

Berechnung der angeregten Zustände von Modellchromophoren des Retinals und einigen Analogen

Eine CASSCF/CASPT2-Studie

Vom Fachbereich Chemie
der Universität Duisburg-Essen
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor rer. nat.
genehmigte Dissertation
von
Dipl.-Chem. Julia Hufen
geboren in Moers

Datum der Einreichung: 23. Juli 2007

Referent: Prof. PhD. V. Buß

Korreferent: Prof. G. Jansen

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Dezember 2007

Die Arbeit wurde im Zeitraum vom 01.05.2002 bis 01.07.2005 im Fachgebiet Theoretische Chemie der Universität Duisburg-Essen (Standort Duisburg) unter der Anleitung von Herrn Prof. PhD. V. Buß erarbeitet.

We have not succeeded in answering all of the problems, and the answers we have found only serve to raise a whole set of new questions. In some ways, we feel we are as confused as ever, but we believe we are confused on a higher level and about more important things.

Unbekannter Verfasser

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Ph.D. V. Buß für die interessante Themenstellung und sein Interesse an der vorliegenden Arbeit. Seine Anregungen waren stets hilfreich und haben meine Arbeit weitergebracht.

Herrn Prof. G. Jansen gilt mein Dank für die Übernahme des Korreferates.

Bedanken möchte ich mich bei Dr. Minoru Sugihara für die gute Zusammenarbeit und die Strukturdaten, die ich von ihm erhalten habe.

Mein besonderer Dank gilt meinen Kollegen aus dem Arbeitskreis, Daniel Richter, Oliver Weingart, Marko Schreiber, Robert Knierim, Helga Sekels, Janine Bauer und Guido Rossmüller. Danke für Alles!

Des Weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern des RRZ Köln für die Bereitstellung von Rechenzeit bedanken. Insbesondere bei Herrn Packschies für seine Hilfe bei kleineren und größeren Problemen.

Mein Dank gilt auch meinen Freunden und Kollegen, die mich während der Zeit stets unterstützt und ermutigt haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Rhodopsin und Retinal	3
2	Theorie	9
2.1	Grundlagen	9
2.1.1	Die Schrödingergleichung unter Berücksichtigung der Born-Oppenheimer-Näherung	9
2.1.2	Die Hartree-Fock-Methode	11
2.2	Berücksichtigung der Korrelation	15
2.2.1	Configuration Interaction	15
2.2.2	Das Multiconfigurational-Self-Consistent-Field-Verfahren	19
2.2.3	Das Complete-Active-Space-Verfahren	20
2.3	Störungstheorie	26
2.4	Basissätze	30
3	Thematik und Durchführung	33
4	Ergebnisse	37
4.1	Der Einfluß der Proteinumgebung	37
4.1.1	Absorption des Chromophors in unterschiedlichen Proteinumgebungen (Opsinshift)	37
4.1.2	Modellsysteme des Retinals mit unterschiedlichem komplexem Gegenion	40
4.1.3	Strukturelle Merkmale der Modelle	42
4.1.4	Spektroskopische Daten der Modelle	45
4.2	Der Einfluß der Methylgruppen	57

4.2.1	Experimentell bekannte Derivate des 11-cis-Retinals	57
4.2.2	Die Modellsysteme der Retinalanalogen	62
4.2.3	Strukturen der Retinalderivate	63
4.2.4	Spektroskopische Daten der Retinalderivate	68
4.3	Bathorhodopsin	78
4.3.1	Das erste stabile Photointermediat des Rhodopsins	78
4.3.2	Derivate des Bathorhodopsin	80
4.3.3	Modellsysteme der Retinalanalogen des Bathorhodopsins .	81
4.3.4	Strukturelle Besonderheiten der Derivate des Batho- rhodop- sins	82
4.3.5	Spektroskopische Daten der Derivate des Bathorhodopsins	86
4.4	Der Einfluß der Bindungsalternanz	95
4.4.1	Modellsysteme mit unterschiedlicher Bindungsalternanz . .	95
4.4.2	Strukturen der Modellsysteme	97
4.4.3	Spektroskopische Daten der Modelle	100
5	Zusammenfassung	109
6	Anhang	113
6.1	Einfluß der Anzahl der berechneten Zustände	113

Kapitel 1

Einleitung

It's kind of nice to be able to see what's going on.

Linus van Pelt

Die Fähigkeit, seine Umwelt optisch wahrzunehmen, wird dem Menschen vor allem durch ein Molekül ermöglicht, das Rhodopsin. Rhodopsin, oder Sehpurpur, wie er in älteren Artikeln noch genannt wird, findet sich in hohen Konzentrationen in den Stäbchenzellen der Retina, die im Auge der Wirbeltiere das skotopische Sehen (Nachtsehen) ermöglichen. Bereits vor mehr als 100 Jahren wurde das Rhodopsin zum ersten Mal untersucht und die Ergebnisse der Studie publiziert.^[1] Seit damals ist Rhodopsin Gegenstand unzähliger Veröffentlichungen und gehört mit zu den am meisten untersuchten Biomolekülen. Der Chromophor im Rhodopsin ist das 11-cis-Retinal; dieser steht im Mittelpunkt der folgenden Arbeiten.

Das Zusammenspiel zwischen Licht und Materie, welches über strukturelle Veränderungen des Chromophors und chemische Vorgänge letztlich zur Wahrnehmung von Licht führt, wirft seit den ersten Untersuchungen viele Fragen auf. Welche Struktur das Rhodopsin, und insbesondere der Chromophor, besitzt, konnte durch mehrere Röntgenstrukturanalysen und andere spektroskopische Untersuchungen bereits ermittelt werden. Auch sind heute die allgemeinen chemischen Vorgänge bekannt, welche letztlich den Lichtreiz im Gehirn auslösen.

Dies ist allerdings erst der Anfang, der Sehprozeß stellt uns vor eine Vielzahl weiterer Fragen, die zum größten Teil noch unbeantwortet sind. Im Rahmen dieser Arbeit wurden vor allem die photophysikalischen Eigenschaften des Chromophors untersucht, die noch folgende Fragen aufwerfen:

- Welchen Einfluß haben bestimmte polare oder polarisierbare Gruppen auf die Absorption des Chromophors?
- Welche Bedeutung haben die Methylgruppen des Chromophors auf dessen Isomerisierung und somit den Photozyklus?
- Welches Absorptionsverhalten haben Derivate des Chromophors?
- Welche strukturellen Veränderungen treten während des Photozyklus auf und welchen Einfluß haben diese auf die Absorption des Chromophors?

Auf diese Fragen und noch viele andere eine Antwort oder zumindest einen Lösungsansatz zu finden, fällt in der heutigen Zeit mit Sicherheit leichter als noch vor 10 oder 20 Jahren. Die experimentellen Möglichkeiten sind um ein Vielfaches besser geworden, die Meßmethoden sind heute sehr präzise und ermöglichen es somit, chemische Prozesse, wie im Falle des Rhodopsins die Absorption eines Photons, spektroskopisch relativ genau zu untersuchen. Mit der Entwicklung der Computer ist zudem ein weiteres Feld der Forschung hinzugekommen: die theoretische Berechnung von Molekülen und die Simulation chemischer Vorgänge. Man kann heute mittels des Computers den Einfluß einzelner Aminosäuren auf das Absorptionsverhalten des Rhodopsins simulieren. Experimentell kann dies zum Teil nur sehr schwer und mit großem Aufwand an Zeit, Material und Kosten geschehen. Da die Computer immer leistungsfähiger werden, können die berechneten Systeme und Modelle immer größer gewählt werden und geben somit ein immer realitätsnäheres Bild des Rhodopsins wieder.

Die theoretischen Methoden haben sich in gleicher Weise zusammen mit den Computern weiterentwickelt. Mit Hilfe von Kombinationen quanten- und moleküldynamischer Simulationen (QM/MM) kann man mittlerweile ganze Ausschnitte aus Proteinen in akzeptabler Zeit berechnen und somit Strukturmodelle des Proteins erstellen. Die Berechnung von angeregten Zuständen stellt heutzutage auch kein unüberwindliches Hindernis mehr dar. Bei der Verwendung eines Multiconfigurational-Self-Consistent-Field-Verfahrens (MCSCF) wie Complete-Active-Space-Self-Consistent-Field-Verfahren (CASSCF) und der darauf aufbauenden Multiconfigurational-Second-Order-Perturbation-Theory (CASPT2-Verfahren), mit denen sämtliche Modelle in dieser Arbeit berechnet wurden, erhält man verlässliche Werte, die es erlauben, die angeregten Zustände von relativ großen Molekülen zuverlässig zu beschreiben. Diese Möglichkeiten bilden die Grundlage,

die komplexen Vorgänge im Rhodopsin weiter zu untersuchen und Lösungsansätze auf die noch offenen Fragen zu finden.

1.1 Rhodopsin und Retinal

Die Netzhaut (Retina) des menschlichen Auges ist äußerst komplex aufgebaut und setzt sich aus ca. 3 Millionen Zapfen- und ca. 100 Millionen Stäbchenzellen zusammen. Die Wahrnehmung von Farben erfolgt dabei in den Zapfenzellen, während die Stäbchenzellen für das Nachtsehen und somit die Hell-Dunkel Wahrnehmung verantwortlich sind. Das Protein, welches die eigentliche Aufgabe der Lichtwahrnehmung in den Stäbchenzellen inne hat und somit bei geringer Lichtintensität die Lichtwahrnehmung ermöglicht, ist das Rhodopsin.^[2, 3, 4, 5, 6, 7, 8] Wird kein Rhodopsin mehr gebildet, tritt die sogenannte Nachtblindheit auf; der Mensch ist nicht mehr in der Lage, im Dunkeln Konturen zu erkennen und sich zu orientieren.

Das Protein Rhodopsin befindet sich im Cytoplasma der Stäbchenzellen und setzt sich aus zwei Bestandteilen zusammen, dem Chromophor 11-cis-Retinal und dem Apoprotein Opsin. 11-cis-Retinal ist ein Derivat des Vitamin A und wird enzymatisch aus diesem gebildet. Das Apoprotein Opsin selbst setzt sich aus 348 Aminosäuren zusammen, die eine Kette von sieben transmembranen Helices formen. In die Mitte dieser sieben Helices ist der Chromophor wie in eine Tasche eingebettet und zwar gebunden als protonierte Schiff-Base an das Lys296 des Opsins.

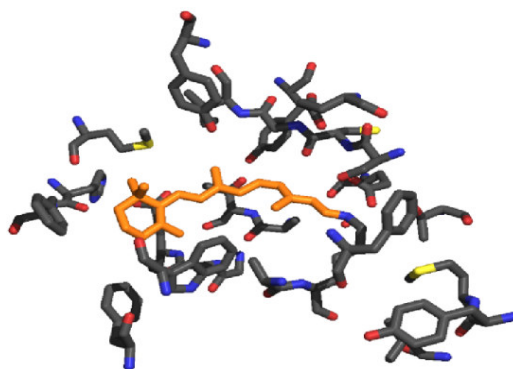


Abbildung 1: Der Retinalchromophor (orange) mit den ihn umgebenden Aminosäuren in einem Abstand von bis zu 450 pm^[9]

Die 11-cis-Konfiguration, die das Retinal im Protein einnimmt, ist energetisch wesentlich ungünstiger als die all-trans-Form. In Lösung würde der Chromophor nicht lange in der 11-cis-Form vorliegen, sondern spontan in die all-trans-Form isomerisieren. Im Opsin ist diese Konfiguration hingegen sehr stabil. Berechnungen zufolge erfolgt unter physiologischen Bedingungen nur einmal in 400 Jahren eine thermische Umwandlung aus der 11-cis- in die all-trans-Form.^[10]

Trifft allerdings ein Photon auf die Netzhaut, so isomerisiert der Chromophor innerhalb von 200 Femtosekunden^[11] von der 11-cis- (Grundzustand/dark state) in die all-trans-Konfiguration (Abb. 2). Diese Reaktion ist eine der schnellsten bekannten Bioreaktionen, und sie ist außerdem noch äußerst effizient. Die Quantenausbeute der Reaktion beträgt 0,67, was bedeutet, daß von 100 einfallenden Photonen 67 eine Isomerisierung des Chromophors von der 11-cis- in die all-trans-Form auslösen. Die Quantenausbeute ist damit wesentlich höher als beispielsweise im Methanol, wo sie lediglich bei 0,25 liegt.^[12] Die Effizienz der Reaktion ist somit um fast 60% geringer als im Protein. Aufgrund der hohen Quantenausbeute und der fast völligen Abwesenheit von thermischen Umwandlungen ist es dem Menschen möglich, sich selbst bei äußerst widrigen Lichtverhältnissen in seiner Umgebung zurecht zu finden.

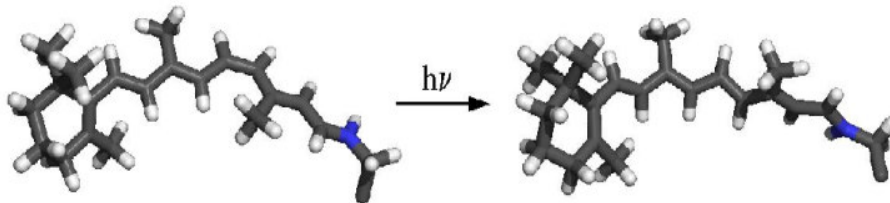


Abbildung 2: Isomerisierung des 11-cis-Retinals in die all-trans-Form

Die Absorption eines Photons durch das 11-cis-Retinal bei 500 nm ist der Auslöser des Photozyklus (Abb. 3), an dessen Ende die Aktivierung der Sehkaskade steht. Das erste stabile, nachweisbare Zwischenprodukt ist das Bathorhodopsin, welches mit einem Absorptionsmaximum (λ_{max}) von 543 nm im Vergleich zum Grundzustand (dark state) rot verschoben absorbiert. Der Bathozustand weist einen stark verdrillten all-trans-Chromophor auf, ein großer Teil der Energie des Photons wird dabei durch Verdrillung der Doppelbindungen und Ladungstrennung gespeichert (Kapitel 4.3). Durch die veränderte Chromophorgeometrie paßt

das all-trans-Retinal nicht mehr optimal in die Proteintasche und als Folge davon kommt es zu Veränderungen der gesamten Rhodopsingeometrie. Es folgen weitere kurzlebige Spezies (Blue Shifted Intermediate (BSI)), Lumirhodopsin, Metarhodopsin I), in denen der Chromophor immer weiter relaxiert. Beim Übergang von Metarhodopsin I zu Metarhodopsin II kommt es zu dem entscheidenden Schritt des Photozyklus, der Deprotonierung der Schiff-Base, was mit einer augenfälligen Veränderung des Absorptionsmaximums einhergeht. Dieses verschiebt sich von 480 nm im Metarhodopsin I zu 380 nm im Metarhodopsin II, einer Wellenlänge, die für den deprotonierten Chromophor charakteristisch ist.^[13]

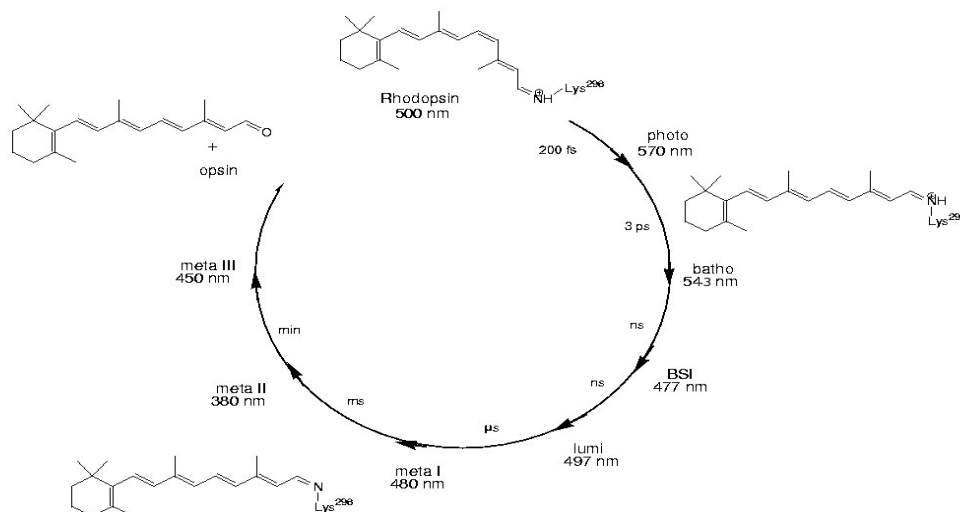


Abbildung 3: Der Photozyklus des Rhodopsins^[2]

Das gebildete Metarhodopsin II aktiviert nun die Übertragung des Lichtreizes in das Gehirn (Abb. 4). Dabei bindet Metarhodopsin II an das Protein Transducin, welches im Dunkeln in der inaktiven GDP-Form vorliegt. Kommt es zur Bildung eines Komplexes mit Metarhodopsin II, so wird GDP durch GTP ausgetauscht und Transducin damit in seine aktive Form überführt. Als Folge davon zerfällt der Transducin-Rhodopsin Komplex, und das Metarhodopsin II kann erneut einen Komplex mit einem Transducinmolekül bilden. Insgesamt kann ein einziges Rhodopsinmolekül während der Lebensdauer seines Meta II Zustandes

bis zu 500 Transducinmoleküle aktivieren, was eine erste Signalverstärkung bedeutet. Der Transducin-GTP-Komplex aktiviert nun seinerseits die Phosphodiesterase (PDE), welche cyclisches GMP (cGMP) zu 5'-GMP hydrolysiert. In den Stäbchenzellen befinden sich Ionenkanäle, durch die Na^+ -Ionen aus dem Äußeren der Zelle ins Zellinnere geleitet werden. Offen gehalten werden diese Kanäle durch cGMP. Wird dieses durch PDE abgebaut, so schließen sich die Kanäle, und im Inneren der Zelle baut sich ein negatives Potential auf. Durch diese Hyperpolarisation wird ein Signal an die Nerven gesendet, welches schließlich im Gehirn als Lichtreiz wahrgenommen wird. Insgesamt können durch ein Photon weit über hundert Kanäle geschlossen werden, was einem Potential von etwa 1 mV entspricht.

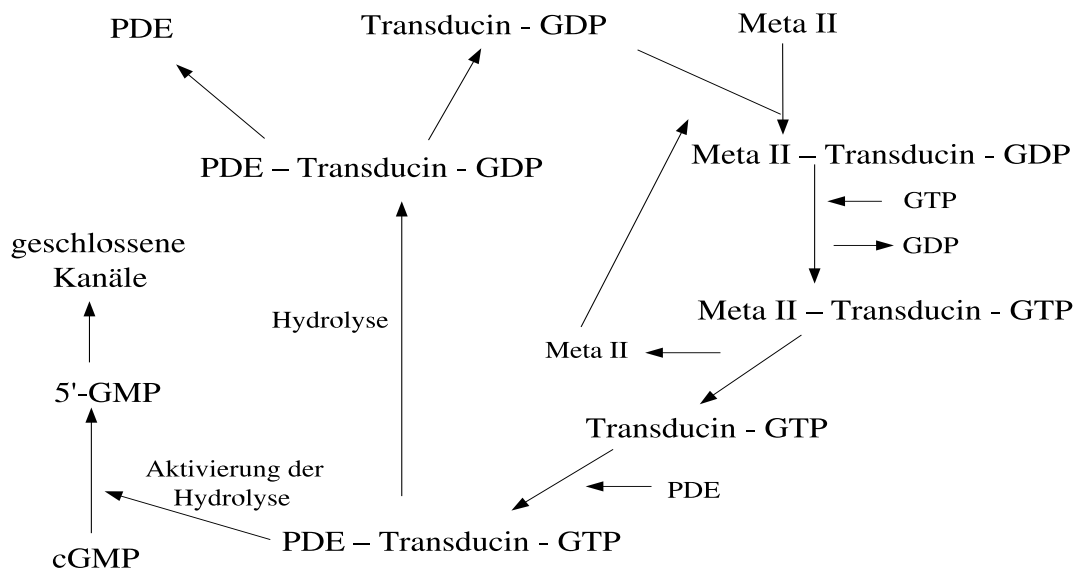


Abbildung 4: Die Aktivierung des Transducins

Der Meta II Zustand des Rhodopsins steht in einem Gleichgewicht mit Meta III, in dem die Retinal-Opisin-Bindung hydrolysiert und das all-trans-Retinal aus dem Zellinneren der Sehzelle transportiert wird. Es erfolgt die enzymatische Rückisomerisierung des all-trans- in 11-cis-Retinal, das in die Zelle zurücktransportiert wird und dort mit dem in der Zelle verbliebenen Opisin photochemisch aktives Rhodopsin regeneriert.

Die während des gesamten Photozykluses beobachteten Verschiebungen des Absorptionsmaximums des Chromophors (Abb. 3) haben unterschiedliche Ursachen: Neben den strukturellen Änderungen des Chromophors (Isomerisierung, Torsion etc.) sind es vor allem die veränderten Wechselwirkungen des Chromophors mit der Umgebung (Wasserstoffbrücken, van-der-Waals-Wechselwirkung etc.). Durch diese Änderungen kommt es zu veränderten elektronischen Gegebenheiten im Molekül, die sich in der Energiedifferenz zwischen dem HOMO und dem LUMO, und somit in der Lage der Absorptionsmaxima widerspiegeln. Welche Wechselwirkungen nun genau für eine bestimmte Verschiebung des Absorptionsmaximums verantwortlich sind, ist noch nicht vollständig geklärt. Will man allerdings den Sehprozess in seiner Gesamtheit verstehen, so ist es notwendig, diese Wechselwirkungen möglichst vollständig zu beschreiben und zu verstehen.

