Orientierung ist die Besetzung einzelner J, M -Zustände an unterschiedlichen Stellen des Molekularstrahls direkt bestimmbar. Hierbei wird der Wert des Gesamtdrehimpuls J durch die Messung der zeitlichen Entwicklung der molekularen Ausrichtung und somit der Schwebungsfrequenzen ermittelt. Der Betrag der Quantenzahl M , also die Projektion des Drehimpuls auf die Feldachse, ist über die Winkelverteilung der Wahrscheinlichkeitsdichte für isolierte Rotationszustände J bestimmbar, ohne dass ein Laserpuls die Moleküle vorher ausrichten muss. Somit lassen sich die besetzten Quantenzustände im Molekülstrahl vollständig experimentell charakterisieren. →

Neugierig?



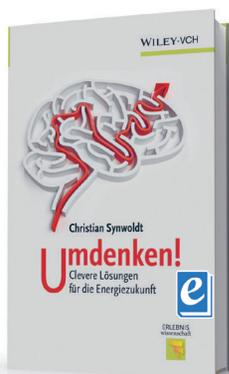
Jetzt auch als E-Books unter:
www.wiley-vch.de/ebooks

CHRISTIAN SYNWOLDT

Umdenken

Clevere Lösungen
für die Energiezukunft

ISBN: 978-3-527-33392-9
 September 2013 250 S. mit 58 Abb.
 Gebunden € 24,90



Natürliche Ressourcen für die Energiegewinnung werden knapp – wir wissen das. Doch was tun? Sind neue Technologien und Energieeffizienz der Königsweg zu einer nachhaltigen Energieversorgung? Können Kohlekraftwerke der nächsten Generation klimaneutral arbeiten? Ist Photovoltaik der Heilige Gral der Stromerzeugung? Oft gibt es auf diese Fragen nur einseitige, interessengeleitete Antworten.

Christian Synwoldt zeigt in seinem Buch Hintergründe und Details, die in der Diskussion um eine nachhaltige Energieversorgung regelmäßig unter den Tisch fallen und stellt dabei bequeme Standpunkte in Frage.

www.wiley-vch.de/sachbuch

Wiley-VCH • Tel. +49 (0) 62 01-606-400
 Fax +49 (0) 62 01-606-184
 E-Mail: service@wiley-vch.de

WILEY-VCH

Irrtum und Preisänderungen vorbehalten. Stand der Daten: August 2013

Kontrollierte Moleküle

◆ Mit starken inhomogenen elektrischen Feldern lassen sich Bewegung und Orientierung von Molekülen durch ihren Rotationszustand oder ihr Dipolmoment kontrollieren. Das funktioniert selbst für große Moleküle und biochemisch relevante Systeme. Mit zustandsselektierten Proben komplexer Moleküle lässt sich ihre molekulare Funktionalität individuell untersuchen. Die Zusammenhänge zwischen Struktur, Dynamik und Funktion werden so sichtbar. Ein detailliertes Verständnis dieser Zusammenhänge gibt nicht nur Einblicke in chemische Systeme, sondern trägt auch zum funktionsbasierten Design neuer Moleküle und Komplexe bei.

Mit der Kombination bildgebender Verfahren mit atomarer und hoher zeitlicher Auflösung, zum Beispiel mit Freie-Elektronen-Lasern sind chemische Reaktionen – also das Brechen und Formen einzelner chemischer Bindungen – direkt zu beobachten.

