

# Kapitel 1

## Einleitung

In der vorliegenden Arbeit sind Ergebnisse zur photoinduzierten Dynamik der isolierten Biochromophore Pyrrol, Indol und Adenin sowie der komplexen Systeme Indol-Ammoniak, Indol-Wasser, Adenin-Wasser und (Adenin)<sub>2</sub> dokumentiert. Die Thematik ist im Wesentlichen im Bereich der Femtosekundenspektroskopie angesiedelt, beinhaltet aber auch Aspekte aus den Gebieten der Clusterforschung, der Biomolekülphysik sowie der Quantenchemie.

Das Studium *biologisch relevanter Moleküle in der Gasphase* unter definierten Bedingungen hat sich während der letzten Jahre als stetig wachsendes Forschungsgebiet etabliert [epjd02, pccp04]. Neben makromolekularen Verbindungen wie Proteinen oder Nukleinsäuren, kommt dabei v.a. auch deren strukturellen Untereinheiten wie den Aminosäuren bzw. Purin- und Pyrimidinbasen eine wesentliche Bedeutung zu. Durch vielfältige spektroskopische Untersuchungsmethoden wird mit Hilfe dieser „Bausteine des Lebens“ versucht, fundamentale Fragestellungen bezüglich biologischer Struktur, Selektivität, Reaktivität oder Photostabilität auf molekularer Ebene zu behandeln [WSV02]. Untersuchungen in der biologisch wichtigen kondensierten Phase sind in der Regel durch eine Vielzahl thermisch populierter Anfangszustände gekennzeichnet, und es ist schwer, Aussagen darüber zu treffen, ob spezielle Eigenschaften intrinsisch intramolekularer Natur sind oder aus lokalen Wechselwirkungen mit der Umgebung (dem Solvens) resultieren. In der Gasphase ist es demgegenüber möglich, die Komplexität der Biostrukturen bis auf eine relativ geringe Anzahl an Freiheitsgraden einzuschränken und mittels der Molekularstrahltechnik [Lev81, Sco88] gut definierte Anfangsbedingungen herzustellen. Dadurch kann man sich z.B. mit Hilfe kleiner Modellsysteme gezielt auf die Eigenschaften bestimmter funktioneller Gruppen konzentrieren. Zudem lässt sich das Experiment direkt mit hochentwickelten quantenchemischen *ab initio*- oder DFT-Rechnungen [Jen99] vergleichen, die per Definition in der „Gasphase“ operieren und aufgrund der derzeit gegebenen computertechnischen Möglichkeiten

auf verhältnismäßig einfache Systeme beschränkt sind. Derartig aufwendige Methoden sind unumgänglich, wenn beispielsweise – wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit – die Photoreaktivität (und damit Photostabilität) biologisch relevanter Chromophore untersucht werden soll.

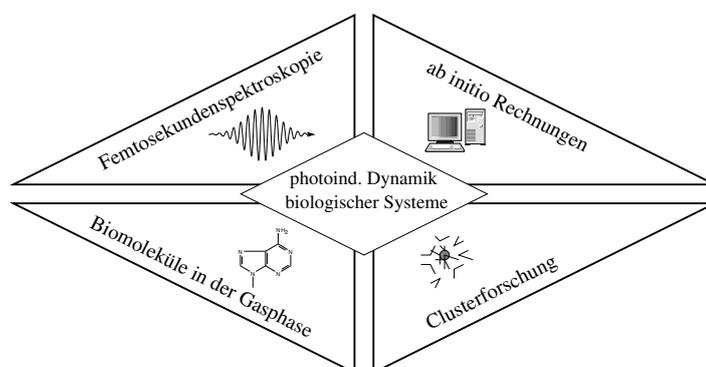
Photochemische Prozesse in biologischen Systemen verlaufen wie alle chemischen Reaktionen auf der Zeitskala molekularer Schwingungen im Bereich von wenigen Femtosekunden ( $1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$ ) bis hin zu mehreren Pikosekunden ( $1 \text{ ps} = 10^{-12} \text{ s}$ ). In vielen Fällen sind die atomaren Bewegungen mit ultraschnellen elektronischen Relaxationsprozessen in den jeweiligen lichtabsorbierenden Untereinheiten – den so genannten Biochromophoren – verknüpft. Beispiele hierfür sind die internen Konversionsprozesse beim Sehvorgang [SPM91, MSF04] oder bei der Photosynthese [CPL02]. Das Verfolgen derartiger Vorgänge in Echtzeit ist durch die Entwicklung modengekoppelter Laser möglich geworden, die Lichtimpulse mit Femtosekundendauer emittieren [Sha86]. Derzeit verfügbare Ti:Saphir-Lasern erreichen Impulslängen von 200 fs bis unter 10 fs [AHG93, SSK97]. Auf solchen Lichtquellen basierend existiert mittlerweile eine Vielzahl zeitaufgelöster Methoden, die das Studium molekularer Dynamik in der Gasphase erlauben und der *Femtosekundenspektroskopie* bzw. *Femtochemie* zuzuordnen sind [Zew94, MHy04, cr04]. Die ersten bahnbrechenden Arbeiten aus diesem Bereich stammen von A. H. Zewail, der hierfür 1999 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet wurde [Zew00].