Kapitel 2

Theorie

2.1 Grundlagen

2.1.1 Die Schrödinger-Gleichung unter Berücksichtigung der Born-Oppenheimer-Näherung

Das primäre Ziel der Quantenchemie ist die Lösung der zeitunabhängigen, nicht-relativistischen Schrödinger-Gleichung

$$H\Psi = E\Psi \quad (2.1)$$

wobei H den Hamiltonoperator, E die Energie und die Variable Ψ die Wellenfunktion des Systems bezeichnet.

Ausgehend von einem System mit N Kernen (A, B, \dots) und n Elektronen (i, j, \dots), läßt sich der Hamiltonoperator in atomaren Einheiten wie folgt schreiben:

$$H = -\sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla^2 - \sum_{A=1}^N \frac{1}{2M_A} \nabla^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^N \sum_{B>A}^N \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (2.2)$$

Die Variablen r_{ij} und R_{AB} bezeichnen dabei den Abstand zwischen den Elektronen bzw. Kernen, r_{iA} den Abstand zwischen Elektronen und Kernen, Z_A die Ladung und M_A die Masse der Kerne.

Die beiden ersten Terme in Gleichung 2.2 beschreiben die kinetische Energie der Elektronen bzw. der Kerne. Die Coulombwechselwirkung zwischen Elektronen und Kernen wird durch den dritten Term berücksichtigt, während der vierte und fünfte Term die Elektron-Elektron- bzw. die Kern-Kern-Wechselwirkung beschreibt.

Die Näherung von Born und Oppenheimer^[14, 15] geht davon aus, daß sich die Kerne aufgrund ihrer wesentlich größeren Masse im Vergleich zu den Elektronen deutlich langsamer bewegen und der Fehler bei der Annahme ortsfester Kerne deshalb gering ist. Nach Born-Oppenheimer bewegen sich daher die Elektronen in einem Feld ortsfester Kerne. Die kinetische Energie der Kerne kann daher bei der Lösung der Schrödingergleichung vernachlässigt werden, und die Kern-Kern-Wechselwirkung geht als Parameter R in den Hamiltonoperator ein.

Der Hamiltonoperator aus Gleichung 2.2 läßt sich in dieser Näherung reduzieren. Gleichung 2.3 stellt den elektronischen Hamiltonoperator dar, der die Bewegung von n Elektronen in einem Feld von N atomaren Punktladungen der Kernladung Z beschreibt.

$$H_{el} = - \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.3)$$

In der zu lösenden Schrödingergleichung

$$H_{el} \Psi_{el} = E_{el} \Psi_{el} \quad (2.4)$$

beschreibt die elektronische Wellenfunktion (Ψ_{el}) die Bewegung der Elektronen im Feld ortsfester Kerne und ist somit, bei vorgegebener Kernkonfiguration, nur noch eine Funktion von r_i ; unterschiedliche Kernkoordinaten R führen somit zu unterschiedlichen Wellenfunktionen Ψ_{el} und Energien E_{el} .

Die Gesamtenergie (E) erhält man aus der Summe der elektronischen Energie und der Kern-Kern-Wechselwirkung (Gl. 2.5):

$$E = E_{el} + \sum_{A=1}^N \sum_{B>A}^N \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (2.5)$$

2.1.2 Die Hartree-Fock-Methode

Mit Hilfe der Born-Oppenheimer-Näherung kommt man zu einer Darstellung der Schrödingergleichung, die nur von den Koordinaten der Elektronen abhängig ist und dadurch die Beschreibung eines Moleküls vereinfacht. Die darauf aufbauende Hartree-Fock-Methode^[14, 15] ist eine der wichtigsten quantenmechanischen Theorien zur Lösung der elektronischen Wellenfunktion Ψ_{el} überhaupt.

Ausgangspunkt des Hartree-Fock-Verfahrens ist die Wellenfunktion Ψ , die eine Näherung der exakten Wellenfunktion und Lösung der Schrödingergleichung ist.

$$H\Psi = E\Psi \quad (2.6)$$

Ersetzt man den Hamiltonoperator durch eine Summe von Ein-Elektronen-Hamiltonoperatoren h_i , so wird aus der Mehrelektronenwellenfunktion Ψ ein Produkt von Ein-Elektronen-Wellenfunktionen, von Orbitalen also. Die Schrödingergleichung läßt sich dann für ein System mit n Elektronen in n Ein-Elektronen-Gleichungen zerlegen, wobei die Energie E_a die Energie eines Elektrons in Orbital a bezeichnet.

$$H = \sum_{i=1}^n h_i \quad (2.7)$$

$$h_i\Psi_a(1) = E_a\Psi_a(1) \quad (2.8)$$

Nach Hartree-Fock wird die Wellenfunktion Ψ als Slaterdeterminante aus n Spinorbitalen dargestellt (2.9). Ein Spinorbital ψ bezeichnet dabei das Produkt einer Orbitalfunktion mit einer Spinfunktion. Es gibt demnach sowohl die räumliche Verteilung als auch den Spinzustand des darin enthaltenen Elektrons wieder:

$$\Psi^0(x, R) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \det | \psi_a(1)\psi_b(2)\dots\psi_z(n) | \quad (2.9)$$

Die Spinorbitale, welche die beste Näherung der tatsächlichen Wellenfunktionen darstellen, lassen sich mit Hilfe des Variationsverfahrens nach Rayleigh ermitteln; sie lassen dabei die Energie ε minimal werden.

$$\varepsilon = \frac{\int \psi^*(x, R)H\psi(x, R)dx}{\int \psi^*(x, R)\psi(x, R)dx} \quad (2.10)$$

Arbeitet man mit normierten Wellenfunktionen, so ist $\int \psi^*(x, R)\psi(x, R)dx = 1$, und der Nenner in Gleichung 2.10 entfällt. Die variationelle Freiheit bei diesem Verfahren ist die Wahl der Spinorbitale. Minimiert man die Energie ε in Abhängigkeit von den Spinorbitalen, so erhält man daraus die Hartree-Fock-Gleichungen (2.11) für jedes Spinorbital ψ_a . ε_a bezeichnet dabei die Energie des Spinorbitals und f_i den Fockoperator. Dieser setzt sich aus dem Ein-Elektronen-Operator h_i und den Zwei-Elektronen-Operatoren zusammen, nämlich den Coulomb- (J) und den Austauschoperatoren (K) (Gl. 2.12). Der Vorteil ist, daß man das komplexe Mehrteilchenproblem aus Gleichung 2.6 durch einfacher zu lösende Ein-Elektronen-Gleichungen ersetzt, bei denen die Elektron-Elektron-Wechselwirkung nur gemittelt eingeht.

$$f_1\psi_a(1) = \varepsilon_a\psi_a(1) \quad (2.11)$$

$$f_1 = h_1 + \sum_u (J_u(1) - K_u(1)) \quad (2.12)$$

Der Coulomboperator J beschreibt die Wechselwirkung der Elektronen untereinander und zwar als gemittelttes elektrisches Potential, welches auf das Elektron im Orbital ψ_u durch die übrigen n-1 Elektronen in den anderen Orbitalen ausgeübt wird. Mathematisch läßt sich der Coulomboperator durch folgende Gleichung darstellen:

$$J_u(1)\psi_a(1) = \left(\int \psi_u^*(2) \left(\frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 r_{12}} \right) \psi_u(2) dx_2 \right) \psi_a(1) \quad (2.13)$$

Der Austauschoperator K beschreibt hingegen die Korrelation der Elektronen mit gleichem Spin, die sich als Folgerung aus dem Pauli-Prinzip nicht am selben Ort aufhalten können:

$$K_u(1)\psi_a(1) = \left(\int \psi_u^*(2) \left(\frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 r_{12}} \right) \psi_a(2) dx_2 \right) \psi_u(1) \quad (2.14)$$

Die Lösung der Hartree-Fock-Gleichungen erfolgt iterativ. Zunächst werden mit einem Satz von angenommenen Orbitalen die Operatoren J und K aufgebaut

und die Hartree-Fock-Gleichungen gelöst. Aus den daraus resultierenden Orbitalen werden verbesserte Wechselwirkungsintegrale berechnet und die Gleichungen werden erneut gelöst. Diese Prozedur wird so oft wiederholt, bis die Differenzen der berechneten Energien und der Elektronendichte in zwei aufeinander folgenden Zyklen unter einen vorgegebenen Grenzwert fallen. Die so ermittelte Elektronenverteilung wird als das selbstkonsistente Feld (SCF) bezeichnet. Ursprünglich wurde dieses Verfahren von Hartree für Atome eingeführt, wobei es durch numerische Lösung der Orbitale durchgeführt wurde. Für Moleküle ist dieses Verfahren allerdings zu aufwendig und nicht praktikabel.

Um das Hartree-Fock-Verfahren auch auf größere Systeme, also Moleküle, anwenden zu können, wurde von Roothaan und Hall ein Ansatz entwickelt, der auf dem Linear-Combination of Atomic-Orbitals Ansatz (LCAO) der zu lösenden Molekülorbitale (MOs) beruht. Begonnen wird auch hier mit dem Variationsverfahren von Rayleigh (2.10), wobei man im Allgemeinen davon ausgeht, daß Elektronen mit gepaartem Spin dasselbe Orbital besetzen (restricted Hartree-Fock-Verfahren). Es kann der gleiche Ansatz gewählt werden wie in Gleichung 2.11, wobei die Wellenfunktion hier spinlos ist und sich der Fockoperator leicht verändert ergibt:

$$f_1 = h_1 + \sum_u (2J_u(1) - K_u(1)) \quad (2.15)$$

Nach dem Ansatz von Roothaan und Hall werden die Wellenfunktionen ψ als Linearkombinationen über alle M Basisfunktionen ϕ entwickelt:

$$\psi_i = \sum_{j=1}^M c_{ij} \phi_j \quad (2.16)$$

Die verwendeten Basisfunktionen bleiben während der ganzen Rechnung unverändert, variiert werden lediglich die Expansionskoeffizienten c . Setzt man diesen Ansatz in Gleichung 2.11 ein, so ergibt sich:

$$f_1 \sum_{j=1}^M c_{ij} \phi_j(1) = \varepsilon_a \sum_{j=1}^M c_{ij} \phi_j(1) \quad (2.17)$$

Erweitert man diese Gleichung mit der komplex konjugierten Funktion ψ_{ji}^* , so folgt nach Integration über dr_1 :

$$\sum_{j=1}^M c_{ja} \int \psi_i^*(1) f_1 \psi_j(1) dr_1 = \varepsilon_a \sum_{j=1}^M c_{ja} \int \psi_i^*(1) \psi_j(1) dr_1 \Rightarrow \sum_{j=1}^M F_{ij} c_{ja} = \varepsilon \sum_{j=1}^M S_{ij} c_{ja} \quad (2.18)$$

wobei die Überlappungsmatrix $S_{ij} = \int \psi_i^*(1) \psi_j(1) dr_1$ im Fall eines orthonormalen Basissatzes die Einheitsmatrix und $F_{ij} = \int \psi_i^*(1) f_1 \psi_j(1) dr_1$ die Fockmatrix darstellt.

Diese Gleichung läßt sich in die Matrixgleichung (Gl. 2.19) überführen, wobei C eine M x M dimensionale Matrix mit den Elementen c_{ij} und ε analog dazu eine M x M dimensionale Matrix mit den Elementen ε_a bezeichnet.

$$FC = SC\varepsilon \quad (2.19)$$

Diese Gleichung läßt sich auch für große Systeme durch Diagonalisierung von F in Orthogonalterme überführen, mit den Orbitalen als Eigenvektoren und den Energien als Diagonalelemente. Als Methode wird auch hier das Self-Consistent-Field-Verfahren angewendet. Mit der Transformation in die Matrixschreibweise lassen sich die Hartree-Fock-Gleichungen schnell und effektiv lösen und ermöglichen so die Berechnung großer Moleküle.

Bei der Hartree-Fock-Methode unterscheidet man generell zwischen zwei Varianten, dem restricted Hartree-Fock- (RHF) und dem unrestricted Hartree-Fock-Verfahren (UHF).

Beim RHF-Verfahren, das weiter oben schon beim Roothaan-Hall-Ansatz erklärt wurde, geht man davon aus, daß der Raumanteil von jeweils zwei Elektronen mit α - und β -Spin identisch ist, und alle Orbitale soweit wie möglich doppelt besetzt werden.

Das UHF-Verfahren geht im Gegensatz dazu von der Annahme aus, daß der Orbitalteil eines α -Spinorbitals verschieden ist von dem eines Elektrons mit β -Spin. Dies ist in verschiedenen Fällen in der Tat eine realitätsnähere Beschreibung. Man stelle sich als Beispiel das Lithium-Atom mit 3 Elektronen vor: zwei Elektronen, eines mit α - und eines mit β -Spin, besetzen das 1s-Orbital und das dritte Elektron das 2s-Orbital, beispielsweise mit α -Spin. Da zwischen den beiden Elektronen mit gleichem Spin eine Austauschwechselwirkung besteht, werden für

die beiden Elektronen des 1s-Orbitals unterschiedliche Aufenthaltswahrscheinlichkeiten resultieren, und sie können eigentlich nicht mit der gleichen räumlichen Funktion beschrieben werden.

Für Radikale, die ein lediglich einfach besetztes Orbital haben, wird das unrestricted Hartree-Fock-Verfahren verwendet, da hier das am Beispiel des Li-Atoms beschriebene Verhalten auftritt. Vor allem die in Gegenwart von Radikalen auftretende Spinpolarisation kann mit dem UHF-Verfahren ausgezeichnet dargestellt werden. Auch bei Modellen, bei denen es zu einer Bindungsdissoziation kommt, stellt UHF die Methode der Wahl dar. Der Nachteil dieses Verfahrens ist allerdings, daß die Wellenfunktion keine Eigenfunktion des Spinoperators S^2 mehr ist. Als Lösung erhält man oftmals sehr komplexe Darstellungen der Molekülorbitale. Die Vorteile des Hartree-Fock-Verfahrens gehen somit verloren, und die Genauigkeit der Ergebnisse einer UHF- gegenüber einer RHF-Rechnung wiegen diese Nachteile nicht auf.

Deshalb findet das RHF-Verfahren generelle Anwendung, solange sämtliche Orbitale doppelt besetzt sind (closed-shell-Systeme) oder die Anzahl der α - und β -Elektronen zumindest gleich ist, also bei angeregten Zuständen.

2.2 Berücksichtigung der Korrelation

2.2.1 Configuration Interaction

Eine wesentliche Einschränkung der Hartree-Fock-Methode ist, daß sie selbst für kleine Moleküle keine exakte Eigenfunktion und Eigenenergie des molekularen Hamiltonoperators liefert - eine Folge der Orbitalnäherung der elektronischen Wellenfunktion. Die Wechselwirkung eines Elektrons mit den anderen Elektronen des Moleküls wird lediglich als gemittelte Wechselwirkung beschrieben. Die Korrelation der Elektronen, also die Abhängigkeit der Bewegung jedes einzelnen Elektrons von der momentanen Position aller anderen, bleibt dabei unberücksichtigt.

Eine Weiterführung der Hartree-Fock-Methode unter Berücksichtigung der Korrelation der Elektronen und der daraus resultierenden Korrelationsenergie E_{cor} ist die Configuration-Interaction-Methode (CI).^[14] Die Korrelationsenergie E_{cor} ist dabei als Differenz zwischen der exakten, nichtrelativistischen Energie E_0 und der Hartree-Fock-Energie E_{HF} definiert:

$$E_{cor} = E_0 - E_{HF} \quad (2.20)$$

Die Wellenfunktion wird wiederum als Slaterdeterminante des Grundzustandes dargestellt (2.9).

Regt man ein Elektron aus einem besetzten Spinorbital a in ein unbesetztes Spinorbital p an, so kann die angeregte Wellenfunktion (Ψ_a^p) ebenfalls als Slaterdeterminante dargestellt werden.

$$\Psi_a^p = | \psi_1 \psi_2 \dots \psi_p \psi_b \dots \psi_n | \quad (2.21)$$

Die Wellenfunktionen der doppelt, dreifach usw. angeregten Zustände lassen sich auf ähnliche Weise in Form von Slaterdeterminanten darstellen. Ist eine Slaterdeterminante oder eine Linearkombination mehrerer Slaterdeterminanten eine Eigenfunktion von H , so nennt man sie eine Configuration-State-Function (CSF). Eine Eigenfunktion des Hamiltonoperators ist immer auch eine Eigenfunktion des Spinoperators, der mit H kommutiert. Die CSFs können nun als verbesserte Näherung zur Beschreibung der exakten Wellenfunktion herangezogen werden. Dabei wird die Wellenfunktion des Grundzustandes (bzw. der angeregten Zustände) als Linearkombination aller im Prinzip denkbaren CSFs dargestellt.

$$|\Psi_0\rangle = c_0|\psi_0\rangle + \sum_{ap} c_a^p |\psi_a^p\rangle + \sum_{a<b, p<q} c_{ab}^{pq} |\psi_{ab}^{pq}\rangle + \sum_{a<b<c, p<q<r} c_{abc}^{pqr} |\psi_{abc}^{pqr}\rangle + \sum_{a<b<c<d, p<q<r<s} c_{abcd}^{pqrs} |\psi_{abcd}^{pqrs}\rangle + \dots \quad (2.22)$$

Mit Hilfe der Nebenbedingungen $a<b$ etc. ist dafür gesorgt, daß jede Determinante genau einmal berücksichtigt wird. Bei den Koeffizienten c handelt es sich um die Entwicklungskoeffizienten, welche im Verlauf der Rechnung variiert werden. Die Gleichung 2.22 läßt sich vereinfacht schreiben als:

$$|\Psi_0\rangle = c_0|\psi_0\rangle + c_s|S\rangle + c_d|D\rangle + c_t|T\rangle + \dots \quad (2.23)$$

mit $|S\rangle$ an Stelle von $|\psi_a^p\rangle$ und entsprechenden Termen für die höher angeregten Zustände.

Die Lösung der Gleichung erfolgt nach dem bereits aus der Hartree-Fock-Methode bekannten Variationsverfahren von Rayleigh (2.10), wobei sich auch hier die Gleichung (2.24) in ein Matrixsystem (2.26) entwickeln läßt:

$$Hc = Esc \quad (2.24)$$

mit dem Vektor

$$c = \begin{pmatrix} c_0 \\ c_s \\ c_d \\ c_t \\ c_q \\ \dots \end{pmatrix} \quad (2.25)$$

für die Entwicklungskoeffizienten.

Da die Slaterdeterminanten eine orthogonale Basis bilden, ist S in Gleichung 2.24 die Einheitsmatrix. Nach dem Variationsansatz von Rayleigh ergibt sich die Matrixgleichung

$$\begin{pmatrix} \langle \psi_0 | H | \psi_0 \rangle & \langle \psi_0 | H | S \rangle & \langle \psi_0 | H | D \rangle & \langle \psi_0 | H | T \rangle & \dots \\ \langle S | H | \psi_0 \rangle & \langle S | H | S \rangle & \langle S | H | D \rangle & \langle S | H | T \rangle & \dots \\ \langle D | H | \psi_0 \rangle & \langle D | H | S \rangle & \langle D | H | D \rangle & \langle D | H | T \rangle & \dots \\ \langle T | H | \psi_0 \rangle & \langle T | H | S \rangle & \langle T | H | D \rangle & \langle T | H | T \rangle & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \end{pmatrix} = 0 \quad (2.26)$$

die sich vereinfachen läßt, wenn man folgende Beziehungen berücksichtigt:

- Nach der Regel von Brillouin gibt es keine Wechselwirkung zwischen dem Grundzustand und dem ersten angeregten Zustand; alle Matrixelemente $\langle \psi_0 | H | S \rangle$ sind demnach null.
- Es gibt keine Wechselwirkung zwischen Slaterdeterminanten die sich um mehr als zwei Spinorbitale unterscheiden. Also koppelt der Grundzustand

nicht mit dreifach (T) und vierfach (Q) angeregten Konfigurationen. Ebenso gibt es keine Wechselwirkung zwischen einfach (S) und vierfach angeregten Konfigurationen.

Berücksichtigt man diese Bedingungen, so läßt sich die Matrix aus Gleichung 2.26 vereinfacht darstellen:

$$\begin{vmatrix} \langle \psi_0 | H | \psi_0 \rangle & 0 & \langle \psi_0 | H | D \rangle & 0 & \dots \\ 0 & \langle S | H | S \rangle & \langle S | H | D \rangle & \langle S | H | T \rangle & \dots \\ \langle D | H | \psi_0 \rangle & \langle D | H | S \rangle & \langle D | H | D \rangle & \langle D | H | T \rangle & \dots \\ 0 & \langle T | H | S \rangle & \langle T | H | D \rangle & \langle T | H | T \rangle & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \end{vmatrix} = 0 \quad (2.27)$$

Die CI-Energien des Systems ergeben sich als Eigenwerte der Matrix des Hamiltonoperators. Diese Werte bilden eine obere Schranke für den exakten Energiewert. Durch Konstruktion der Eigenvektoren lassen sich die Werte für die Expansionskoeffizienten c ermitteln.