Literatur

- 1) Y.-P. Chang, D. A. Horke, S. Trippel, J. Küpper, *Int. Rev. Phys. Chem.* 2015, 34, 557.
- 2) J. Küpper, G. Meijer, *Nachr. Chem.* 2008, 56, 305.
- 3) Y.-P. Chang, K. Długolecki, J. Küpper, D. Rösch, D. Wild, S. Willitsch, *Science*, 2013, 342, 98.
- 4) J. Küpper, S. Stern, L. Holmegaard et al. *Phys. Rev. Lett.* 2014, 112, 083002.
- 5) J. H. Ullrich, B. Feuerstein, W. Wurth, *Nachr. Chem.* 2008, 56, 311.
- 6) D. A. Horke, Y.-P. Chang, K. Długolecki, J. Küpper, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 11965.
- 7) F. Filsinger, U. Erlekm, G. von Helden, J. Küpper, G. Meijer, *Phys. Rev. Lett.* 2008, 100, 133003.
- 8) S. Trippel, Y.-P. Chang, S. Stern, T. Mullins, L. Holmegaard, J. Küpper, *Phys. Rev. A.*, 2012, 86, 033202.
- 9) T. Kierspel, D. A. Horke, Y.-P. Chang, J. Küpper, *Chem. Phys. Lett.* 2014, 591, 130.
- 10) S. Willitsch, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 2012, 31, 175.
- 11) L. Holmegaard, J. L. Hansen, L. Kalhøj et al., *Nature Physics* 2010, 6, 428.

- 12) T. Kierspel, J. Wiese, T. Mullins et al., *J. Phys. B* 2015, 48, 204002.
- 13) S. Trippel, T. G. Mullins, N. L. Müller, J. S. Kienitz, K. Długolecki, J. Küpper, *Mol. Phys.* 2013, 111, 1738.
- 14) J. L. Hansen, J. J. Omiste, J. H. Nielsen et al., *J. Chem. Phys.* 2013, 139, 234313.
- 15) S. Trippel, T. Mullins, N. L. Müller et al. *Phys. Rev. A.* 2014, 89, 051401.
- 16) S. Trippel, T. Mullins, N. L. Müller, J. S. Kienitz, R. González-Férez, J. Küpper, *Phys. Rev. Lett.* 2015, 114, 103003.

Daniel Horke, Jahrgang

1987, studierte Physik und Chemie an der Universität von Durham, Großbritannien. Hier promovierte er bei Jan Verlet und kam im Jahr 2013 als Postdoc an das Center for Free-Electron-Laser Science nach Hamburg. Seit dem Jahr 2014 ist er Teamleiter und beschäftigt sich mit der Kontrolle und Röntgenbeugung von isolierten großen Molekülen und Nanoteilchen in der Gasphase.



Sebastian Trippel studierte

Physik an der Universität Freiburg und wurde dort promoviert über Ion-Molekül-Reaktionen promoviert. Er kam im Jahr 2010 als Postdoc an das Center for Free-Electron-Laser Science nach Hamburg und ist dort seit 2014 Teamleiter. Er beschäftigt sich mit der Untersuchung und Kontrolle von interner Moleküldynamik, darunter von Isomerisierungsreaktionen kleiner Moleküle in der Gasphase.



Jochen Küpper ist Gruppen-

leiter am Center for Free-Electron-Laser Science, DESY, Hamburg und Professor an der Universität Hamburg. Er studierte Chemie an der Universität Düsseldorf und wurde dort promoviert. An der University of North Carolina in Chapel Hill, USA, arbeitete er an der Erzeugung von Raketentreibstoffen in superflüssigen Heliumtröpfchen. Anschließend entwickelte er am FOM-Institut für Plasmaphysik Rijnhuizen in den Niederlanden und als Forschungsgruppenleiter am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft Methoden, um die Bewegung großer Moleküle zu manipulieren. Im Jahr 2009 wurde er an der Freien Universität Berlin habilitiert. Seit 2010 in Hamburg hat er die Kontrolltechniken um Ausrichtung und Orientierung der Moleküle erweitert und verwendet diese kontrollierten Proben, um zeitlich und räumlich hochaufgelöste bildgebende Verfahren zu implementieren. Küpper erhielt unter anderem den Nernst-Haber-Bodensteinpreis der Bunsen-Gesellschaft und einen Consolidator Grand des Europäischen Forschungsrats. www.controlled-molecule-imaging.org