Den entsprechenden Experimenten liegt gewöhnlich eine optische Pump-Probe-Konfiguration zugrunde, bei der ein erster Laserimpuls („Pump“) einen nichtstationären Zustand anregt, dessen Evolution mit einem zeitlich verzögerten zweiten Laserimpuls („Probe“) abgefragt wird. Zur Abfrage wird das System in einen nachweisbaren Endzustand überführt, wobei in der Gasphase als Detektionsschema zumeist laserinduzierte Fluoreszenz (siehe z.B. [RDZ88, DRZ88]) oder wie in der vorliegenden Arbeit Ionisation mit Ionen- und/oder Photoelektronenregistrierung (siehe z.B. [WGr83, BHZ93, RFR95, CHa96]) zum Einsatz kommen. Die Effizienz des Probeüberganges hängt von der momentanen bzw. transienten Elektronenverteilung und Kernanordnung des durch den Pumpimpuls angeregten nichtstationären Zustands ab. Aus der Intensität des Pump-Probe-Signals lassen sich daher Aussagen über die Population definierter Punkte auf bestimmten adiabatischen Potentialflächen ableiten. Für Gasphasenexperimente mit polyatomaren Biomolekülen, deren Photoreaktivität stark von nichtadiabatischen Kopplungen bestimmt wird, ist das molekulare Ionisationskontinuum als Endzustand besonders geeignet, da die entsprechenden Übergangsmatrixelemente sowohl für vibratorische als auch für elektronische Konfigurationsänderungen sensitiv sind und zudem nur relativ schwachen Auswahlregeln unterliegen [BLS00]. Wird das gemessene Signal (Ionen- bzw. Elektronenrate) gegen die zeitliche Verzögerung  $\tau$  zwischen Pump- und

Probe-Impuls aufgetragen, so erhält man eine Transiente, aus der sich die interessierende Dynamik ablesen lässt. Für eine aussagekräftige Interpretation derselben sind oft quantenchemische und quantendynamische Rechnungen vonnöten [DSt97].

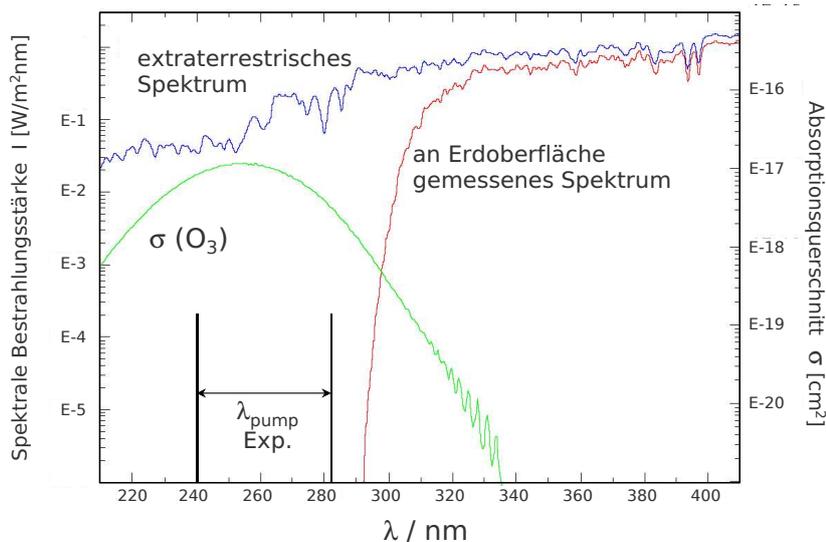
Ergebnisse, die für kleine isolierte Biomoleküle erhalten werden, sind im Hinblick auf die in der Natur anzutreffenden Verhältnissen nur bedingt relevant. Für einen näheren Einblick müssen nicht-kovalente Wasserstoffbrückenbindungen mit Solvens- und anderen Biomolekülen berücksichtigt werden. Als ideale Methode bieten sich hierfür *Clusterstudien in Molekularstrahlen* [Hab94] an, die quasi als verbrückendes Glied beim Übergang von Experimenten in der Gas- zu solchen in der kondensierten Phase fungieren [Mil01]. Sie ermöglichen es unter anderem, Mikrosolvatationseffekte, d.h. die Abhängigkeit verschiedener biomolekularer Eigenschaften von der Zahl der angelagerten Solvensmoleküle und den dabei wirksamen Bindungstypen, aufzuschlüsseln. Durch Anlagern von Solvensmolekülen an eine molekulare Spezies kann sich sowohl die Struktur (siehe z.B. [CDF01]) als auch die photoinduzierte Dynamik (siehe [DZC04] und Referenzen darin) entscheidend ändern. Dabei ist die in der kondensierten Phase nicht mögliche Untersuchung kleiner Molekül-Solvens-Komplexe für biologische Systeme von besonderem Interesse. Der Grund hierfür liegt darin, dass beispielsweise das Innere eines kompakten Proteins nur zu einem geringen Anteil von Wasser penetriert wird und gewöhnlich mit einer statischen Permittivitätszahl von 2 – 4 (vergleiche Wasser:  $\epsilon_{stat} \approx 80$ ) angenommen wird [DGK00]. Ein großer Anteil der Proteinseitenketten ist dem Solvens nicht vollständig zugänglich, und die Annahme, dass eine derartige Situation in kleinen Clustern nachgeahmt werden kann, ist berechtigt.