Die CI-Methode basiert zwar auf einer recht einfachen Theorie, die Anforderungen an die Speicherkapazität und den Zeitaufwand für die Rechnungen sind allerdings enorm, vor allem, da die Entwicklung im Allgemeinen schlecht konvergiert. Für ein reales Molekül ist es zur Zeit nicht möglich, eine Rechnung durchzuführen, in der alle möglichen CSFs gebildet werden und damit nach Gleichung 2.23 die exakte Energie des Systems ermittelt wird. Die Zahl der verwendeten CSFs muß vielmehr immer eingeschränkt werden. Eine Möglichkeit, die Anzahl der CSFs zu verringern, ist die Anwendung von Symmetriekriterien. In die Rechnung einbezogen werden nur solche CSFs, die die gleiche Symmetrie besitzen wie der zu berechnende Zustand. CSFs mit anderen Symmetrien tragen nicht zur Beschreibung bei und können deshalb vernachlässigt werden. Eine volle CI (full CI), also die Verwendung aller CSFs der jeweiligen Symmetrie eines endlichen Basisatzes für die Beschreibung eines Zustands ist das Beste, was zur Zeit rechnerisch möglich ist. Allerdings ist selbst diese leicht vereinfachte Beschreibung für größere Systeme noch zu aufwendig.

Für ein System mit n Elektronen, welches durch M Basisfunktionen beschrieben wird, wächst die Anzahl der zu berücksichtigenden Determinanten mit $\binom{2M}{n}$

mit n sehr stark an. Das Verfahren bedarf somit weiterer Vereinfachungen, um die Anzahl der Determinanten zu verringern. Aus diesem Grund beschränkt man sich häufig auf wesentliche Konfigurationen und limitiert somit die Anzahl der CSFs. Meist berücksichtigt man nur einfach und doppelt angeregte Konfigurationen; höher angeregte Konfigurationen werden völlig außer acht gelassen, d. h. Gl. 2.23 wird nach dem Term für die doppelt angeregten Konfigurationen abgebrochen. Dieses sogenannte Single-Double-CI-Verfahren (SDCI) ist eines der am häufigsten verwendeten CI-Verfahren überhaupt.

Ein Nachteil aller begrenzten CI-Methoden ist die fehlende Größenkonsistenz. Von Größenkonsistenz spricht man, wenn für ein System AB, bei dem sich die Komponenten A und B unendlich weit voneinander entfernt befinden, die gleiche Energie ermittelt wird wie bei separaten Rechnungen von A und B, also $E(AB) = E(A) + E(B)$. Für die Hartree-Fock-Methode oder eine vollständige CI-Rechnung wäre diese Bedingung erfüllt; hingegen erhält man bei einer beschränkten, insbesondere bei allen SDCI-Rechnungen, nicht die selben Energiewerte. Der Unterschied zwischen den Energiewerten für AB und A+B nimmt dabei zu, je größer das gewählte Modellsystem ist.

Eine andere Fehlerquelle ist der Basis-Set-Superposition-Error (BSSE), der sich auf die Bindungsenergien des Systems auswirkt. Die Ursache für den BSSE liegt in der Wahl eines Basissatzes, der das System nicht ausreichend beschreibt. Das bedeutet, daß die Energie von Komponente A durch den Basissatz der Komponente B abgesenkt wird. Diese Wechselwirkung ist unabhängig davon, ob die beiden Komponenten A und B im System stark miteinander wechselwirken oder nicht. Durch den BSSE kommt es zu geringeren Energien des Systems, die sich in höheren Bindungsenergien widerspiegeln.

2.2.2 Das Multiconfigurational-Self-Consistent-Field-Verfahren

Für viele zu berechnende Systeme ist das CI-Verfahren ausreichend. Das eben angesprochene Problem der Größenkonsistenz bei limitierten SDCI-Rechnungen zeigt aber schon, daß dieses Verfahren noch verbessert werden kann. Eine Weiterentwicklung der CI-Methode ist das Multiconfigurational-Self-Consistent-Field-Verfahren (MCSCF), das eine Kombination von Hartree-Fock mit der CI-Methode darstellt. Wie bei der CI-Methode werden hier die Entwicklungskoeffizienten c der

Determinanten variiert. Gleichzeitig werden aber auch die Molekülorbitale wie in einer Hartree-Fock-Rechnung variiert. Aus dieser doppelten Variation resultieren zwar längere Rechenzeiten, doch lohnt sich dieser Aufwand, da die Energiewerte, wie man leicht einsehen kann, besser sind als die Ergebnisse einer normalen CI-Rechnung. Die Theorie der MCSCF-Methode wird im folgenden anhand des Beispiels des CASSCF-Verfahrens erläutert.

2.2.3 Das Complete-Active-Space-Verfahren

Das Complete-Active-Space-Self-Consistent-Field-Verfahren (CASSCF) [16, 17, 18] ist die MCSCF-Methode, mit der sämtliche in dieser Arbeit beschriebenen Rechnungen durchgeführt wurden.

Das CASSCF-Verfahren umgeht die Schwierigkeit, daß ein großer Basissatz zu einer großen Zahl von angeregten Konfigurationen und damit zu einem nicht mehr löslichen CI-Problem führt, durch die Aufteilung der Orbitale in drei Kategorien, nämlich die inaktiven, aktiven und virtuellen Orbitale.

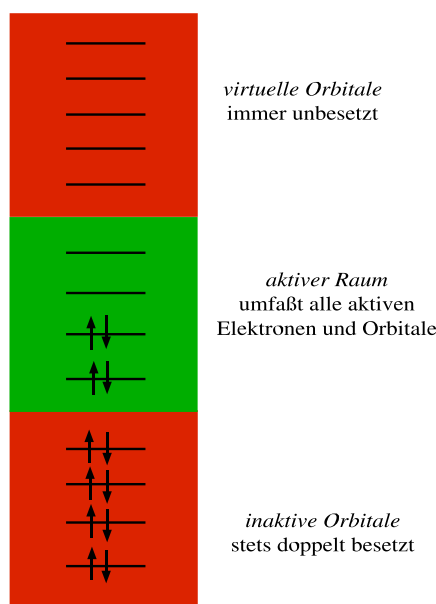


Abbildung 5: Die Aufteilung der Orbitale in der CASSCF-Theorie. Der aktive Raum umfaßt im gezeigten Beispiel 4 Elektronen und 4 Orbitale

Die *virtuellen Orbitale* liegen energetisch so hoch, daß sie in allen relevanten CSFs unbesetzt sind. Es gibt demnach keine für den angeregten Zustand relevanten CSFs, in denen diese Orbitale besetzt sind. Sie können deshalb bei der Berechnung vernachlässigt werden.

Die *aktiven Orbitale* bilden den aktiven Raum, in dem die eigentlich Rechnung durchgeführt wird. Der aktive Raum umfaßt alle relevanten Orbitale und Elektronen, welche für eine sinnvolle Beschreibung der Zustände benötigt werden. Aus den aktiven Orbitalen und Elektronen werden alle möglichen CSFs gebildet. Mit der Auswahl des aktiven Raums wird demnach auch die Wellenfunktion festgelegt, deshalb sollten die Orbitale des aktiven Raums besonders sorgfältig ausgesucht werden. Ansonsten können auch hier die gleichen Probleme wie bei einer CI-Rechnung auftreten. Natürlich kann der aktive Raum nicht beliebig groß gewählt werden; er ist in der Regel wegen der limitierten Rechenkapazität auf 12 Elektronen und Orbitale begrenzt, wodurch sich die Zahl der Konfigurationen stark reduziert.

Bei den *inaktiven Orbitalen* handelt es sich um energetisch sehr tief liegende Orbitale, die stets doppelt besetzt sind. Wie bei den virtuellen Orbitalen gibt es keine für den angeregten Zustand relevanten CSFs, in denen diese Orbitale nicht doppelt besetzt sind. Deswegen werden auch sie in den Rechnungen nicht weiter berücksichtigt.

Die Größe (N_{CAS}) der CI-Matrix ist trotz des limitierten aktiven Raums immer noch sehr groß. Sie ergibt sich nach der Formel von Weiy^[16] zu

$$N_{CAS} = \frac{2S+1}{n_o+1} \binom{n_o+1}{\frac{n}{2}-S} \binom{n_o+1}{\frac{n}{2}+S+1} \quad (2.28)$$

wobei n die Zahl der Elektronen, n_o die Anzahl der aktiven Orbitale und S den Gesamtspin des Systems darstellt.

Da es sich beim CASSCF-Verfahren um ein MCSCF-Verfahren handelt, werden bei der Optimierung sowohl die CI-Koeffizienten als auch die Molekülorbitale variiert. Die CAS-Wellenfunktion $|0\rangle$ (2.29) wird dabei als Linearkombination aller möglichen CSFs $|\mu\rangle$ dargestellt, die aus den Orbitalen des aktiven Raums gebildet werden können. Ziel ist es, die Molekülorbitale zu finden, die das Modellsystem am besten beschreiben, das heißt, die Energie minimal werden lassen.

$$|0\rangle = \sum_{\mu=1}^M C_{\mu}^{(0)} |\mu\rangle \quad (2.29)$$

Der Hamiltonoperator läßt sich dabei in der Schreibweise der zweiten Quantisierung als Summe von Anregungsoperatoren darstellen.

$$H = \sum_{p,q} h_{pq} \hat{E}_{pq} + \frac{1}{2} \sum_{p,q,r,s} (pq|rs) (\hat{E}_{pq} \hat{E}_{rs} - \delta_{qr} \hat{E}_{ps}) \quad (2.30)$$

mit den Ein-Elektronen-Integralen h_{pq} für die kinetische Energie der Elektronen und den Zwei-Elektronen-Integralen $(pq|rs)$ für die Wechselwirkung der Elektronen.

Der Besetzungszustand der Orbitale kann mit Hilfe der Determinante $|m_1, m_2, m_3, m_i, \dots, m_{2n}\rangle$ gekennzeichnet werden. Wendet man den Löschooperator \hat{a} darauf an, so erhält man das folgende Ergebnis:

$$\hat{a}_i |m_1, m_2, m_3, m_i, \dots, m_{2n}\rangle = m_i (-1)^{p_i} |m_1, m_2, m_3, 0_i, \dots, m_{2n}\rangle$$

Die Wirkung von \hat{a} besteht also darin, ein Elektron aus einem besetzten Orbital zu entfernen. Den gegenteiligen Effekt bewirkt der Erzeugungsoperator \hat{a}^\dagger , der nach

$$\hat{a}_i^\dagger |m_1, m_2, m_3, m_i, \dots, m_{2n}\rangle = (1 - m_i) (-1)^{p_i} |m_1, m_2, m_3, 1_i, \dots, m_{2n}\rangle$$

ein Elektron im Orbital i erzeugt.

Der Anregungsoperator \hat{E}_{pq} (Gl. 2.31) vereint diese beiden Operatoren. Dabei wird ein Elektron aus einem (niedriger liegenden) Orbital gelöscht und ein Elektron in einem (höher liegenden) Orbital erzeugt, was der Anregung eines Elektrons entspricht.

$$\hat{E}_{pq} = \sum_{\sigma} \hat{a}_{p\sigma}^\dagger \hat{a}_{q\sigma} \quad (2.31)$$

Wie bei jeder Optimierung wird auch im CASSCF-Verfahren der Zustand angestrebt, für den die ermittelte Energie des Systems stationär gegenüber allen

Variablen ist. Nach dem bekannten Variationsansatz ergibt sich die Energie auch hier zu

$$E_0 = \frac{\langle 0|H|0\rangle}{\langle 0|0\rangle} \quad (2.32)$$

wobei $\langle 0|$ die Wellenfunktion des Systems darstellt. Geht man von einer normierten Wellenfunktion aus, so wird der Nenner in Gl. 2.32 eins. Gleichung 2.32 reduziert sich somit auf den Zähler, welcher ausgeschrieben lautet:

$$E_0 = \sum_{p,q} h_{pq} D_{pq}^{00} + \sum_{p,q,r,s} (pq|rs) P_{pqrs}^{00} \quad (2.33)$$

Es treten auch hier die schon aus Gleichung 2.30 bekannten Ein- und Zwei-Elektronen-Integrale auf. Bei den Termen D_{pq}^{00} und P_{pqrs}^{00} handelt es sich um die reduzierten Dichtematrizen 1. bzw. 2. Ordnung, die aus der Matrix des Entwicklungskoeffizienten C berechnet werden.

$$D_{pq}^{(00)} = \langle 0|\hat{E}_{pq}|0\rangle = \sum_{\mu,\nu} C_{\mu}^{(0)} C_{\nu}^{(0)} A_{pq}^{\mu\nu} \quad (2.34)$$

$$P_{pqrs}^{(00)} = \frac{1}{2} \langle \mu|\hat{E}_{pq}\hat{E}_{rs} - \delta_{qr}\hat{E}_{ps}|\nu\rangle = \sum_{\mu,\nu} C_{\mu}^{(0)} C_{\nu}^{(0)} A_{pqrs}^{\mu\nu} \quad (2.35)$$

$A_{pq}^{\mu\nu}$ und $A_{pqrs}^{\mu\nu}$ sind dabei die Ein- und Zwei-Elektronen-Kopplungskoeffizienten.

Jegliche Information über die CI-Koeffizienten ist in den Dichtematrizen enthalten, während die Ein- und Zwei-Elektronen-Integrale über die Molekülorbitale definiert sind.

Während der CASSCF-Optimierung werden sowohl die CI-Koeffizienten als auch die LCAO-Koeffizienten der Molekülorbitale solange variiert, bis die Energie stationär ist. Während der Variation der CI-Koeffizienten geht man davon aus, daß die Gesamtwellenfunktion normalisiert bleibt. Um die Variation der CI-Koeffizienten zu beschreiben, muß die orthonormale Komponente $|K\rangle$ der Wellenfunktion bekannt sein:

$$|K\rangle = \sum_{\mu=1} C_{\nu}^{(k)} |\mu\rangle \quad (2.36)$$

Mit jedem Zustand $|K\rangle$ korrespondiert ein variationeller Parameter, welcher den Beitrag des Zustandes bei der Variation des ursprünglichen Zustandes $|0\rangle$ beschreibt. Die Variation wird als Rotation des ursprünglichen Zustandes in den orthogonalen Raum beschrieben und erfolgt mit dem Operator $\exp(\hat{S})$.

$$\hat{S} = \sum_{K \neq 0} S_{K0} (|K\rangle\langle 0| - |0\rangle\langle K|) \quad (2.37)$$

Die Variation der Orbitale wird hingegen als Rotation in einen orthonormalen Vektorraum angesehen. Der Satz der ursprünglichen Molekülorbitale (ψ) wird durch eine unitäre Transformation in einen neuen Satz umgewandelt.

$$\psi' = \psi U \quad (2.38)$$

Eine solche Transformation der Orbitale zieht auch eine Veränderung des Lös- und Erzeugungsoperators nach sich, für die gilt:

$$\hat{a}' = \exp^{-\hat{T}} \hat{a}_i \exp^{\hat{T}} \quad (2.39)$$

$$\hat{a}'^\dagger = \exp^{-\hat{T}} \hat{a}_i^\dagger \exp^{\hat{T}} \quad (2.40)$$

Der dabei verwendete nichthermitische Operator \hat{T} ist definiert als:

$$\hat{T} = \sum_{i,j} T_{ij} \hat{a}_i^\dagger \hat{a}_j \quad (2.41)$$

Die unitäre Matrix aus Gleichung 2.38 läßt sich somit darstellen als $U = \exp^{-\hat{T}}$, wobei sich die Matrix T mit Hilfe des Anregungsoperators schreiben läßt:

$$\hat{T} = \sum_{p>q} T_{pq} (\hat{E}_{pq} - \hat{E}_{qp}) \quad (2.42)$$

Somit sind zwei Operatoren (\hat{S} und \hat{T}) definiert, die gemeinsam sowohl die Variation der Orbitale als auch die der Koeffizienten beschreiben. Die variierte Wellenfunktion $|0'\rangle$ läßt sich somit als Kombination beider Operatoren darstellen:

$$|0'\rangle = \exp(\hat{T}) \exp(\hat{S}) |0\rangle \quad (2.43)$$

Mit Hilfe der obigen Gleichungen läßt sich der Ausdruck für die transformierte Energie (E') ermitteln.

$$E' = \langle 0 | \exp(-\hat{S}) \exp(-\hat{T}) H \exp(\hat{T}) \exp(\hat{S}) | 0 \rangle \quad (2.44)$$

Auch bei den CASSCF-Rechnungen erfolgt die Lösung der Gleichungen nach dem Variationsverfahren, wobei hier das Newton-Rhaphson-Verfahren angewendet wird. Dabei wird die Energie E als Funktion mehrerer Parameter p_i dargestellt, die in dem Spaltenvektor p zusammengefaßt sind, und es wird eine Taylorreihenentwicklung um p_0 durchgeführt:

$$E(p) = E(0) + \sum_i \left(\frac{\delta E}{\delta p_i} \right)_0 p_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j} p_i \left(\frac{\delta^2 E}{\delta p_i \delta p_j} \right)_0 p_j + \dots \quad (2.45)$$

Eine Darstellung dieser Gleichung als Matrix ist möglich und auch üblich.

$$E(p) = E(0) + g^\dagger p + \frac{1}{2} p^\dagger H p + \dots \quad (2.46)$$

$$\begin{vmatrix} g^{(c)} \\ g^{(o)} \end{vmatrix} + \begin{vmatrix} H^{(cc)} & H^{(co)} \\ (H^{(co)\dagger})^\dagger & H^{(oo)} \end{vmatrix} \begin{vmatrix} S \\ T \end{vmatrix} = 0 \quad (2.47)$$

Die beiden Operatoren S und T sind bereits aus Gleichung 2.37 und 2.42 bekannt. Bei der ersten Matrix (g) handelt es sich um die Gradientenmatrix, also die erste Ableitung der Energie nach den Parametern p_i . Sie ist in einen Orbital- (o) und einen Koeffiziententeil (c) aufgeteilt. Die zweite Matrix (H) ist die Hesse-Matrix, die die zweiten Ableitungen der Energie nach den Parametern p_i enthält. Die Hesse-Matrix wird in drei Teile aufgeteilt: den Orbital-Orbital Teil (oo), den Konfigurationsteil (cc) und den Orbital-Konfigurations Teil (co). Die Matrixgleichung wird iterativ gelöst, die Lösung wird als neuer Ausgangspunkt für Gleichung 2.47 gewählt und das Gleichungssystem erneut gelöst. Als Startpunkt wählt man dabei oft die Orbitale einer vorangegangenen Hartree-Fock-Rechnung. Um eine schnelle Konvergenz zu erreichen, wird ein Faktor, der sogenannte level shift, vorgegeben, welcher dafür sorgt, daß die Rotationen der Orbitale, vor allem in der Nähe der Nullstellen, nicht allzu groß werden.

2.3 Störungstheorie

Die mit dem CASSCF-Verfahren ermittelten Energiewerte sind zwar von hoher Qualität, doch kann die Genauigkeit noch vergrößert werden. Zu diesem Zweck bedient man sich der Störungstheorie^[19, 20, 21, 22], welche im Gegensatz zur CI-Methode größenkonsistent, dafür aber nicht variationell ist. Der Ausgangspunkt ist hierbei eine bereits ermittelte CASSCF-Wellenfunktion, mit der anschließend eine Störungsrechnung durchgeführt wird. Es erfolgt also eine Kombination zweier Methoden, welche eine Erweiterung der Wellenfunktion um Elemente der dynamischen Korrelation beinhaltet und somit die Korrelationsenergie verbessert. Vor allem bei der Berechnung spektroskopischer Daten hat sich diese Methode bewährt.

Bei der Störungstheorie wird zu einem Hamiltonoperator H_0 mit bekannten Eigenfunktionen und Eigenwerten eine Störung addiert.

$$H = H_0 + \lambda H_1 + \lambda^2 H_2 + \dots + \lambda^n H_n \quad (2.48)$$

Der resultierende Hamiltonoperator H ist somit die Summe des bekannten Operators H_0 und den gestörten Operatoren H_1 bis H_n . H_1 bezeichnet hierbei die Störung erster, H_2 die Störung zweiter Ordnung usw. λ ist der sogenannte Störparameter, der angibt, in welchem Maß die Störung in den resultierenden Operator eingeht. Für die Energie E und die Wellenfunktion Ψ des Systems gelten analoge Beziehungen:

$$E = E_0 + \lambda E_1 + \lambda^2 E_2 + \dots + \lambda^n E_n \quad (2.49)$$

$$\Psi = \Psi_0 + \lambda \Psi_1 + \lambda^2 \Psi_2 + \dots + \lambda^n \Psi_n \quad (2.50)$$

Wie bei allen quantenmechanischen Verfahren basiert auch die Störungstheorie auf der Lösung der Schrödingergleichung (2.1). Setzt man die obigen Gleichungen 2.48 - 2.50 in die Schrödingergleichung ein und sortiert nach den verschiedenen Potenzen des Störparameters, so lassen sich die Gleichungen in einen Satz von Gleichungen aufspalten.

$$\begin{aligned}
H_0\Psi_0 &= E_0\Psi_0 \\
(H_0 - E_0)\Psi_1 &= (E_1 - H_1)\Psi_0 \\
(H_0 - E_0)\Psi_2 &= (E_2 - H_2)\Psi_0 + (E_1 - H_1)\Psi_1 \\
&\dots
\end{aligned} \tag{2.51}$$

Wie man sieht, ist die Lösung der Störungsgleichung nullter Ordnung die Eigenfunktion Ψ_0 des ungestörten Systems. Wird der Störansatz nach der Störung zweiter Ordnung abgebrochen, so sind folgende Gleichungen zu lösen.

$$\begin{aligned}
E_1 &= \langle \Psi_0 | H_1 | \Psi_0 \rangle \\
(H_1 - E_0)\Psi_1 &= -(H_1 - E_1)\Psi_0 \\
E_2 &= \langle \Psi_1 | H_1 | \Psi_0 \rangle
\end{aligned} \tag{2.52}$$

Wie man diesen Gleichungen entnehmen kann, braucht man für eine Korrektur zweiter Ordnung der Energie also lediglich die Wellenfunktion erster Ordnung unter der Annahme, daß die gestörten Wellenfunktionen orthogonal zu Ψ_0 sind.

Bei einer üblichen störungstheoretischen Rechnung geht man davon aus, daß die Wellenfunktion Ψ_0 eine Eigenfunktion des Hartree-Fock-Operators ist. Somit läßt sich der ungestörte Hamiltonoperator H_0 mit der Eigenfunktion Ψ_0 darstellen als:

$$H_0 = P_0 F P_0 + P_x F P_x \tag{2.53}$$

Die Variable P stellt dabei den Projektionsoperator $P_0 = |\Psi_0\rangle\langle\Psi_0|$ auf die Referenzfunktion, und P_x den entsprechenden Projektionsoperator auf den restlichen Raum der Konfigurationen dar, beide wirken auf den Fockoperator F ein. Geht man allerdings von einer multikonfiguralen Referenzfunktion aus, also dem Ergebnis einer CASSCF-Rechnung, so muß der Ansatz erweitert werden. Die daraus entstehende Methode wird als Multiconfigurational-Second-Order-Perturbation-Verfahren (CAPT2) bezeichnet

Zunächst wird der vollständige Orbitalraum in vier Unterräume unterteilt.

1. V_0 : Eindimensionaler Raum, der von der Referenzfunktion $|0\rangle$ aufgespannt wird.
2. V_K : Raum, der von der orthogonalen Komponente $|K\rangle$ aufgespannt wird.

3. V_{SD} : Dieser Raum wird von allen einfach und doppelt angeregten Funktionen gebildet, die aus V_0 gebildet werden können und nicht in den Räumen 1 und 2 enthalten sind.
4. $V_{TQ\dots}$: Wird aufgespannt von allen Wellenfunktionen der Ordnung größer zwei, die nicht schon in einem der anderen Räume enthalten sind.

Analog zu den üblichen Störungsrechnungen läßt sich nun ein ähnlicher Ansatz erstellen:

$$H_0 = P_0 F P_0 + P_K F P_K + P_{SD} F P_{SD} + P_{TQ\dots} F P_{TQ\dots} \quad (2.54)$$

wobei der Projektionsoperator wie in Gleichung 2.53 wirkt und sich auf die oben beschriebenen Orbitalräume bezieht. Der Fockoperator läßt sich mit Hilfe des aus der CASSCF-Methode bekannten Anregungsoperators darstellen:

$$F = \sum_{pq} f_{pq} \hat{E}_{pq} \quad (2.55)$$

mit

$$f_{pq} = h_{pq} + \sum_{r,s} D_{rs} ((pq|rs) - \frac{1}{2}(pr|qs)) \quad (2.56)$$

In der Gleichung finden sich die aus dem CASSCF-Verfahren bekannte Dichtematrix D_{rs} und die Zwei-Elektronen-Integrale wieder. Allgemein läßt sich f_{pq} als eine 3x3-Matrix darstellen, die die drei aus der CASSCF-Methode bekannten Orbitalräume enthält (inaktiver, aktiver und virtueller Raum). Wendet man das Theorem von Brillouin an, so ist $f_{pq} = 0$,^[14] falls es sich bei den Orbitalen um ein inaktives und ein virtuelles Orbital handelt.

Ziel der Störungstheorie zweiter Ordnung ist die Berechnung der Energie zweiter Ordnung, die sich durch folgende Gleichung darstellen läßt:

$$E_2 = \sum \frac{\langle \Psi_0 | H_1 | \Psi_i \rangle}{E_0 - E_i} \quad (2.57)$$

Angenähert läßt sich für die Wellenfunktion schreiben:

$$|\psi'\rangle = |\psi_0\rangle + |\psi_1\rangle \quad (2.58)$$

Normiert man diese Wellenfunktion, so ergibt sich $\langle \psi' | \psi' \rangle = 1 + \langle \psi_1 | \psi_1 \rangle$. Die normierte Wellenfunktion aus Gleichung 2.50 läßt sich somit schreiben als:

$$|\psi\rangle = \sqrt{\omega}|\psi_0\rangle + \sqrt{1-\omega}|1\rangle \quad (2.59)$$

Dabei bezeichnet $|1\rangle$ die normierte Wellenfunktion erster Ordnung. Der Faktor ω beschreibt das Gewicht der CASSCF-Referenzfunktion und ist definiert als $\omega = (1 + S)^{-1}$. Das Gewicht der Referenzfunktion ist von der Anzahl der Elektronen abhängig und nähert sich für eine unendliche Anzahl von Elektronen dem Wert null. Angenähert kann ω als Funktion der Anzahl der Elektronen (N) beschrieben werden.

$$\omega = (1 + \alpha)^{-\frac{N}{2}} \quad (2.60)$$

Die Konstante α ist vom Basissatz abhängig und variiert zwischen 0,01 und 0,02 Hartree. Für ein System mit 10 Elektronen ist das Gewicht beispielsweise 0,93 für $\alpha = 0,015$. Ergibt eine Rechnung ein ω , welches deutlich von diesem Wert abweicht, so ist dies ein Anzeichen dafür, daß das Problem eines intruder states aufgetreten ist, bei dem es sich um Zustände aus dem V_{SD} Raum handelt. Diese wechselwirken meist nicht sehr stark mit der CASSCF-Referenzfunktion und haben deshalb lediglich einen geringen Einfluß auf die Korrelationsenergie. Ihr Eigenwert bezogen auf H_0 ist allerdings nahe dem Eigenwert für Ψ_0 . Bei einer MP2-Rechnung würde dies keinerlei Problem darstellen, bei einer CASPT2-Rechnung hingegen schon.

Der Grund hierfür ist, daß die Diagonalelemente der Fockmatrix für inaktive Orbitale an die Ionisierungsenergie und für virtuelle Orbitale an die Elektronenaffinität gekoppelt sind. Für die aktiven Orbitale erhält man entsprechend Werte, die zwischen der Ionisierungsenergie und der Elektronenaffinität liegen. Nimmt man an, daß ein aktives Orbital nur schwach besetzt ist, so kann diesem eine Energie zugeordnet werden, die nah an der eines virtuellen Orbitals liegt. Für ein stark besetztes aktives Orbital folgt daraus eine Energie, die der eines inaktiven Orbitals recht nah kommt. Als Folge davon divergiert die Energie nach Gleichung 2.57, da der Nenner fast null wird.

Eine Lösung dieses Problem wäre, das entsprechende Orbital mit in den aktiven Raum einzubeziehen. Da der aktive Raum aber aus Gründen der Rechnerkapazität meist nicht mehr als 12 Elektronen und Orbitale umfassen kann, ist dies in den meisten Fällen keine Lösung. Eine andere Möglichkeit besteht darin, einen level shift einzuführen^[23, 24]. Hierbei wird zu dem Hamiltonoperator ein kleiner Wert (ε) addiert, welcher meist in der Größenordnung von 0,05 bis 0,3 Hartree liegt:

$$(H_0 - E_0 + \varepsilon)\Psi_1 = (E_1 - H_1)\Psi_0 \quad (2.61)$$

Die Energie E'_2 zweiter Ordnung für den Hamiltonoperator, zu dem die Störung addiert wurde, läßt sich somit schreiben als:

$$E'_2 = E_2 + \varepsilon \sum_{\mu} |C'_{\mu}|^2 \left(1 + \frac{\varepsilon}{\varepsilon_{\mu} - E_0}\right) \quad (2.62)$$

Geht man davon aus, daß $\varepsilon_{\mu} - E_0 \gg \varepsilon$ ist und vernachlässigt man die Terme, in die ε quadratisch eingeht, so kann man die Energie (E_2) ohne level shift schreiben als:

$$E_2 \approx E'_2 - \varepsilon \left(\frac{1}{\omega} - 1\right) \quad (2.63)$$

Durch die Vernachlässigung von Termen höherer Ordnung, gelingt es, die intruder states aus der Rechnung zu entfernen. Testrechnungen haben gezeigt, daß sich die Einführung eines Levelshifts kaum auf die ermittelten spektroskopischen Daten auswirkt.^[24, 23, 25]

2.4 Basissätze

Zu Beginn einer jeden Rechnung ist es wichtig, daß man sich über den zu verwendenden Basissatz Gedanken macht. Dieser darf nicht zu groß sein, da die Rechnung sonst einen hohen Zeitbedarf hat und viel Speicherplatz benötigt wird. Hingegen darf er aber auch nicht zu klein gewählt werden, da sonst die Genauigkeit der Ergebnisse leidet.

Generell unterscheidet man bei den Basisfunktionen zwischen Slater- und Gaussian-Type-Orbitals (STO und GTO). In STOs ist ψ proportional zu $e^{-\xi r}$. Eine solche Funktion beschreibt sehr gut die Elektronendichte nah am Kern und weit entfernt davon. Im Gegensatz dazu gehen die GTOs quadratisch mit r , d. h. $\psi \propto e^{-\xi r^2}$. Diese Funktionen liefern keine gute Beschreibung der Elektronendichte am Atomkern, wo ihr Gradient null ist, und in größerer Entfernung vom Kern, wo sie zu schnell abflachen.

Der Nachteil der STO-Basisfunktionen ist, daß sie auf einem Atomzentrum lokalisiert sind. Für Moleküle bedeutet dies, daß die Anzahl der zu berechnenden Zwei-Elektronen-Integrale sehr groß werden kann. Dies läßt sich in den meisten Fällen nicht mit den begrenzten Rechnerkapazitäten vereinbaren.

GTOs haben den Vorteil, daß das Produkt zweier GTOs wiederum ein neues GTO ist. Geht man also von zwei GTOs auf verschiedenen Atomkernen aus, so erhält man als Produkt ein GTO, welches in der Mitte zwischen den beiden GTOs lokalisiert ist. Aus diesem Grund müssen nun nicht mehr Zwei-Elektronen-Integrale über drei oder vier Zentren gebildet werden, sondern man kann sich auf Integrale über zwei Zentren beschränken.

Die mangelhafte Qualität von GTOs gegenüber STOs wird durch die Bildung von sogenannten kontrahierten GTOs wettgemacht, wobei die kontrahierten GTOs eine Linearkombination der GTOs darstellen. Der Vorteil dabei ist, daß die Anzahl der Basisfunktionen damit deutlich reduziert werden kann. Es ist möglich, die inneren Orbitale eines Atoms, welche nicht mit in die Rechnungen einbezogen werden, mit Hilfe einer einzelnen kontrahierten Gaussfunktion zu beschreiben.

Bei den hier durchgeführten CASSCF- und CASPT2-Rechnungen wurden sogenannte atomic natural orbital-Basisätze (ANO) verwendet,^[26] die aus atomaren CI-Rechnungen optimiert wurden. Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten ANO-Basisätze beruhen auf dem Kontraktionsschema von Dunning,^[27] dabei werden zusätzliche primitive Gaussfunktionen eingeführt, um die Polarisierbarkeit der Atome/Moleküle besser zu beschreiben. Die damit erhaltenen Daten sind nahezu identisch mit denen, die man aus Rechnungen mit primitiven Basisätzen erhält.^[28, 29] Der Vorteil ist hier allerdings, daß man sehr große Basisätze verwenden kann, allerdings nur wenige ANOs für seine Rechnungen benötigt.

Bei der Hartree-Fock-Methode erhält man eine Wellenfunktion, in der die besetzten Orbitale Auskunft über die elektronische Struktur des Moleküls geben. Der Nachteil des Hartree-Fock-Verfahrens besteht darin, daß die Elektronenwech-

selwirkung nur gemittelt berücksichtigt werden. Das Konzept der Molekülorbitale ist allerdings nicht auf das Hartree-Fock-Verfahren limitiert. Die bei dem CASSCF- und CASPT2-Verfahren verwendeten natürlichen Orbitale beschreiben eine weitaus komplexere Wellenfunktion, die somit mehr Informationen über die elektronischen Gegebenheiten im Molekül liefert und zusätzlich die Korrelationsenergie mit berücksichtigt. Der Unterschied zu den Hartree-Fock-Orbitalen liegt hier vor allem in der Besetzungszahl η . Ist diese bei Hartree-Fock entweder 0, 1 oder 2, was einem unbesetzten, einfach oder doppelt besetzten Orbital entspricht, so können natürliche Orbitale auch Besetzungszahlen dazwischen annehmen, also $0 \leq \eta \leq 2$.

Kapitel 3

Thematik und Durchführung

Der Sehprozeß stellt wohl einen der faszinierendsten Vorgänge im menschlichen Körper dar. Er zeichnet sich aus durch eine Vielzahl von chemischen Reaktionen, die perfekt ineinandergreifen und äußerst präzise ablaufen. Gegenstand dieser Arbeit ist die Untersuchung einer Kernkomponente des Sehprozesses, des 11-cis-Retinal Chromophors, der durch Photoanregung in das all-trans-Isomer überführt wird. Wie schon in Kapitel 1 beschrieben, vermittelt dieser Chromophor die gesamte optische Wahrnehmung des Menschen und vieler Säugetiere. Die Komplexität des Sehprozesses wirft auch heute noch eine Vielzahl von Fragen auf.

Eine exakte theoretische Berechnung des Retinals, unter Einbeziehung der gesamten Proteinumgebung ist zur Zeit wegen der begrenzten Rechnerkapazitäten nicht möglich. Mit Hilfe moleküldynamischer Simulation ist man allerdings in der Lage, den Chromophor und große Teile der Umgebung zu beschreiben. Diese Ergebnisse sind aber zumeist nicht sehr genau und liefern wegen der Näherungen im quantenmechanischen Bereich keine verlässlichen Daten für die spektroskopischen Eigenschaften des Chromophors.

Ab initio-Verfahren, wie die in dieser Arbeit verwendeten CASSCF/CASPT2-Verfahren, geben nach den Erfahrungen, die in der Arbeitsgruppe gemacht wurden, genaue Daten für die angeregten Zustände von Polyenen, zu denen auch das Retinal gehört. Im Moment gibt es keine bessere Methode um die angeregten Zustände von π -ungesättigten Molekülen zu berechnen. Allerdings ist dieses Verfahren technisch sehr aufwendig und stellt hohe Anforderungen an die Rechnerkapazitäten. Aus diesem Grund ist es momentan nur möglich, relativ kleine Modellsysteme zu berechnen.

Um dennoch möglichst exakte Daten zu erhalten, wurde ein vereinfachender

Ansatz gewählt. Die in dieser Arbeit verwendeten Modellsysteme basieren alle auf QM/MM-Simulationen, bei denen der Chromophor in einer komplexen Proteinumgebung optimiert wurde. Dabei wurde der QM-Teil auf den Chromophor und einige wenige Aminosäuren beschränkt. Anschließend wurden für ein geeignetes kleineres Modellsystem des Chromophors die angeregten Zustände mit Hilfe der CASSCF/CASPT2-Methode berechnet. Dieses Verfahren stellt somit einen Kompromiß dar zwischen dem Bestreben, ein möglichst realitätsnahes Modell des Chromophors im Rhodopsin zu untersuchen, und dem Anspruch, quantenmechanische Berechnungen auf höchstem Niveau durchzuführen. Da die QM/MM-Simulationen des Proteins auf experimentellen Strukturen basieren, wie z. B. auf den Röntgenstrukturen des Rhodopsins von Palczewski und Okada,^[9, 30, 31] kann man davon ausgehen, daß die hier verwendeten Strukturen ein großes Maß an Übereinstimmung mit der Realität darstellen.

Die folgende Abbildung zeigt die protonierte Schiff-Base 11-cis-Retinal mit der üblichen Nummerierung der Atome, wie sie auch im folgenden verwendet wird.

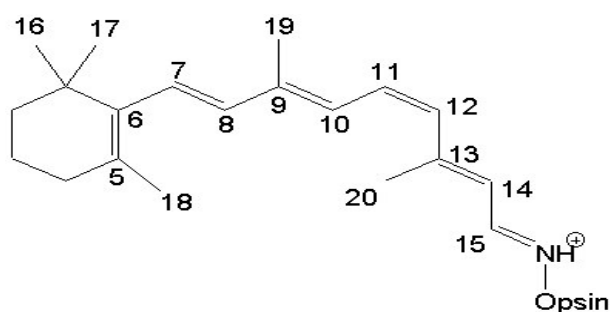


Abbildung 5: Nummerierung der Atome im Chromophor 11-cis-Retinal

Es wurden im Rahmen dieser Arbeit Modellsysteme entwickelt und untersucht, die helfen sollen, den Einfluss bestimmter Faktoren auf die Absorption zu bestimmen. Von der Proteinumgebung, vor allem vom Gegenion, ist bekannt, daß es einen wesentlichen Einfluß auf die Lage des Absorptionsmaximums hat. Mit den ausführlichen Untersuchungen in Kapitel 4.1 in Bezug auf das komplexe Gegenion wird demnach ein erster wichtiger Faktor untersucht, der einen starken Einfluß auf den Ablauf des Photozyklus haben sollte.

Es ist außerdem bekannt, daß unterschiedliche Substituenten das Absorptionsmaximum des Retinals verschieben können. In Kapitel 4.2 werden Derivate

des Retinals berechnet, die sich durch den Mehr- oder Minderbesitz von Methylgruppen an der Polyenkette vom nativen Retinal unterscheiden. Auf diese Weise soll der strukturelle und elektronische Einfluß dieser Gruppen untersucht sowie die Wechselwirkungen mit dem Gegenion ermittelt werden. Aus den gewonnenen Daten lassen sich Rückschlüsse auf die Gegebenheiten im Protein ziehen, die es ermöglichen, die Wechselwirkungen innerhalb der Proteintasche besser zu verstehen.

Des Weiteren wurde das erste stabile Photoprodukt des Rhodopsins, Bathorhodopsin, untersucht (Kapitel 4.3). Dieses speichert die Energie des Photons und gibt sie im Verlauf des Photozyklus ab, es stellt somit eine Schlüsselkomponente der Sehkaskade dar. Kenntnis über dessen Struktur und die Art der Energiespeicherung sind für das Verständnis der Vorgänge essentiell. Berechnet wurden sowohl das native Bathorhodopsin als auch dessen Derivate.

Aus der Literatur ist bekannt, daß sich die unterschiedliche Bindungsalternanz entlang der Kohlenstoffkette in einer Verschiebung des Absorptionsmaximums bemerkbar macht. Wie stark dieser Einfluß bei Rechnungen mit dem CASSCF/CASPT2-Verfahren ist, wurde bis heute noch nicht untersucht. Diese Studie ist wichtig, da in der Literatur immer wieder Daten publiziert werden, bei denen die Absorptionsmaxima von Modellsystemen zwar mit der gleichen Methode berechnet wurden (z. B. CASSCF/CASPT2), die Ergebnisse aber teilweise recht unterschiedlich sind, da die Strukturen verschieden erzeugt wurden und somit eine unterschiedliche Bindungsalternanz aufweisen. Aus den in Kapitel 4.4 vorgestellten Ergebnissen können Rückschlüsse darauf gezogen werden, inwieweit sich mit CASSCF/CASPT2 erhaltene Daten von Strukturen vergleichen lassen, die mit unterschiedlichen Methoden voroptimiert wurden.

Eine theoretische Betrachtung des Einflusses der Anzahl der berechneten Zustände (Anhang) komplettiert die Beschreibung des Rhodopsins. Die Anzahl der Zustände, die berechnet werden, ist für die ermittelten Daten genauso von Bedeutung wie die Wahl des aktiven Fensters oder des Basissatzes. Da die Berechnung jedes einzelnen Zustandes Zeit in Anspruch nimmt, möchte man so wenig Zustände wie möglich berechnen. Gleichzeitig sollte man aber darauf achten, daß mit der gewählten Anzahl die angeregten Zustände des Moleküls sinnvoll dargestellt werden können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden somit einige der Faktoren untersucht, die als Hauptursache des Opsinshifts gelten. Die erhaltenen Daten können dabei helfen,

die Größe des Einflusses der einzelnen Faktoren abzuschätzen. Die Ergebnisse liefern somit einen kleinen Beitrag dazu, die Vorgänge während des Sehprozesses genauer zu verstehen.

Alle in dieser Arbeit angegebenen Daten wurden mit dem CASSCF/CASPT2-Verfahren ermittelt, welches im Programmpaket MOLCAS^[32] implementiert ist. Der Basissatz wurde für alle Modellsysteme gleich gewählt. Für die Wasserstoffatome wurde das 2s- und für die schweren Atome (Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff) das 4s3p1d-Kontraktionsschema verwendet. Der level shift bei den CASPT2-Rechnungen betrug immer 0,3 au. Das aktive Fenster umfaßte, soweit nicht anders angegeben, stets 10 π -Orbitale und Elektronen. Dies garantiert eine möglichst umfassende Beschreibung der aktiven Zustände der gewählten Modellsysteme. Die Anzahl der berechneten Zustände lag bei sechs, was sich aufgrund der im Anhang beschriebenen theoretischen Untersuchungen als beste Anzahl erwies (siehe Anhang).