Abbildung 1.1 veranschaulicht schematisch den Zusammenhang zwischen den bisher erläuterten Forschungszweigen. Er manifestiert sich exemplarisch in Arbeiten zum nichtradiativen Zerfallsmechanismus der aromatischer Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan [Cal97] sowie der Nukleinbasen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin [CCH04]. All diese Biomoleküle zeigen nach Anregung der im nahen ultravioletten (UV-) Spek-



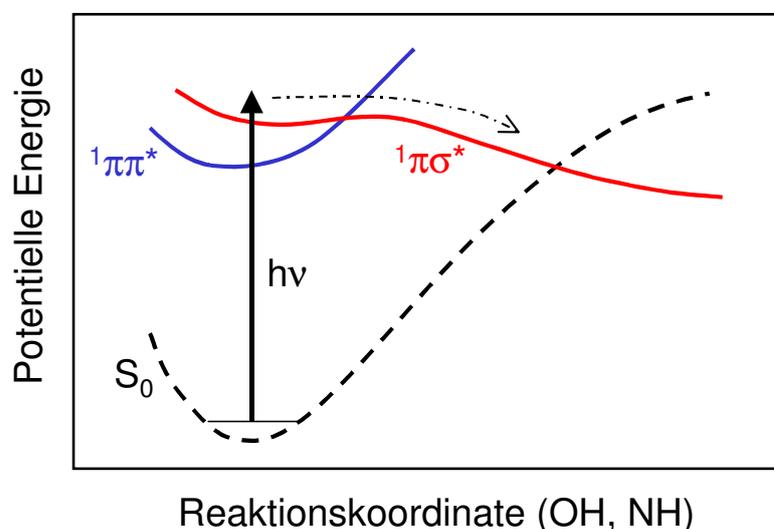
**Abbildung 1.1:** Themengebiete der vorliegenden Arbeit.

tralbereich (200 – 320 nm) stark absorbierenden Singulett- $\pi\pi^*$ -Zustände nur eine geringe Fluoreszenz-Quantenausbeute [NKG01, Cre84]. Dieser Befund wird auf einen ultraschnellen Relaxationskanal zurückgeführt, der mit einer internen Konversion sowie der Bildung solvatisierter Elektronen in wässriger Lösung [RIL00, PHP99] gekoppelt ist. Es könnte hier ein Grund dafür liegen, warum die oben genannten Verbindungen im Verlauf der chemischen Evolution als molekulare „Bausteine des Lebens“ selektiert wurden. Im archaischen Zeitalter (vor  $3.8 - 2.5 \cdot 10^9$  Jahren) besaß die Erde noch keine schützende Ozonschicht, welche, wie Abbildung 1.2 zeigt, effektiv die für biologisches Gewebe schädliche UVC- (200 – 280 nm) und UVB- (280 – 315 nm) Strahlung aus dem Sonnenlicht herausfiltert [CHo01, MMo86]. Damit sich biologische Makromoleküle formieren konnten, mussten die zugehörigen monomeren Einheiten in der Lage sein, die hohe Energie derartiger Photonen rasch zu dissipieren, bevor kritische chemische Umwandlungen stattfinden konnten. Möglicherweise basiert diese *Photostabilität* auf dem oben angedeuteten Zerfallsmechanismus [SDD02].