Kapitel 4

Ergebnisse

4.1 Der Einfluß der Proteinumgebung

4.1.1 Absorption des Chromophors in unterschiedlichen Proteinumgebungen (Opsinshift)

Sowohl die Zapfen- als auch die Stäbchenzellen in der Retina des menschlichen Auges enthalten den gleichen Chromophor: das in Form einer protonierten Schiff-Base vorliegende 11-cis-Retinal. Dennoch unterscheiden sich die Absorptionsmaxima des Chromophors in diesen Sehproteinen deutlich voneinander. In dem in den Stäbchenzellen vorliegenden Rhodopsin, welches für die Hell-Dunkel-Wahrnehmung verantwortlich ist, liegt das λ_{max} des 11-cis-Retinals bei 500 nm. In den Zapfenzellen hingegen, die das Farbsehen ermöglichen, absorbiert der Chromophor 11-cis-Retinal bei drei unterschiedlichen Wellenlängen (Abb. 6): in den blauen Rezeptoren liegt das Absorptionsmaximum bei 420 nm, in den grünen bei 530 nm und in den roten Rezeptoren bei 560 nm.^[33]

Ein und derselbe Chromophor absorbiert also, in vier unterschiedliche Proteine eingebaut, in einem Wellenlängenbereich von 420 - 560 nm. Im Vergleich dazu absorbiert die freie protonierte Schiff-Base 11-cis-Retinal in methanolischer Lösung bei 440 nm.^[12] Die Verschiebung von 440 nm in Methanol zu einem der Werte im Protein bezeichnet man als Opsinshift. Für das Rhodopsin bedeutet dies, daß ein Opsinshift von 60 nm zu längeren Wellenlängen auftritt. Wodurch wird diese Verschiebung verursacht?

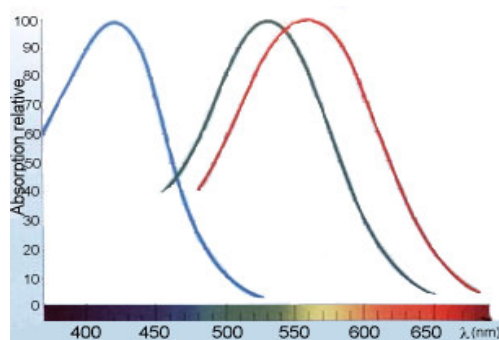


Abbildung 6: Die Absorptionsmaxima des 11-cis-Retinals in den Zapfenzellen

In den Stäbchen- und Zapfenzellen liegt zwar der gleiche Chromophor vor, doch unterscheiden sich die Proteine sowohl in der Sequenz der Aminosäuren (Primärstruktur), als auch in deren räumlicher Anordnung (Sekundär- und Tertiärstruktur). Die logische Schlussfolgerung daraus ist, daß der Opsinshift durch die unterschiedliche Proteinumgebung des Chromophors verursacht werden muß. Der Chromophor paßt sich der jeweiligen Proteintasche an, weshalb es beispielsweise zu Änderungen der Konformation kommt, also zu Änderungen von Bindungslängen, Bindungswinkeln sowie Diederwinkeln. Diese strukturellen Änderungen können einen mehr oder weniger großen Beitrag zur Verschiebung der Absorptionsmaxima liefern.

Die Hauptursachen der Opsinverschiebung dürften allerdings in den unterschiedlichen Wechselwirkungen des Chromophors mit der Umgebung innerhalb der Proteintasche zu suchen sein. Dabei handelt es sich um elektrostatische Wechselwirkungen mit den umgebenden Aminosäuren, die zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums führen. Die Natur dieser Wechselwirkungen wurde zunächst anhand von theoretischen Berechnungen ermittelt. Mehrere Untersuchungen^[34, 35, 36] ergaben, daß die protonierte und deswegen positiv geladene Schiff-Base im Rhodopsin mit einer oder mehreren negativen Ladungen in Wechselwirkung treten muß. Eine andere Erklärung konnte es für das Auftreten eines derartig großen bathochromen Shifts von 60 nm nicht geben. Die Lage der negativen Ladung, also des Gegenions, wurde ebenfalls anhand von Berechnungen mit Cl^- simuliert.^[37] Dabei wurde die Position des Gegenions mit etwa 300 pm vom C12-Atom festgelegt. Andere Untersuchungen^[36, 38, 39, 40] bestätigen dies und lokalisierten das Gegenion ebenfalls in die Nähe des C12-Atoms.

Durch die Darstellung verschiedener Mutanten des Rhodopsins, in denen ein-

zelne oder mehrere Aminosäuren ausgetauscht wurden, und die Untersuchung des Photozyklus dieser Mutanten konnte letztlich Glutamat 113 (Glu113) als Gegenion der protonierten Schiff-Base identifiziert werden.^[41, 42, 43, 44] Die Kristallstruktur des Rhodopsins, die im Jahr 2000 zunächst von Palczewski und später von anderen bestimmt wurde,^[9, 30, 31, 45] bestätigte schließlich diesen Befund; Glu113 befindet sich in einem Abstand von 390 pm vom Stickstoffatom entfernt. Die Konfiguration des Chromophors ist dabei 6-s-cis, mit einem Torsionswinkel von etwa -30° ^[46, 47, 48] 12-s-trans.^[47, 49, 50]

Auf der Grundlage von QM/MM-Simulationen fanden Sugihara et al.,^[51, 52, 53] daß das Glu113 zusammen mit einem Wassermolekül (wat2b) und Threonin 94 (Thr94) ein komplexes Gegenion bildet. Dies wurde bereits vorher aufgrund von experimentellen Befunden und anderen theoretischen Untersuchungen vermutet.^[54, 55, 56, 57]

Durch ein Netzwerk von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Chromophor, dem Gegenion Glu113, Thr94 und einem Wassermolekül (wat2b) wird die Basizität des Carboxylations soweit herabgesetzt, daß die Schiff-Base protoniert bleibt.^[58, 59]

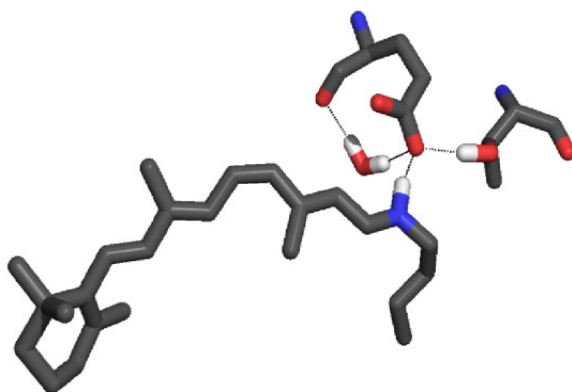


Abbildung 7: Der Retinalchromophor bildet mit dem Gegenion Glu113, Thr94 und einem Wassermolekül (wat2b) ein Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen, welches die protonierte Schiff-Base stabilisiert.^[51]

In weiteren Simulationen entfernte Sugihara einzelne oder mehrere Gruppen des Netzwerkes, um zu ermitteln, ob die verbleibenden Gruppen in der Lage sind, die protonierte Schiff-Base weiterhin zu stabilisieren. Wird wat2b entfernt, so ändert

sich die Stabilität der protonierten Schiff-Base kaum. Entfernt man hingegen das Threonin, so fängt der an den Stickstoff gebundene Wasserstoff an zu oszillieren und nähert sich dem Carboxylation, das heißt der Chromophor wird deprotoniert. Ohne Wat2b und Thr94 kommt es zu einer sofortigen Deprotonierung der Schiff-Base. Die Basizität des Gegenions wird durch die fehlende Wasserstoffbrücke so verstärkt, daß das Proton sofort von dem Chromophor zur stärkeren Base Glu113 wechselt.

Die Funktion des Glu113 als Gegenion der Schiff-Base ist noch nicht vollständig geklärt. Gleiches gilt für die Rolle des Netzwerkes aus Wasserstoffbrücken, das sich ausbildet und somit die Schiff-Base stabilisiert. Eine wichtige Frage ist, ob und in welchem Ausmaß die verminderte Stabilität der protonierten Schiff-Base die Absorption des Chromophors beeinflusst. Aus diesem Grund wurde der Einfluß des komplexen Gegenions auf die Absorption und Struktur der protonierten Schiff-Base untersucht.

4.1.2 Modellsysteme des Retinals mit unterschiedlichem komplexem Gegenion

Die berechneten Modelle basieren alle auf einer QM/MM-Simulation der gesamten Proteintasche, wobei der QM-Teil den Chromophor in Gegenwart von verschiedenen Kombinationen des komplexen Gegenions umfaßt. Verwendet wurde hier das Vienna-Ab-Initio-Simulation-Package (VASP), mit einer auf Dichtefunktionaltheorie (DFT) basierten Moleküldynamik. Als Ausgangspunkt der Struktur wurde die 2,8-Ångström Kristallstruktur gewählt.^[30]

Eine vollständige Beschreibung der angeregten Zustände des Systems (gesamter Chromophor plus komplexes Gegenion) mit CASSF/CASPT2 ist rechnerisch relativ aufwendig. Aus diesem Grund wurde ein vereinfachter Modellchromophor gewählt, in dem der β -Iononring abgeschnitten und die Valenz mit Wasserstoff gesättigt wurde. Aus Vergleichsrechnungen ist bekannt, daß der Ring die Absorption um einen konstanten Betrag (56 nm) zu längeren Wellenlängen verschiebt.^[60] Er kann also bei den Rechnungen vernachlässigt werden, da er auf alle Systeme einen vergleichbaren Einfluß hat. Die Stickstoff-Lys296 Bindung wurde ebenfalls gebrochen, und die freien Valenzen wurden durch Wasserstoffatome gesättigt.

Der Modellchromophor besteht nun aus einer Kette mit fünf Doppelbindungen. Glu113 wurde durch ein Formiatanion ersetzt, das mit seiner freien Car-

boxylatgruppe mit dem Chromophor in Wechselwirkung tritt. Der Abstand des Gegenions zum Stickstoff des Chromophors betrug dabei etwa 350 pm, mit einem Kohlenstoff-Sauerstoffabstand um die 125 bzw. 130 pm. Der Sauerstoff-Kohlenstoff-Sauerstoff Winkel lag dabei stets um die 125 Grad.

Das bestehende Netzwerk aus Wasserstoffbrücken, das hier für die Protonierung des Chromophors sorgt, wurde ebenfalls berücksichtigt und zwar in der Form von Thr94 und wat2b. Thr94 wurde dabei vereinfachend durch ein Wassermolekül ersetzt und somit das Netzwerk der Wasserstoffbrücken erhalten.

Unter diesen Annahmen wurde ein realitätsnahes Modell des Retinalchromophors in der Bindungstasche des Rhodopsins entwickelt (Abb. 8). Eine Schwäche des gewählten Modells besteht darin, daß die Chromophore annähernd planar sind und deswegen nicht die realen Verhältnisse im Rhodopsin widerspiegeln. Die planare Geometrie resultiert aus den MD-Simulationen, die zur Generierung der Modelle notwendig waren. Da der Retinalchromophor lediglich in Gegenwart der für diese Studie relevanten Aminosäuren und somit außerhalb seiner natürlichen Umgebung optimiert wurde, fehlt der Einfluß der Bindungstasche, der zur Verdrillung des Chromophors führt. Da jedoch alle Chromophore dieser Studie planar sind, wirkt sich der Effekt der nicht vorhandenen Torsion auf die spektroskopischen Daten aller Chromophore in gleicher Weise aus. Ein Vergleich der ermittelten Daten untereinander kann deshalb ohne Probleme erfolgen, lediglich bei der Betrachtung der absoluten Werte ist Vorsicht geboten.

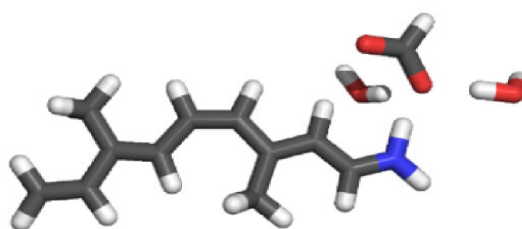


Abbildung 8: Modellchromophor des Systems pSb1 (protonierte Schiff-Base)

Insgesamt wurden sechs verschiedene Modellsysteme erzeugt, welche unterschiedliche Kombinationen des Chromophors mit Glu113, wat2b und Thr94 repräsentieren. Die Modelle sind in Tabelle 1 beschrieben. Um Vergleichswerte zu erhalten,

wurden alle Strukturen auch ohne Gegenion berechnet. Die Anzahl der berechneten Zustände betrug jeweils sechs. Die Strukturen wurden jedoch auch mit vier und fünf Zuständen berechnet. Die Daten hierzu sind im Anhang zusammen mit einer Diskussion, welchen Einfluß die Änderung der Zustandszahl nach sich zieht, zu finden.

Tabelle 1: Abkürzungen der Modellsysteme mit unterschiedlichem komplexen Gegenionen

Modell	Zusammensetzung
pSb	freie protonierte Schiff-Base
pSb1	pSb mit Formiatanion, wat2b und H_2O
pSb2	pSb mit Formiatanion und H_2O
pSb3	pSb mit Formiatanion und wat2b
Sb1	nicht protonierte Sb mit protoniertem Formiat
Sb	freie nicht protonierte Schiff-Base

4.1.3 Strukturelle Merkmale der Modelle

Das negativ geladene Gegenion beeinflusst die Elektronenstruktur des Chromophors und somit auch dessen Struktur.^[61] Der größte Effekt besteht in der Änderung der Bindungslängen (Abb. 9).

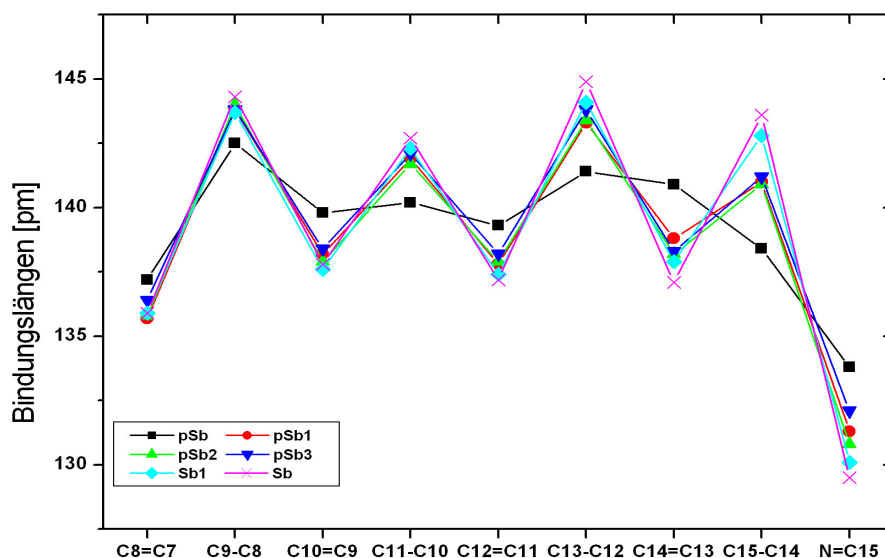


Abbildung 9: Die Bindungslängen des Chromophors in Gegenwart der unterschiedlichen komplexen Gegenionen

Die deprotonierte Schiff-Base (Sb) weist eine deutliche Bindungsalternanz auf, mit Doppelbindungen von etwa 137 pm und Einfachbindungenlängen von etwa 144 pm. Wird das protonierte, also neutrale, Gegenion hinzu gesetzt, so kommt es zu einer geringen Verlängerung der Doppelbindungen und einer ebenfalls schwachen Verkürzung der Einfachbindungen. Der Einfluß des Gegenions in seiner neutralen Form auf die Struktur des ungeladenen Chromophors ist demnach sehr gering.

Bei der freien protonierten Schiff-Base (pSb) fällt hingegen auf, daß die Bindungsalternanz stark abgeschwächt ist. Die formalen Einfach- und Doppelbindungen haben angenähert die gleiche Länge. Der Grund dafür ist die positive Ladung, die der Chromophor durch die Protonierung erhält.

Die positive Ladung wird formal dem Stickstoffatom zugeordnet, kann allerdings über den gesamten Chromophor delokalisiert werden, wie durch die Resonanzstrukturen in Abb. 10 angedeutet wird.

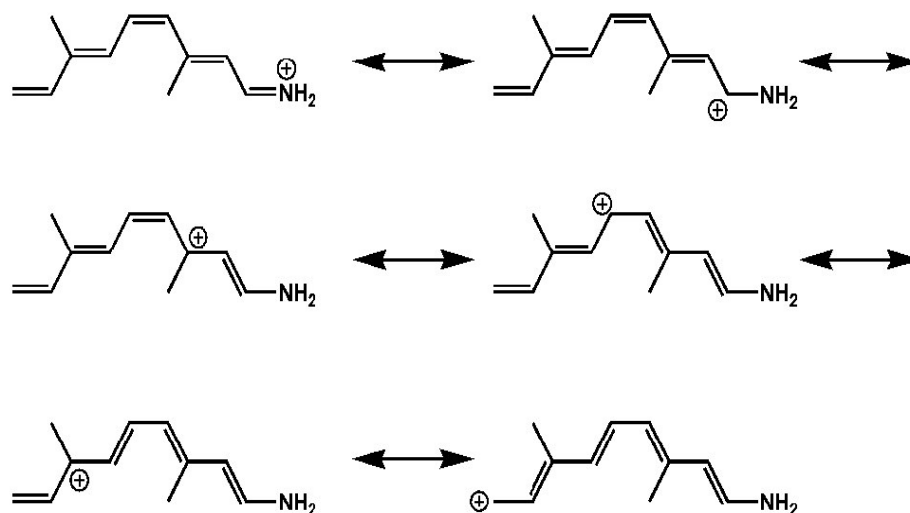


Abbildung 10: Resonanzstrukturen des Modellchromophoren

Dadurch resultiert eine Verkürzung der Einfach- und eine Verlängerung der Doppelbindungen, wodurch letztlich die Unterscheidung zwischen diesen beiden Bindungsformen verhindert und eine Lokalisierung der Doppelbindungen unmöglich wird.^[62] Die Tatsache das die Alternanz vor allem am Stickstoff sehr gering ist,

steht im Einklang mit kürzlich publizierten NMR Daten.^[63, 64] In den Strukturen pSb1 bis pSb3 ist die Schiff-Base protoniert. Man kann also zunächst davon ausgehen, daß die positive Ladung auch hier über den gesamten Chromophor delokalisiert wird und die Bindungsalternanz stark reduziert ist. Wie Abbildung 9 zeigt, sind die Bindungslängen dieser Strukturen allerdings in der Realität sehr unterschiedlich, weisen also eine deutliche Alternanz auf. Die positive Ladung scheint demnach nicht über den gesamten Chromophor verteilt zu sein, sondern ist vielmehr graduell am Stickstoffatom lokalisiert, was zu einer deutlichen Ausprägung von Einfach- und Doppelbindungen führt. Die ersten drei der in Abbildung 10 dargestellten Resonanzstrukturen erhalten mehr Gewicht, was anhand der Ladungsverteilung (Abb. 11) in den berechneten Strukturen bestätigt wird.

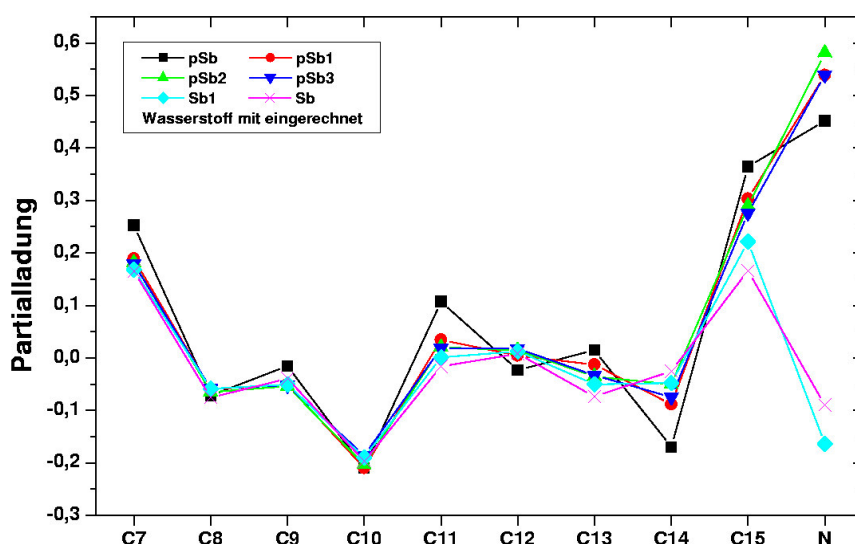


Abbildung 11: Die Partialladungen der schweren Atome des Chromophors in den verschiedenen Modellsystemen

Die Strukturen pSb1 bis pSb3 weisen eine deutlich größere positive Partialladung am Stickstoffatom und am Kohlenstoffatom 14 auf, als dies in der freien protonierten Schiff-Base der Fall ist. Hingegen ist die positive Ladung in der freien protonierten Schiff-Base eher auf den Kohlenstoffatomen 11, 9 und 7 lokalisiert, also weiter entfernt vom Stickstoffatom. Die Ursache für die Ladungsverteilung in den Strukturen mit Gegenion und die daraus resultierenden Bindungslängen

ist im negativ geladenen Gegenion zu sehen, das durch elektrostatische Wechselwirkung die positive Ladung am Stickstoffatom fixiert. Durch das Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen wird die protonierte Schiff-Base mit ihrer Elektronenverteilung zusätzlich stabilisiert.

4.1.4 Spektroskopische Daten der Modelle

Für die beiden Modelle pSb und Sb mit unterschiedlichem komplexem Gegenion wurden der Grundzustand und die ersten fünf angeregten Zustände berechnet. In Tabelle 2 sind die Energien der verschiedenen Grundzustände und die spektralen Parameter der ersten beiden angeregten Zustände ebenso angegeben wie die wichtigsten Konfigurationen, aus denen sich die Zustände zusammensetzen.

Tabelle 2: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b, Dipolmomente der protonierten und deprotonierten Modellchromophore mit unterschiedlichem komplexem Gegenion

	CASSCF			CASPT2			Gewicht	μ Deb
	Energie au	f	Zustand	Energie au	f	Konfiguration		
pSb	-480,2333		S_0	-481,7584		$(4a)^2(5a)^2$	80	11,35
	2,96 (418)	1,67	S_1	2,39 (519)	1,34	$(5a)^1(6a)^1$	67	5,80
	3,48 (357)	0,04	S_2	3,01 (412)	0,04	$(5a)^1(7a)^1$	14	11,00
						$(4a)^1(6a)^1$	25	
						$(5a)^0(6a)^2$	26	
pSb1	-820,7781		S_0	-823,2769		$(4a)^2(5a)^2$	68	9,27
	5,10 (243)	1,49	S_1	3,18 (390)	0,93	$(5a)^1(6a)^1$	54	18,52
	3,77 (329)	0,01	S_2	3,32 (374)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	14	9,23
						$(4a)^1(6a)^1$	18	
						$(5a)^0(6a)^2$	32	
pSb2	-744,7270		S_0	-747,0087		$(4a)^2(5a)^2$	68	9,81
	5,21 (238)	1,63	S_1	3,12 (398)	0,98	$(5a)^1(6a)^1$	66	19,10
	3,80 (327)	0,01	S_2	3,34 (371)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	14	9,83
						$(4a)^1(6a)^1$	18	
						$(5a)^0(6a)^2$	32	
pSb3	-744,7303		S_0	-747,0130		$(4a)^2(5a)^2$	75	7,00
	5,20 (239)	1,61	S_2	3,11 (399)	0,96	$(5a)^1(6a)^1$	65	14,33
	3,70 (335)	0,01	S_3	3,25 (382)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15	6,81
						$(4a)^1(6a)^1$	17	
						$(5a)^0(6a)^2$	32	

Sb1	-668,7016		S_0	-670,7567		$(4a)^2(5a)^2$	75	4,04
	5,85 (212)	1,73	S_1	3,44 (361)	1,02	$(5a)^1(6a)^1$	73	7,98
	3,91 (317)	0,00	S_2	3,48 (356)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15	4,03
						$(4a)^1(6a)^1$	19	
						$(5a)^0(6a)^2$	31	
Sb	-479,8753		S_0	-481,3708		$(4a)^2(5a)^2$	71	2,10
	6,14 (202)	1,52	S_2	3,90 (318)	0,97	$(5a)^1(6a)^1$	63	3,65
	4,04 (307)	0,00	S_1	3,62 (342)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15	2,17
						$(4a)^1(6a)^1$	18	
						$(5a)^0(6a)^2$	29	

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Der Grundzustand (S_0 -Zustand) wird in allen Strukturen von der $(4a)^2(5a)^2$ Konfiguration dominiert. Das heißt, die energieniedrigsten Orbitale sind stets doppelt besetzt (closed shell). Für den ersten angeregten Zustand, den S_1 -Zustand (S_2 für Sb), hat die Konfiguration $(5a)^1(6a)^1$ das größte Gewicht, in der ein Elektron aus dem HOMO (5a) in das LUMO (6a) angeregt wird. Das Gewicht dieser Konfiguration liegt hier zwischen 54 und 73%.

Der zweite angeregte Zustand S_2 (S_1 bei Sb) wird bei den Modellchromophoren durch drei verschiedene Konfigurationen beschrieben. Es handelt sich hierbei um die HOMO \rightarrow LUMO+1 (14 - 15%), die HOMO-1 \rightarrow LUMO (17 - 25%) Einfachanregungen, und die HOMO \rightarrow LUMO Zweifachanregung (26 - 32%).

In den nicht protonierten Schiff-Basen Sb1 und Sb besitzt der Stickstoff ein freies nicht bindendes Elektronenpaar (n-Elektronen), dessen Elektronen ebenfalls angeregt werden können. Als Folge davon treten n- π^* -Übergänge auf, die in den experimentellen Spektren meist überhaupt nicht oder nur sehr schwach zu erkennen sind, da sie zumeist unter der intensiven $\pi - \pi^*$ -Bande verborgen sind.^[65] Um eine genauere Beschreibung der Modelle der nicht protonierten Schiff-Basen zu erreichen, wurden für diese Modellsysteme noch Rechnungen unter Hinzunahme des freien Elektronenpaares durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Modelle mit acht Zuständen berechnet, wobei das aktive Fenster auf 12 Elektronen und 11 Orbitale erweitert wurde, was einer Berücksichtigung des freien Elektronenpaares am Stickstoff entspricht. Die resultierenden Daten sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f), die dominierenden Konfigurationen^b und die Dipolmomente der deprotonierten Modellchromophore unter Berücksichtigung des freien Elektronenpaares

	CASSCF		state	CASPT2		Konfiguration	Gewicht	μ Deb
	Energie au	f		Energie au	f			
Sb1n	-668,7013		S_0	-670,7567		$(n)^2(4a)^2(5a)^2$	75	4,04
	5,27 (235)	0,00	$n - \pi^*$	4,47 (277)	0,00	$(n)^1(5a)^2(6a)^1$	73	3,89
	5,87 (211)	1,67	S_2	3,47 (357)	0,99	$(n)^2(5a)^1(6a)^1$	70	7,82
	3,90 (318)	0,00	S_3	3,48 (356)	0,00	$(n)^2(5a)^1(7a)^1$	15	4,03
						$(n)^2(4a)^1(6a)^1$	18	
						$(n)^2(5a)^0(6a)^2$	31	
Sbn	-820,7781		S_0	-481,3806		$(n)^2(4a)^2(5a)^2$	68	2,13
	4,51 (275)	0,01	$n - \pi^*$	3,94 (315)	0,00	$(n)^1(5a)^2(6a)^1$	74	2,55
	6,16 (201)	1,49	S_2	3,80 (326)	1,02	$(n)^2(5a)^1(6a)^1$	70	3,94
	4,04 (307)	0,01	S_1	3,62 (342)	0,01	$(n)^2(5a)^1(7a)^1$	15	2,22
						$(n)^2(4a)^1(6a)^1$	19	
					$(n)^2(5a)^0(6a)^2$	31		

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Vergleicht man die Daten für die deprotonierten Schiff-Basen mit und ohne $n - \pi^*$ -Übergang, so stellt man fest, daß die Unterschiede sehr gering sind. Der HOMO \rightarrow LUMO Übergang wird bei Berücksichtigung des freien Elektronenpaares um einige nm verschoben, was aber eher an der Anzahl der Zustände liegen könnte, die berechnet wurden. Die Energien für sämtliche Zustände verschieben sich nämlich leicht, wenn mehr Zustände berechnet werden (siehe auch Anhang). Bei der Berechnung des $\pi - \pi^*$ -Überganges scheint es keine Rolle zu spielen, ob das freie Elektronenpaar mit in die Rechnung einbezogen wird oder nicht. Dennoch stellen die in Tabelle 3 dargestellten Daten eine genauere Beschreibung der deprotonierten Systeme dar. Im folgenden wird deshalb nur auf die Daten der deprotonierten Schiff-Basen mit $n - \pi^*$ -Übergang eingegangen.

In Abbildung 12 sind die Energien des S_1 - und S_2 -Zustandes relativ zum Grundzustand S_0 in Abhängigkeit vom Gegenion aufgetragen. Der Einfluß des Gegenions ist deutlich zu erkennen:^[66, 67, 68] die Absorptionsmaxima der protonierten Schiff-Basen werden um mehr als 100 nm zu kürzeren Wellenlängen verschoben, wenn das Gegenion mit in die Rechnung einbezogen wird.

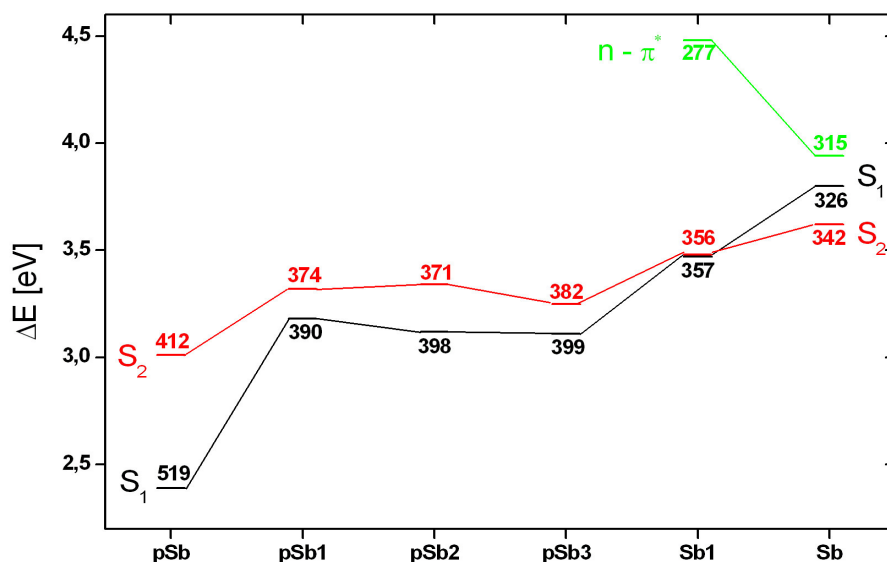


Abbildung 12: Die Absorptionen der Modellsysteme

Das komplexe Gegenion (pSb1: Glu113, Thr94 und wat2b) sorgt dabei für einen Shift von 120 nm. Werden wat2b oder Thr94 aus dem System entfernt (pSb2, pSb3), so verschiebt sich das Absorptionsmaximum um 8-9 nm zu längeren Wellenlängen, da die protonierte Schiff-Base etwas destabilisiert wird. Somit kommt es zu einer veränderten Ladungsverteilung im Chromophor, die sich in der leichten Verschiebung von λ_{max} äußert.^[35, 69, 70] Bei der deprotonierten Schiff-Base kommt es zu einer Verschiebung von etwa 20 nm zu längeren Wellenlängen, wenn das protonierte Gegenion hinzugesetzt wird. Im Gegensatz zur protonierten Schiff-Base interagieren hier lediglich zwei Moleküle und nicht zwei Ionen, was zur Folge hat, daß die Wechselwirkung geringer ist.

Insgesamt verschiebt das Gegenion den Wellenlängenbereich, in dem der Chromophor absorbiert, in den Bereich von 400 bis 340 nm. Der $n - \pi^*$ -Übergang wird ebenfalls vom Gegenion beeinflusst, und zwar kommt es zu einer kurzwelligen Verschiebung von etwa 40 nm.

Der Energieunterschied zwischen dem S_1 - und S_2 -Zustand nimmt in Gegenwart des Gegenions ab. Im Fall der Sb1 Struktur kommt es zu einer Entartung der beiden Zustände S_2 und S_3 , welche als S_1 bzw. S_2 aufgetragen wurden. In der freien deprotonierten Schiff-Base (Sb) liegt der verbotene Zustand, der die zweifache HOMO \rightarrow LUMO Anregung beinhaltet (S_1 , 342 nm) energetisch unter

dem erlaubten HOMO \rightarrow LUMO Übergang (S_2 , 326 nm). Der Grund dafür liegt in der Invertierung der beiden Zustände in der CASSCF-Rechnung (Tabelle 3). Hier kommt es zu einer starken Destabilisierung des HOMO \rightarrow LUMO Überganges im Vergleich zu dem nächsthöher liegenden Zustand (HOMO \rightarrow LUMO+1; HOMO-1 \rightarrow LUMO; doppelte HOMO \rightarrow LUMO Anregung). Diese Invertierung wird bei der CASPT2-Rechnung nur teilweise aufgehoben. Bei der Auftragung der Zustände wurde der S_2 - als S_1 -Zustand bzw. der S_1 - als S_2 -Zustand bezeichnet, damit ein Vergleich mit den Zuständen der protonierten Basen gegeben ist.

Eine solche Inversion der Zustände läßt sich auch im Polyen 1,3,5,7-Octatetraene beobachten.^[71] Bei diesem Polyen mit vier Doppelbindungen liegt der verbotene 1A_g -Zustand 15 nm unter dem erlaubten 1B_u -Zustand. Die Strukturen Sb ähneln somit also mehr einem Polyen als einer Schiff-Base.

Wie bereits zuvor beschrieben, sorgt die Einführung eines Gegenions für eine Veränderung der Struktur, was sich besonders in der Bindungslängenalternanz ausdrückt. Die Frage, die sich nun stellt, ist die, ob die Verschiebung des Absorptionsmaximums durch die elektrostatische Wechselwirkung zwischen Gegenion und Chromophor oder durch die Änderung der Bindungslängen verursacht wird. Aus diesem Grund wurden die unveränderten Strukturen pSb1 bis pSb3 und Sb1 ebenfalls ohne Gegenion berechnet. In Tabelle 4 sind die Daten dieser Referenzstrukturen dargestellt.

Tabelle 4: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f), Dipolmomente und die dominierenden Konfigurationen^b der Modellchromophore ohne komplexes Gegenion

	CASSCF		state	CASPT2				
	Energie au	f		Energie au	f	Konfiguration	Gewicht	μ Deb
pSb1	-480,2318		S_0	-481,7555		$(4a)^2(5a)^2$	81	13,28
ref	3,15 (393)	1,38	S_1	2,45 (506)	1,08	$(5a)^1(6a)^1$	65	6,04
	3,84 (323)	0,22	S_2	3,28 (378)	0,19	$(5a)^1(6a)^1$	18	10,68
						$(4a)^1(6a)^1$	25	
						$(5a)^0(6a)^2$	16	
pSb2	-480,2272		S_0	-481,7513		$(4a)^2(5a)^2$	81	13,44
ref	3,16 (393)	1,35	S_1	2,45 (506)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	65	6,09
	3,85 (322)	0,24	S_2	3,29 (377)	0,21	$(5a)^1(6a)^1$	18	10,59
						$(4a)^1(6a)^1$	24	
						$(5a)^0(6a)^2$	15	

pSb3	-480,2286		S_0	-481,7537		$(4a)^2(5a)^2$	80	13,21
ref	3,09 (401)	1,35	S_1	2,42 (513)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	64	5,72
	3,77 (329)	0,24	S_2	3,22 (385)	0,21	$(5a)^1(6a)^1$	19	10,23
						$(4a)^1(6a)^1$	24	
						$(5a)^0(6a)^2$	15	
Sb1n	-479,8705		S_0	-481,3778		$(n)^2(4a)^2(5a)^2$	75	2,17
ref	4,32 (287)	0,00	$n - \pi^*$	3,77 (329)	0,00	$(n)^1(5a)^2(6a)^1$	74	2,51
	6,07 (204)	1,79	S_2	3,61 (344)	1,06	$(n)^2(5a)^1(6a)^1$	73	4,53
	3,91 (317)	0,00	S_1	3,52 (352)	0,00	$(n)^2(5a)^1(7a)^1$	15	2,28
						$(n)^2(4a)^1(6a)^1$	19	
					$(n)^2(5a)^0(6a)^2$	31		

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Die Bedeutung der obigen Daten wird durch Abb. 13 illustriert.

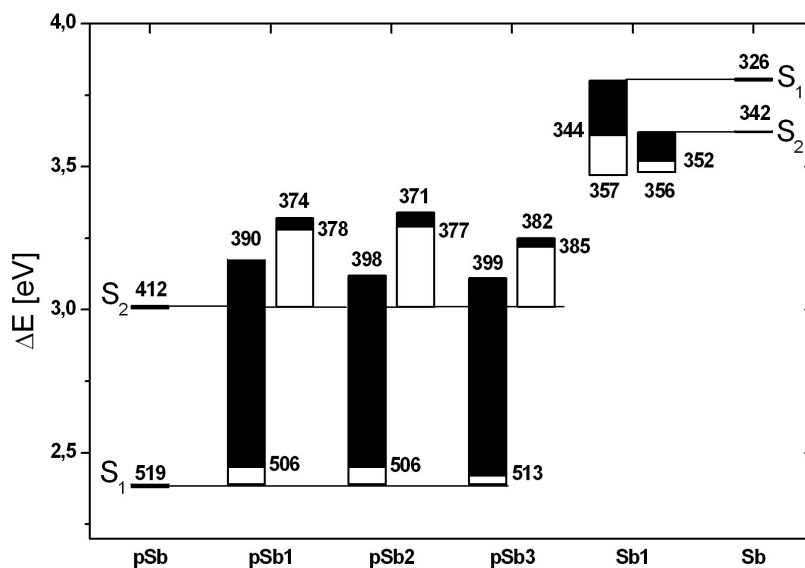


Abbildung 13: Die Absorptionen der Modellsysteme mit und ohne Gegenion. Die schwarzen Balken zeigen die Absorption der Modelle mit, die weißen die der Modelle ohne Gegenion.

Dort sind die HOMO \rightarrow LUMO Übergänge und die S_2 -Zustände der Strukturen mit Gegenion und der Referenzstrukturen gemeinsam aufgetragen. Die weißen Balken stehen für die Verschiebung des Absorptionsmaximums durch Änderung

der Struktur, die schwarzen für die elektrostatische Wechselwirkung des Chromophors mit dem Gegenion.

Die freie protonierte Schiff-Base zeigt keine Bindungsalternanz (Abb. 9) und absorbiert bei 519 nm. Als Vergleich dazu sind die Referenzstrukturen pSb1 bis pSb3 zu sehen, die im Gegensatz zu der pSb Struktur eine deutliche Bindungsalternanz aufweisen. Die Verschiebung des Absorptionsmaximums durch diese strukturellen Veränderungen beträgt allerdings nur zwischen 6 und 13 nm (weiße Balken). Der Einfluß der Bindungsalternanz auf die Absorption scheint demnach nicht sehr stark zu sein, wenn man den nackten Chromophor ohne Gegenion betrachtet. Im Gegensatz dazu wirkt sich die Wechselwirkung zwischen Chromophor und Gegenion (schwarze Balken) wesentlich deutlicher auf die Absorption aus. Der Hauptbeitrag des absoluten hypsochromen Shifts von ca. 110 nm wird demnach durch elektrostatische Wechselwirkung zwischen dem positiv geladenen Chromophor und dem negativ geladenen Gegenion verursacht. Aus diesem Grund ist der Einfluß dieser Wechselwirkung auf die Absorption bei den deprotonierten Modellsystemen (Sb, Sb1) wesentlich geringer, da es sich hier um ungeladene Moleküle handelt. Diese Vermutung wird bestätigt, wenn man zusätzlich die Dipolmomente der Modelle betrachtet (Abb. 14 und Tabelle 2, 3 und 4).