**Abbildung 1.2:** Extraterrestrische und terrestrische solare Bestrahlungsstärke sowie Absorptionsquerschnitt von Ozon (nach [CHo01, MMo86]). Im unteren Teil der Graphik ist der Bereich der in dieser Arbeit verwendeten Pumpwellenlängen  $\lambda_{pump}$  markiert.

Eine allgemein anerkannte Erklärung für den nichtstrahlenden Relaxationsprozess war bis vor wenigen Jahren die vibronische Kopplung mit anderen  $\pi\pi^*$ - bzw.  $n\pi^*$ -Zuständen [Cal97, Bro98]. In neueren *ab initio*-Studien von Domcke und Sobolewski [SDo00b, SDD02, SDo02c] wird demgegenüber die Bedeutung repulsiver, optisch verbotener  $^1\pi\sigma^*$ -Zustände mit Rydberg-Charakter hervorgehoben. Sie kreuzen häufig – wie in Abbildung 1.3 skizziert ist – sowohl einen optisch zugänglichen  $^1\pi\pi^*$ - als auch den  $S_0$ -Zustand gemäß einer konischen Durchschneidung [Yar96]. Durch nichtadiaba-



**Abbildung 1.3:** Schematische Darstellung der Kreuzung des repulsiven  $1\pi\sigma^*$ -Zustands mit dem  $1\pi\pi^*$ - und dem elektronischen Grundzustand (nach [SDo00b]).

tische Kopplung wird hierdurch ein schneller Zerfall des primär angeregten Zustands entlang der Reaktionskoordinate möglich (siehe gestrichelten Pfeil in Abb. 1.3). Für die erwähnten Aminosäuren und Nukleinbasen ist letztere an der Amino- ( $\text{NH}_2$ ), der Azin- ( $\text{NH}$ ) bzw. der Enolgruppe ( $\text{OH}$ ) des jeweiligen Aromaten lokalisiert. Der Zerfallsmechanismus sollte für die isolierten Chromophore mit einer H-Atom-Elimination bzw. der internen Konversion zurück zum Grundzustand einhergehen, während für solvatisierte Spezies ein H-Atom-Transfer vom Chromophor zum Solvens erwartet wird [SDD02]. Es ist möglich, dass derartige Prozesse bei allen aromatischen Molekülen auftreten, in deren funktionellen Gruppen elektropositiver Wasserstoff an elektronegativen Stickstoff bzw. Sauerstoff gebunden ist.

Hauptmotivation für die in der vorliegenden Arbeit präsentierten Experimente war es, die Existenz des  $1\pi\sigma^*$ -Zerfallkanals erstmals durch Femtosekundspektroskopie in der Gasphase nachzuweisen und die mit ihm verbundenen dynamischen Prozesse in Echtzeit zu charakterisieren. Als prototypische Untersuchungsobjekte wurden hierzu die Biochromophore Pyrrol, Indol und Adenin [McM96, FRe99] ausgewählt:

- Der Stickstoff-Heterozyklus *Pyrrol* spielt eine wichtige Rolle als Baustein biochemisch relevanter Pyrrol-Farbstoffe wie Hämoglobin, Vitamin  $\text{B}_{12}$  oder Chlorophyll. Anders als in Abbildung 1.3 wird hier der unterste angeregte Singulett-Zustand dem Rydberg-artigen  $\pi\sigma^*$ -Zustand zugeordnet, dessen Anregung aus dem Grundzustand über Herzberg-Teller-Kopplung direkt möglich ist [RMM02]. Gemäß den theoretischen Vorhersagen wird für die Photochemie des isolierten Moleküls eine ultraschnelle Wellenpaketsbewegung entlang der N–H-Koordinate

erwartet, die unter anderem zur Abspaltung neutraler H-Atomen führen sollte [SDo00b].