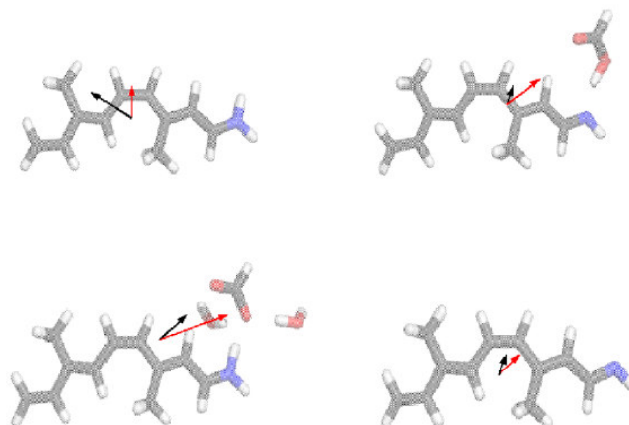
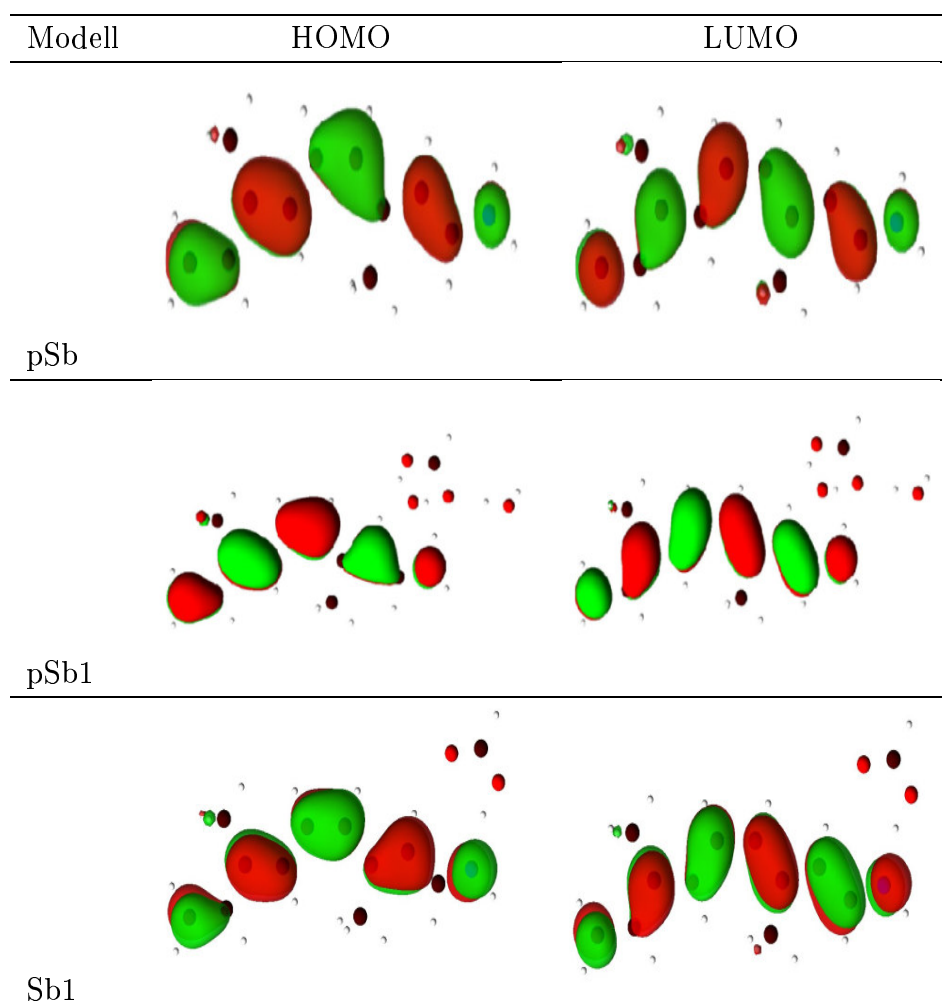


Abbildung 14: Dipolmomente der Modelle; Moment des S_0 -Zustandes (schwarze Pfeile), Moment des HOMO-LUMO Überganges (rote Pfeile); Pfeile weisen vom Zentrum der positiven zum Zentrum der negativen Ladung; oben: pSb (links), Sb1 (rechts); unten: pSb1 (links), Sb (rechts)

Die Dipolmomente des Grundzustandes sind durch einen schwarzen, die des ersten angeregten Zustandes durch einen roten Pfeil gekennzeichnet. Entgegen der

Konvention zeigt der Pfeil hier vom positiven zum negativen Ende. Deutlich zu erkennen ist bei allen Modellen eine Verschiebung der negativen Ladung in Richtung des Stickstoffatoms während der Anregung. Der Shift ist größer, wenn die Schiff-Base protoniert ist, wenn es also zu Wechselwirkung zwischen geladenen Molekülen kommt. Im Vergleich dazu ist die Ladungsverschiebung wesentlich geringer, wenn zwei ungeladene Moleküle miteinander wechselwirken.

Eine Betrachtung der Orbitale der Modelle unterstützt diese These weiter. In Abbildung 15 sind das HOMO und das LUMO einiger Modellchromophore dargestellt.



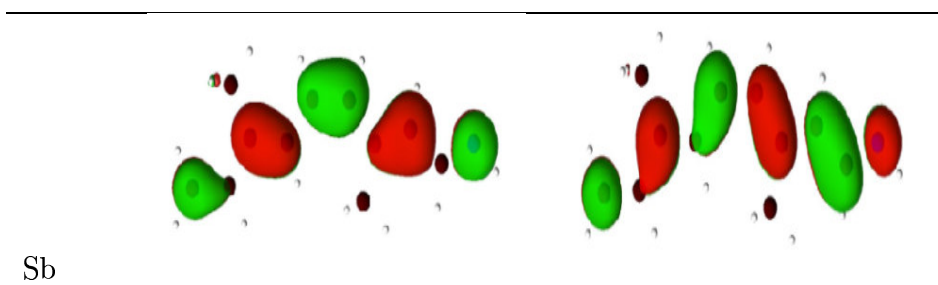


Abbildung 15: HOMO (links) und LUMO (rechts) der Modellchromophore pSb, pSb1, Sb1 und Sb

Zunächst ist bei allen untersuchten Strukturen eine deutliche Verschiebung der Elektronendichte vom C-terminalen Ende zum Stickstoffatom zu bemerken. Bei einem Vergleich des HOMOs und des LUMOs der Modellsysteme pSb und pSb1 fällt auf, daß sich die Orbitale durch die Anwesenheit des Gegenions verändern. Die Elektronendichte scheint in dem Modell mit Gegenion nicht mehr soweit vom Stickstoffatom delokalisiert zu sein, was im Einklang mit der Ladungsverteilung in Abb. 11 steht. Generell kommt es zu einer Verschiebung der Elektronendichte in Richtung des Stickstoffs und des Gegenions. Dasselbe Phänomen zeigt sich bei den Strukturen pSb2 und pSb3, deren Orbitale in Abb 15 nicht dargestellt sind. Bei der deprotonierten Schiff-Base wirkt sich die Anwesenheit des protonierten Gegenions nicht so stark auf die Orbitale aus. Es treten keine Ladungen, sondern lediglich Moleküle in Wechselwirkung. Zwischen den Orbitalen der Modellchromophore Sb und pSb ist nur ein geringer Unterschied zu erkennen. Die Elektronendichte scheint bei dem Modellchromophor Sb1 ein wenig stärker am Stickstoffatom lokalisiert zu sein. Generell gilt, daß bei den deprotonierten Schiff-Basen die Elektronendichte im HOMO vor allem auf den formalen Doppelbindungen fixiert zu sein scheint. Das HOMO ähnelt somit mehr den HOMOs der protonierten Schiff-Base mit Gegenion.

Den obigen Daten kann man entnehmen, daß der Einfluß der Bindungsalternanz auf einen Chromophor ohne Gegenion nur gering zu sein scheint. Es stellt sich allerdings die Frage, ob der Einfluß der Alternanz in Gegenwart des Gegenions größer ist. Um eine Antwort darauf zu erhalten, wurde der protonierten Schiff-Base pSb ein Gegenion in vergleichbarem Abstand wie in den Modellchromophoren pSb1 bis 3 hinzugesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Tabelle 5: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f), Dipolmomente und die dominierenden Konfigurationen^b der Struktur pSb mit hinzugefügtem komplexem Gegenion

	CASSCF		CASPT2					
	Energie	f	state	Energie	f	Konfiguration	Gewicht	μ
	au			au				Deb
pSb	-668,6673		S_0	-670,7321		$(4a)^2(5a)^2$	73	10,65
geg	4,72 (263)	1,66	S_1	2,75 (450)	0,97	$(5a)^1(6a)^1$	64	19,97
	3,30 (376)	0,00	S_2	2,98 (416)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15	10,15
						$(4a)^1(6a)^1$	19	
						$(5a)^0(6a)^2$	29	

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Das Gegenion sorgt auch in diesem Fall für eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums von 519 nm zu 450 nm. Der Shift ist mit 69 nm allerdings nicht so stark wie bei den übrigen protonierten Schiff-Basen (ca. 110 nm), die eine größere Bindungsalternanz vorweisen. Es scheint demnach, daß der Effekt der Bindungsalternanz wesentlich größer ist, wenn das Gegenion mit in die Rechnung einbezogen wird. Deshalb erfolgt eine weitere Untersuchung dieses Effektes in Kapitel 4.4. Dort wurden Chromophormodelle mit verschiedenen Methoden optimiert, die Strukturen mit unterschiedlich ausgeprägter Bindungsalternanz generieren.

Im Rahmen der pSb und Sb Modellchromophore wurde des weiteren untersucht, ob die hypsochrome Verschiebung von der Entfernung des Gegenions zum Chromophor abhängig ist. Dazu wurde der Abstand des Gegenions in dem Modellsystem pSb1 von 260 pm auf 310 pm vergrößert. Die Ergebnisse für diese Anordnung sind in Tabelle 6 dargestellt.

Der vergrößerte Abstand zwischen dem Chromophor und dem Gegenion und die damit einhergehende Ladungstrennung führt zu einer bathochromen Verschiebung der Absorption um 40 nm zu einem λ_{max} von 431 nm für den HOMO \rightarrow LUMO Übergang. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Experimenten und Berechnungen, die bereits durchgeführt wurden.^[35, 67, 70, 72, 73] Zusätzlich gibt es Theorien, nach denen sich bei dem Übergang des Rhodopsins vom Grundzustand in den Bathozustand das Gegenion ebenfalls weiter vom Stickstoffatom entfernt

und somit teilweise zu der Verschiebung des Absorptionsmaximums beiträgt.^[74] Die erhaltenen Ergebnisse zeigen also auf, daß mit den gewählten Modellsystemen realitätsnahe Werte berechnet werden können.

Tabelle 6: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f), Dipolmomente und die dominierenden Konfigurationen^b des Modellchromophors pSb1 mit veränderten Abstand zum komplexen Gegenion

	CASSCF		state	CASPT2		Konfiguration	Gewicht	μ Deb
	Energie au	f		Energie au	f			
pSb1	-820,7625		S_0	-823,2603		$(4a)^2(5a)^2$	76	13,31
ab310	4,77 (260)	1,51	S_1	2,88 (431)	0,91	$(5a)^1(6a)^1$	63	23,34
	3,75 (331)	0,01	S_2	3,28 (379)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15	13,36
						$(4a)^1(6a)^1$	16	
						$(5a)^0(6a)^2$	33	

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Betrachtet man die Ergebnisse zusammenfassend, so ist der Einfluß des komplexen Gegenions auf die gewählten Modellchromophore als sehr stark zu bezeichnen. Durch die Gegenwart des negativ geladenen Gegenions kommt es zu strukturellen Veränderungen der protonierten Schiff-Base, die sich vor allem in Änderungen der Bindungslängen widerspiegeln. Zeigen diese normalerweise keine deutliche Bindungsalternanz infolge der Delokalisierung der positiven Ladung, so kommt es durch die Wechselwirkung mit dem negativ geladenen Formation zu einer Lokalisierung der positiven Ladung. Die Systeme zeigen nun eine deutliche Bindungsalternanz und ähneln strukturell den deprotonierten Schiff-Basen. Bei den deprotonierten Schiff-Base kommt es zu keinen deutlichen Veränderungen der Chromophorgeometrie in Gegenwart des Gegenions. Die schon vorhandene Bindungsalternanz wird hier beibehalten, es kommt lediglich zu geringen Verlängerungen der Doppel- und Verkürzungen der Einfachbindungen.

Die Folge der veränderten Chromophorgeometrie ist eine Änderung der Elektronendichte, die sich in der Lage der Absorptionsmaxima widerspiegelt. In Gegenwart des Gegenions kommt es zu einer starken Verschiebung des Absorptionsmaximums (S_1 -Zustand) der protonierten Schiff-Basen zu kürzeren Wellenlängen.

Diese Verschiebung hat zwei unterschiedliche Ursachen: Ein kleiner Betrag der Verschiebung wird durch die Änderungen der Chromophorgeometrie verursacht. Der weitaus größere Betrag ist allerdings auf die elektronische Wechselwirkung zwischen Gegenion und Chromophor zurückzuführen. Dabei kommt es zu einer Verschiebung von negativer Ladung in Richtung des Stickstoffatoms, was an den Änderungen des Dipolmomentes und der Orbitale festgemacht werden konnte. Der Effekt des Gegenions auf den zweiten angeregten Zustand ist sehr gering. Hier ist keine Änderung des Dipolmomentes zu beobachten.

Bei den deprotonierten Schiff-Basen sind leicht veränderte Ergebnisse ermittelt worden. Das Absorptionsmaximum verschiebt sich lediglich um 20 nm zu längeren Wellenlängen. Generell läßt sich feststellen, daß hier die Wechselwirkungen mit dem protonierten Gegenion nicht so stark sind, da hier Moleküle und keine Ionen in Wechselwirkung treten. Dies wird durch die Tatsachen unterstrichen, daß sich die Dipolmomente der Sb-Modellsysteme im Gegensatz zu denen der protonierten Schiff-Basen wesentlich weniger ändern. Ebenso ist keine deutliche Veränderung der an der Anregung beteiligten Orbitale zu beobachten.

Als Ursache des Opsinshifts konnten demnach strukturelle und elektronische Komponenten identifiziert werden, wobei die Bindungsalternanz bei Modellen mit Gegenion noch weitere Fragen aufwirft. Deshalb wird dieser Punkt separat untersucht (Kapitel 4.4). Insgesamt konnte allerdings die Änderung des Absorptionsmaximums des Modellchromophors mit unterschiedlichem komplexen Gegenion zufriedenstellend erklärt werden.

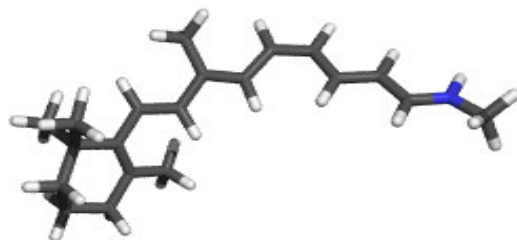
4.2 Der Einfluß der Methylgruppen

4.2.1 Experimentell bekannte Derivate des 11-cis-Retinals

Der im Rhodopsin vorhandene Chromophor 11-cis-Retinal besitzt zwei Methylgruppen an den Positionen 9 und 13 (Wildtyp). In welchem Maße diese für den Ablauf des Photozyklus von entscheidender Bedeutung sind, ist bisher nicht eindeutig geklärt. Experimentell wurden bereits verschiedene Analoge des Retinals dargestellt, bei denen eine Methylgruppe entfernt oder an anderer Stelle eine neue eingeführt wurde. Einige dieser Derivate sind, wie das 11-cis-Retinal selbst, in der Lage eine stabile Struktur mit Opsin zu bilden. Der Photozyklus dieser Proteine unterscheidet sich aber teilweise deutlich von dem des nativen Rhodopsins, was darauf hindeutet, daß die Methylgruppen für den Ablauf des Photozyklus von wesentlicher Bedeutung sind.

Welchen Einfluß die jeweiligen Methylgruppen genau haben, konnte bisher experimentell nur teilweise geklärt werden, und eine umfassende theoretische Beschreibung der Retinalanalogen ist bislang noch nicht erfolgt. Da eine solche Aufschluß über die genauen Wechselwirkungen der Methylgruppen mit der Proteinumgebung und den Einfluß der Methylsubstitution auf die Absorption geben könnte, wurden im Rahmen dieser Arbeit fünf verschiedene Derivate des 11-cis-Retinals berechnet.

Die Kristallstrukturen der unterschiedlichen Opsinderivate sind bisher noch nicht bekannt, allerdings wurden diese teilweise recht gut anhand von NMR-, IR-, Raman-, UV- und CD-Spektren charakterisiert. Im folgenden werden die untersuchten Retinalanalogen kurz vorgestellt und ihre wichtigsten experimentell beobachteten Eigenschaften dargestellt.

11-cis-13-Demethylretinal^[75, 76, 77, 78, 79]

11-cis-13-Demethylretinal bildet mit Opsin ein stabiles Protein, welches ein Absorptionsmaximum von 498 nm besitzt. Dieser Wert deutet darauf hin, daß der Chromophor ähnlich wie das native 11-cis-Retinal in der Proteintasche gebunden ist. Die Schlußfolgerung daraus ist, daß es zu keinen großen strukturellen Veränderungen durch das Fehlen der Methylgruppe an der Position 13 zu kommen scheint.

Das CD-Spektrum zeigt Banden bei 490, 340 und 280 nm, wobei die Intensität der α -Bande bei 490 nm aber im Vergleich zum Wildtyp geringer ist. In den CD-Spektren des Rhodopsins wird die α -Bande der Kette des Chromophors zugeordnet.^[49, 80, 81] Die Intensität dieser Bande ist somit in erster Linie ein Indikator für die Verdrillung innerhalb der Polyenkette.

Im Wildtyp kommt es, aufgrund des Einbaus in die Proteintasche, zu sterischen Wechselwirkungen der Methylgruppe am Kohlenstoff C13 mit dem Wasserstoffatom an der Position C10,^[75, 76, 79, 82] wodurch die C11=C12-Bindung verdrillt wird. Diese Torsion ist wahrscheinlich für die schnelle Isomerisierung (200 fs) des Wildtyps aus der 11-cis- in die all-trans-Form verantwortlich.^[76, 83]

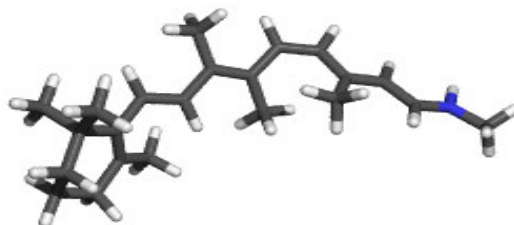
Im 11-cis-13-Demethylretinal ist diese Wechselwirkung nicht vorhanden. Der Chromophor ist annähernd planar in der C11=C12-Region, was auch mit Hilfe von Raman-Spektren gezeigt werden konnte.^[75, 84] Im Spektrum des Wildtyps lassen sich sogenannte hydrogen-out-of-plane-Schwingungen (HOOP) feststellen. Dabei handelt es sich um charakteristische Banden, die die Schwingung der Wasserstoffatome an den Atomen C11 und C12 bezeichnen. Diese deuten auf eine Verdrillung des Chromophors um die C11=C12-Bindung hin. Diese Schwingungen sind im Spektrum des 11-cis-13-Demethylretinals nicht mehr zu erkennen.



Abbildung 16: Wechselwirkungen zwischen der Methylgruppe am C_{13} und dem Wasserstoffatom am C_{10} (links), hydrogen-out-of-plane-Schwingung (HOOP) (rechts)

Die Quantenausbeute der Photoreaktion im 11-cis-13-Demethylrhodopsin ist mit 0,47 deutlich geringer als im Wildtyp (0,67). Auch dauert die vollständige Isomerisierung in den Bathozustand mit 400 fs doppelt so lange wie im Fall des Wildtyps.^[76] Dies unterstützt die Theorie, daß die Torsion um die $C_{11}=C_{12}$ Bindung ein entscheidender Faktor für eine schnelle und effiziente Isomerisierung des Chromophors ist. Ist die Verdrillung nicht so stark ausgeprägt, scheint sich die Geschwindigkeit der Isomerisierung deutlich zu verlangsamen.

11-cis-10-Methylretinal^[85, 86]

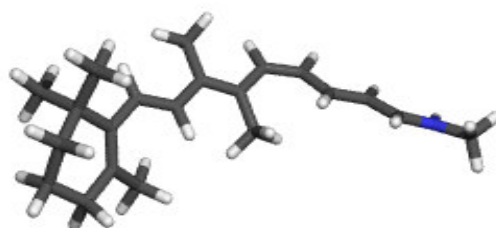


11-cis-10-Methylretinal wird im Vergleich zum 11-cis-Retinal nur langsam in das Opsin eingebaut. Das Absorptionsmaximum des gebildeten Pigments liegt bei 506 nm, was auf eine leicht veränderte Wechselwirkung oder eine andere Orientierung des Chromophors in der Bindungstasche hindeutet. Das aus der Literatur^[86] bekannte CD-Spektrum ähnelt dem des Rhodopsins. Durch die neu eingeführte Methylgruppe scheint es zu sterischen Wechselwirkungen mit der Methylgruppe am Kohlenstoffatom C_{13} zu kommen, die dadurch wahrscheinlich weiter aus der Chromophorebene heraus gedreht wird, was mit Hilfe von NMR Messungen bestätigt werden konnte.^[85] Die Verdrillung um die $C_{11}=C_{12}$ -Bindung nimmt infolgedessen ebenfalls zu.

Die Quantenausbeute ist mit 0,55 fast so hoch wie im Rhodopsin.^[86] Die neu eingeführte Methylgruppe hat einen größeren Raumanpruch als der Wasserstoff und wechselwirkt mit der Proteinumgebung, was möglicherweise die Isomerisierung verlangsamt. Da die C11=C12-Bindung allerdings sehr stark verdrillt ist, wirkt dies möglicherweise der Wechselwirkung der neu eingeführten Methylgruppe entgegen und sorgt dafür, daß die Isomerisierung trotzdem noch mit relativ hoher Ausbeute stattfindet.

Der Bathozustand des 11-cis-10-Methylrhodopsins ist extrem stabil; das gleiche gilt für den Meta I Zustand. Daraus ergibt sich, daß der gesamte Photozyklus dieses Derivates stark verlangsamt wird und die Aktivierung des Transducin wesentlich länger dauert als dies im Wildtyp der Fall ist.

11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal^[75, 87]



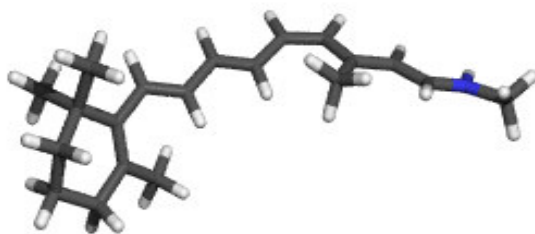
11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal bildet mit Opsin ebenfalls ein Protein, dessen Bildung aber im Vergleich zum Wildtyp relativ lange dauert. Das entstandene Protein ist außerdem thermisch instabil. Das Absorptionsmaximum ist mit 500 - 505 nm schwach bathochrom verschoben, was ebenfalls auf leicht veränderte Wechselwirkungen mit den umgebenden Aminosäuren oder auf eine abweichende Orientierung des Chromophors in der Proteintasche hindeutet.