- *Indol* repräsentiert die chromophore Einheit der Aminosäure Tryptophan sowie verschiedener Alkaloide (Tryptamin, Meskalin) und Neurotransmitter (Serotonin). Obwohl es strukturell eng mit dem Pyrrol verwandt ist, ist die Abfolge der elektronischen Zustände verschieden. Der niedrigste  $\pi\sigma^*$ -Zustand ist energetisch oberhalb zweier  $\pi\pi^*$ -Zustände lokalisiert und kann optisch nicht direkt angeregt werden [SRo96, SDo99]. Um herauszufinden, ob er dennoch durch vibronische Kopplung besetzt werden kann, sind Studien an Chromophor-Solvens-Clustern (Indol-Ammoniak, Indol-Wasser) von besonderem Interesse. Der Grund hierfür ist das relativ große  $\pi\sigma^*$ -Dipolmoment, welches bei Komplexbildung mit polaren Solvensmolekülen zu einer Verringerung der für die Kopplung relevanten Energielücke führen sollte [SDo00c]. Zudem gilt es zu klären, ob in den Clustern ein möglicher H-Atom-Transfer vom Indol zum Ammoniak bzw. Wasser stattfindet und welche Dynamik damit verbunden ist. Die Mehrzahl der in dieser Arbeit vorgestellten Experimente beschäftigt sich mit diesen Fragestellungen.
- Als Bestandteil der Erbsubstanz DNS („Desoxyribonukleinsäure“) sowie des zellulären Energieträgers ATP („Adenosintriphosphat“) spielt die Purinbase *Adenin* eine zentrale Rolle in biochemischen Prozessen. Zur Aufklärung ihrer photophysikalischen Eigenschaften müssen neben einer Reihe von  $^1\pi\pi^*$ -Zuständen auch niederenergetische  $^1n\pi^*$ -Zustände berücksichtigt werden [Bro98]. Zudem weist das Molekül sowohl eine Azin- (NH) als auch eine Aminogruppe (NH<sub>2</sub>) auf, die beide potenzielle Reaktionskoordinaten im Sinne des oben beschriebenen  $\pi\sigma^*$ -Zerfallkanals sind (siehe Abb. 1.3). Ihre Bedeutung ist noch Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion [SDo02c, CCH04], wozu durch die Ergebnisse dieser Arbeit ein Beitrag geleistet wird.

Bei den hier vorgestellten fs-Pump-Probe-Experimenten lag die jeweilige Pumpwellenlänge stets in dem in Abbildung 1.2 gekennzeichneten spektralen Bereich. Die verwendeten Lasersysteme sind Bestandteil der Applikationslabore des Max-Born-Instituts (MBI). Zum Nachweis der dynamischen Prozesse wurde zeitaufgelöste Flugzeitmassenspektrometrie bzw. Photoelektronen-Photoionen-Koinzidenzspektroskopie eingesetzt. Es konnte auf eine Molekularstrahlapparatur zurückgegriffen werden, die von W. Radloff und V. Stert am MBI entworfen und aufgebaut worden war. Der Aufbau wurde an einem neuen Lasersystem in Betrieb genommen und musste hinsichtlich der experimentellen Steuerung modifiziert werden. Es wurde ein Verfahren ausgearbeitet, mit dem aus den massenspektroskopischen Daten Aussagen zur mittleren kinetischen Energie der Ionen abgeleitet werden können. Die Interpretation der experimentellen

Daten gelang in vielen Fällen mit Hilfe der von H.-H. Ritze durchgeführten quantenchemischen Rechnungen.

Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass im Rahmen dieser Doktorarbeit parallel zu den Biochromophor-Messungen auch die Erweiterung des Molekularstrahlexperiments um einen neuartigen ortsauflösenden Ionendetektor vorgenommen wurde. Letzterer kam bislang nur in ersten Testmessungen zum Einsatz und ist daher lediglich im Anhang kurz beschrieben.

Die vorliegende Arbeit ist wie folgt unterteilt:

In Kapitel 2 werden theoretische und experimentelle Grundlagen zur Femtosekunden-spektroskopie dargelegt und die hier verwendeten Techniken beschrieben. Kapitel 3 gibt zunächst einen Überblick über die Arbeiten anderer Forschungsgruppen zur Photophysik von Pyrrol, Indol und Adenin, bevor die eigenen Ergebnisse dargestellt und diskutiert werden. In gleicher Weise beschäftigt sich Kapitel 4 mit Biochromophor-Solvens-Clustern, wobei der Schwerpunkt bei der photoinduzierte Dynamik von Indol-Ammoniak-Clustern liegt. Nach Zusammenfassung und Ausblick in Kapitel 5 folgt der Anhang, wo unter anderem das oben erwähnte Verfahren zur Ermittlung mittlerer kinetischer Ionenenergien sowie der neuartige zweidimensionale Ionendetektor behandelt werden.