Im 11-cis-13-Demethylretinal kommt es aufgrund der fehlenden Methylgruppe zu einer Planarisierung der C11=C12-Bindung. Durch die Einführung der Methylgruppe am C10 sollte im 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal die Verdrillung der C11=C12 Bindung wieder hergestellt sein und zwar durch Wechselwirkung mit dem Wasserstoff an C13. Im Ramanspektrum lassen sich wieder die zur C11=C12-Bindung gehörenden HOOP-Schwingungen ausmachen,^[75] was die Verdrillung um die C11=C12-Bindung bestätigt. Durch den Raumanpruch der neu eingeführten Methylgruppe kommt es zu weiteren Wechselwirkungen des Chromophors mit der Proteintasche. Eine Folge davon ist eine zusätzliche Verdrillung

um die C7=C8-Bindung, was anhand einer weiteren HOOP-Schwingung verifiziert werden konnte [75]. Das CD-Spektrum des Derivates zeigt zwei Banden bei 490 und 340 nm, wobei die Intensität der α -Bande größer ist als im Wildtyp - offensichtlich ein Ausdruck der stärkeren Verdrillung des Chromophors.

Die Quantenausbeute liegt mit einem Wert von 0,35 noch niedriger als im 11-cis-13-Demethylrhodopsin.[87] Zwar ist hier die Torsion um die C11=C12-Bindung wieder vorhanden, doch behindert die Methylgruppe an der Position 10 wohl aufgrund der Wechselwirkung mit der Proteintasche die Isomerisierung.

11-cis-9-Demethylretinal[88, 89, 90, 91]



Die Bildung des Proteins aus 11-cis-9-Demethylretinal und Opsin erfolgt mit etwa derselben Geschwindigkeit wie mit 11-cis-Retinal. Das Absorptionsmaximum des Proteins ist mit 465 nm allerdings stark hypsochrom verschoben. Man kann davon ausgehen, daß der Chromophor wegen der fehlenden Methylgruppe eine andere Orientierung im Protein hat, wodurch er näher an das Gegenion gelangen kann. Die Folge davon wäre eine Verschiebung zu kürzeren Wellenlängen aufgrund der stärkeren elektrostatischen Wechselwirkung zwischen Chromophor und Gegenion[84, 91] oder aber, daß sich eine Tasche bildet, in die sich Wassermoleküle einlagern können.[88] Auch sämtliche Intermediate dieses Retinalderivats absorbieren blau verschoben.

Aufgrund von FTIR- und Raman-Spektren geht man davon aus, daß der Chromophor im Batho-Zustand nicht so stark verdrillt ist wie die analoge Struktur im Wildtyp.[90] Der Meta I Zustand des 11-cis-9-Demethylretinals ist sehr stabil. Das Gleichgewicht, das sich zwischen Meta I und Meta II einstellt, liegt hier eher auf der Seite von Meta I. Die zu Meta II analogen Strukturen des 11-cis-9-Demethylretinals weisen ein Gleichgewicht zwischen der normalen deprotonierten Meta II Form ($\lambda_{max} = 380$ nm) und einer protonierten Meta II Form auf (λ_{max}

= 480nm). Die Aktivierung des Transducins erfolgt als Konsequenz daraus kaum oder nur sehr vermindert.^[90, 91]

CD Spektren dieses Derivats sind in der Literatur nicht beschrieben.

4.2.2 Die Modellsysteme der Retinalanalogen

Von allen vier vorgestellten Analogon wurden Modellchromophore erzeugt, ebenso von dem nativen 11-cis-Retinal, welches im weiteren als Wildtyp bezeichnet wird. Wie im vorherigen Kapitel wurde der Chromophor auf fünf Doppelbindungen reduziert. Dabei wurden die C6-C7-Bindung und die N-C_{Lys}-Bindung durchtrennt und die beiden Gruppen jeweils durch ein Wasserstoffatom ersetzt. Das Gegenion wurde wieder durch ein Formiat ersetzt.

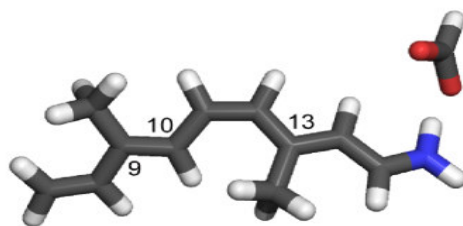


Abbildung 17: Modellchromophor der protonierten Schiff-Base 11-cis-Retinal mit Formiat als Gegenion.

Alle Strukturen basieren wiederum auf von Sugihara durchgeführten QM/MM-Simulationen. Verwendet wurde hierbei die SCC-DFTB-Methode zusammen mit einem CHARMM-Kraftfeld. Der QM-Teil der Simulation umfasste den Chromophor und die Aminosäuren, die einen starken Einfluß auf Absorption und Struktur des Chromophors haben: Lys296, Glu113 und Thr94. Zusätzlich wurde noch das Wassermolekül wat2b mit in den QM-Teil einbezogen, da dieses Bestandteil des komplexen Gegenions ist. Von jedem Modellsystem wurden zwei Modellchromophore erzeugt. Bei dem einen handelt es sich um die Durchschnittsstruktur (av). Hierbei wurde aus der Simulation eine Struktur entnommen, welche den durchschnittlichen Bindungslängen und Winkeln entspricht, die während der Simulation beobachtet wurden. Von dem Modellsystem 11-cis-9-Demethylretinal konnte allerdings keine Durchschnittsstruktur ermittelt werden, denn während der Simulation wechselte das Proton so häufig zwischen Chromophor und Gegenion hin und her, daß es nicht sinnvoll war, eine Durchschnittsstruktur zu definieren.

Bei den zweiten Modellen handelt es sich um die geometrieoptimierten Strukturen (co). Dabei wurde gegen Ende der MD-Simulation das System durch Entnahme der kinetischen Energie heruntergekühlt, so daß sich Minimumstrukturen ergaben. Bei diesen Strukturen handelt es sich deshalb um eine vergleichsweise realitätsnahe Beschreibung der Analogen. Für die beiden Modellsysteme wurden die folgenden Abkürzungen verwendet:

Tabelle 7: Abkürzungen für die Modellsysteme

Abkürzung	Retinalchromophor
wt	11-cis-Retinal (Wildtyp)
13dem	11-cis-13-Demethylretinal
10me	11-cis-10-Methylretinal
10me13dem	11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal
9dem	11-cis-9-Demethylretinal

4.2.3 Strukturen der Retinalderivate

Die berechneten Modelle wurden zunächst auf Besonderheiten ihrer Struktur untersucht. Analysiert wurden sowohl die Bindungslängen als auch die Torsionswinkel der Retinalanalogen, sowohl in den optimierten Strukturen (co) als auch in den Durchschnittsstrukturen (av).

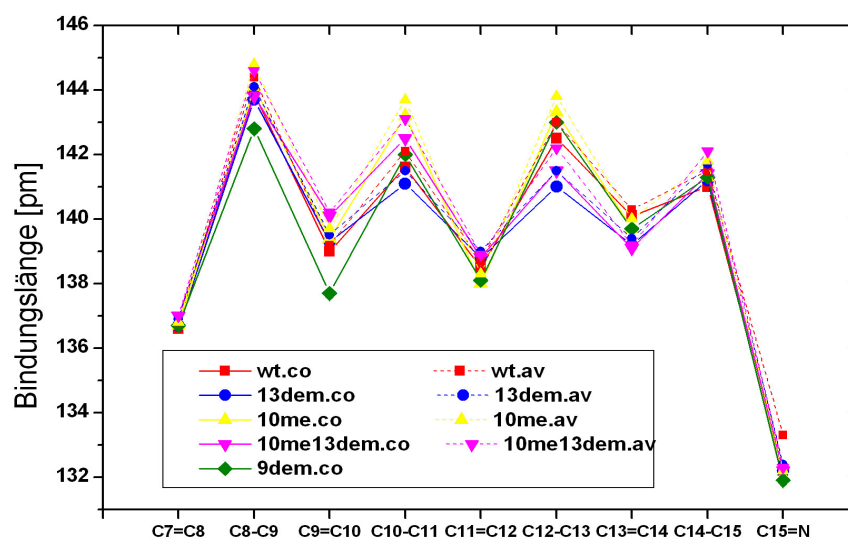


Abbildung 18: Die Bindungslängen der Retinalanalogen

In Abbildung 18 sind die Bindungslängen der Strukturen gegen die Position in der Kette aufgetragen. Auffällig ist, daß sich die Bindungslängen des Kohlenstoffatoms, an das eine Methylgruppe gebunden ist, verkürzen, falls diese Methylgruppe entfernt wird.^[92, 93, 94] Im Gegenzug werden die Bindungen länger, falls eine Methylgruppe neu eingeführt wird. Die Ursache für dieses Verhalten ist die Hyperkonjugation des Kohlenstoffs in der Kette mit der Methylgruppe. Über die Bindung wird Elektronendichte von der Methylgruppe in die Kette transferiert, und als Folge davon werden die Bindungen des Kohlenstoffatoms innerhalb der Kette geschwächt und somit länger.^[93] Möglich ist allerdings auch, daß der Verlust an sterischer Abstoßung, bei dem Ersatz einer Methylgruppe durch ein Wasserstoffatom, zu einer Bindungsverkürzung beiträgt. Generell lassen sich keine großen Unterschiede zwischen den Bindungslängen der Durchschnittsstrukturen und denen der heruntergekühlten Modellsysteme erkennen. Eine Ausnahme bilden die Strukturen des 11-cis-13-Demethylretinals, welche im Bereich des C8- bis C11-Atoms eine unterschiedliche Bindungsalternanz aufweisen.

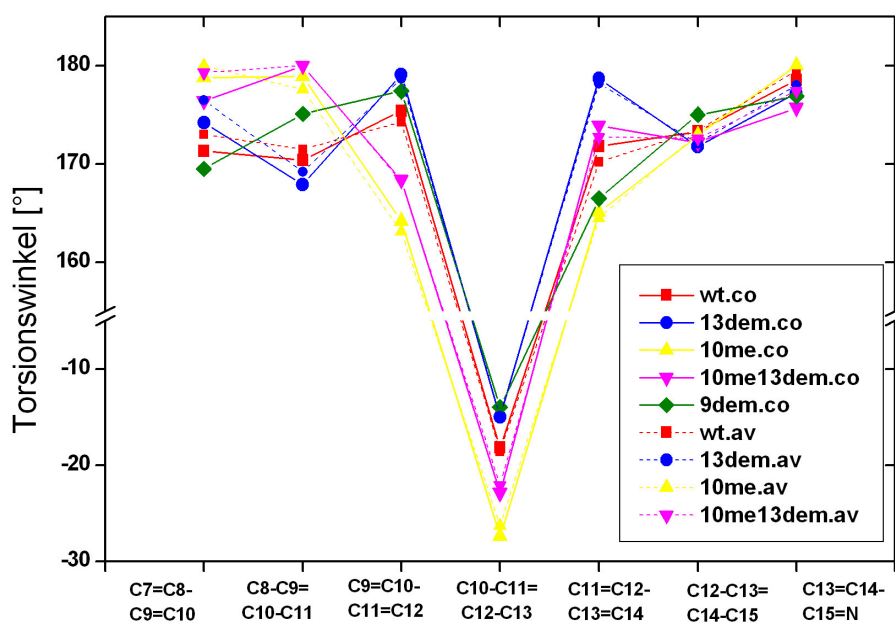


Abbildung 19: Die Torsionswinkel der Retinalanalogen

Abbildung 19 zeigt die Torsionswinkel aller untersuchten Retinalanalogen. Deutliche Unterschiede lassen sich vor allem bei den C10-C11=C12-C13-Winkeln, al-

so bei der Verdrillung um die zentrale Doppelbindung, erkennen. Die Torsion um diese Doppelbindung hat ihre Ursache in der Wechselwirkung zwischen der Methylgruppe am C13-Atom und dem Wasserstoff am C10.^[75, 76, 79] Durch die Bindung des Retinals an das Opsin scheinen diese stärker in Wechselwirkung zu treten, als dies im freien Retinal der Fall ist. Der Raumbedarf der Methylgruppe ist dabei so groß, daß der Chromophor verdrillt wird, damit der Abstand zum Wasserstoffatom gewahrt bleibt. Einen kleinen Torsionswinkel hat demnach das 11-cis-13-Demethylretinal, da hier diese sterische Wechselwirkung eliminiert ist.

Wird allerdings, wie im 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal, eine zusätzliche Methylgruppe am C10-Atom eingeführt, hat das Derivat einen etwas größeren Torsionswinkel als der Wildtyp. Offensichtlich wird die Wechselwirkung wiederhergestellt, diesmal zwischen der Methylgruppe am C10- und dem Wasserstoff am C13-Atom. Zusätzlich scheint es zu weiteren Wechselwirkungen der an der Position 10 neu eingeführten Methylgruppe mit der Proteinumgebung zu kommen, die für eine stärkere Verdrillung sorgen.

Wird keine Methylgruppe entfernt, sondern, wie im 11-cis-10-Methylretinal, eine weitere Methylgruppe zusätzlich am C10-Atom eingeführt, so erreicht der Torsionswinkel einen maximalen Wert von -27° . Es kommt nun zu Wechselwirkungen zwischen den beiden Methylgruppen am C13- und C10-Atom, welche beide einen hohen Raumanspruch haben. Die Folge ist eine noch stärkere Verdrillung des Modellchromophors als im Wildtyp.

Im Fall des 11-cis-9-Demethylretinal ist die Verdrillung um die C11=C12-Bindung hingegen relativ schwach; dafür ist die Einfachbindung zwischen dem C12- und C13-Atom stark verdrillt. Durch das Fehlen der Methylgruppe an der Position 9 hat der gesamte Chromophor, im Vergleich zu den übrigen Analogen und dem Wildtyp, eine scheinbar größere strukturelle Freiheit. Der Chromophor kann demnach um die C11=C12-Bindung leicht relaxieren, da eine Torsion um eine Doppelbindung energetisch sehr ungünstig ist. Dennoch kann der Chromophor der Wechselwirkung zwischen der Methylgruppe am C13- und dem Wasserstoff am C10-Atom ausweichen, indem er um die C12-C13-Bindung verdrillt, wodurch die Methylgruppe an C13 aus der Ebene herausgedreht wird und sich diese somit vom Wasserstoffatom an C10 entfernt.

Auch hier lassen sich keine großen Unterschiede zwischen den optimierten und den gemittelten Modellen feststellen. Die Differenzen sind zumeist minimal. Ausnahme sind auch hier die 13dem Strukturen. Hier weist die 13dem.av Struktur

im Bereich der Kohlenstoffe C8 bis C10 eine andere Verdrillung auf.

Da die beiden Modellsysteme (co und av) insgesamt gesehen strukturell nahezu identisch sind, wird im folgenden zumeist nur noch auf die optimierten (co) Strukturen eingegangen, da diese das realitätsnähere Bild darstellen.

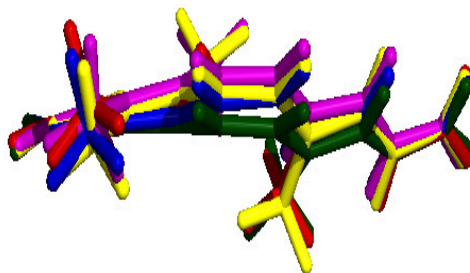


Abbildung 20: Überlagerung aller berechneten Modelle (co) (wt = rot, 13dem = blau, 10me = gelb, 10me13dem = magenta, 9dem = grün)

Abbildung 20 zeigt die Strukturen aller Modelle (co) im Vergleich. Es ist deutlich zu erkennen, daß das 11-cis-9-Demethyl-Modell (grün) anders verdrillt ist als die übrigen Modellsysteme. Die oben aufgestellten Vermutungen hinsichtlich des C10-H- und des C13-CH₃-Abstandes zeigen sich hier bestätigt, da die beiden Gruppen einen großen Abstand voneinander einhalten. Mißt man den Torsionswinkel bezüglich der C7=C8- und der C15=N-Bindung, so ergeben sich folgende Werte, die bestätigen, daß die Gesamtverdrillung der Modellsysteme unterschiedlich ist.

Tabelle 8: Torsionswinkel um die C7=C8- und die C15=N-Bindung der Chromophore (co)

Modellsystem	C7=C8...C15=N
11-cis-Retinal (wt)	-169,7°
11-cis-13-Demethylretinal	-170,7°
11-cis-10-Methylretinal	177,9°
11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal	170,7°
11-cis-9-Demethylretinal	-155,3°

Ein anderer Versuch, die Abweichung der Verdrillung von der Wildtypstruktur darzustellen, ist in Abbildung 21 gezeigt. Hier wurde das 11-cis-Retinal als Referenzstruktur gewählt und die Abweichung der anderen Strukturen (co) im Vergleich dazu aufgetragen. Eine positive Abweichung bedeutet, daß das Derivat

stärker als der Wildtyp um die entsprechende Bindung verdrillt ist; eine negative Abweichung zeigt dagegen eine schwächere Verdrillung an.

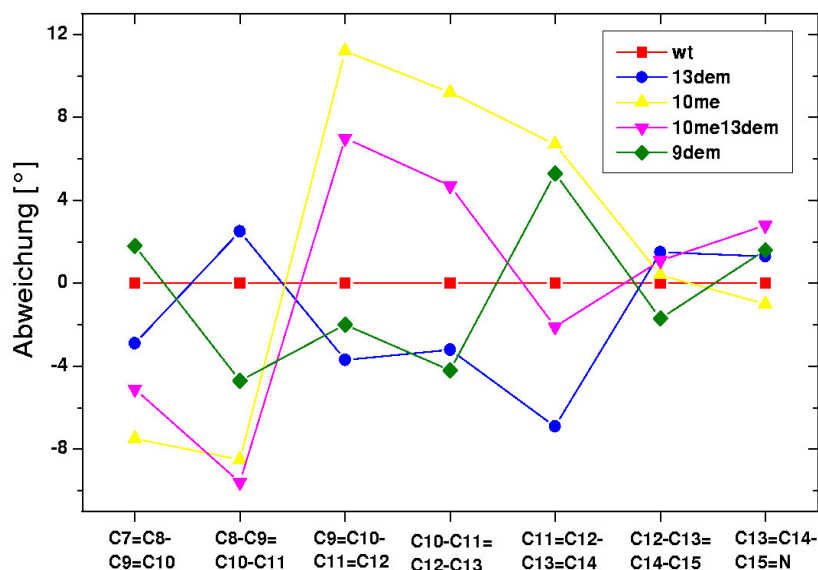


Abbildung 21: Abweichung der Torsionswinkel der Derivate (co) vom Wildtyp (positiver Wert = größere Verdrillung, negativer Wert = geringere Torsion)

Anhand von Abbildung 21 ist deutlich zu erkennen, daß das 11-cis-9-Demethyl-Derivat deutlich weniger um die Doppelbindungen verdrillt ist als der Wildtyp. Dafür ist die C12-C13-Bindung umso stärker verdrillt. Das 11-cis-10-Methyl- und das 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal sind zwar in der Region vom C10- bis zum C14-Atom stärker tordiert, doch kommt es zu einer starken Relaxation im Bereich der Atome C7 bis C10. Dies wirkt der starken Torsion entgegen und hat zur Folge, daß die Chromophore von C7 bis N nahezu planar erscheinen.

Die Strukturen unterscheiden sich also im wesentlichen in ihren Torsionswinkeln voneinander. Vom Bathorhodopsin (Kapitel 4.3) ist bekannt, daß eine Torsion um eine Doppelbindung zu einer bathochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums führt.^[60, 95] Diese Tatsache hilft, die im Folgenden dargestellten spektroskopischen Daten der Retinalderivate besser zu verstehen.

4.2.4 Spektroskopische Daten der Retinalderivate

Von allen Modellen wurden der Grundzustand und die ersten fünf angeregten Zustände sowohl die Rotationsstärken berechnet. Die ermittelten Daten und die wichtigsten Konfigurationen des Grundzustandes und der ersten beiden Zustände sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Tabelle 9: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillator (f)- und Rotationsstärken (R) und die dominierenden Konfigurationen^b der Modellchromophore der Retinalanalogen

	CASSCF			state au	CASPT2			Konfig.	Gewicht
	Energie au	f	R		Energie	f	R		
wt.av	-668,6032			S_0	-670,6915			$(4a)^2(5a)^2$	74
	4,88 (254)	1,49	0,379	S_1	2,83 (438)	0,87	0,656	$(5a)^1(6a)^1$	63
	3,48 (356)	0,00	-0,002	S_2	3,09 (401)	0,00	-0,003	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	29
wt.co	-668,6683			S_0	-670,7365			$(4a)^2(5a)^2$	74
	4,99 (248)	1,56	0,379	S_1	2,86 (434)	0,89	0,656	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,49 (356)	0,00	-0,002	S_2	3,10 (400)	0,00	-0,002	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	30
13dem.av	-629,6225			S_0	-631,5515			$(4a)^2(5a)^2$	73
	5,14 (241)	1,54	0,217	S_2	2,97 (418)	0,89	0,373	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,47 (358)	0,00	-0,001	S_3	3,10 (399)	0,00	-0,001	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	17
								$(5a)^0(6a)^2$	30
13dem.co	-629,6303			S_0	-631,5552			$(4a)^2(5a)^2$	73
	5,05 (246)	1,52	0,194	S_3	2,97 (418)	0,89	0,328	$(5a)^1(6a)^1$	64
	3,45 (359)	0,00	-0,001	S_4	3,10 (399)	0,00	-0,002	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	30
10me.av	-707,6835			S_0	-709,9024			$(4a)^2(5a)^2$	74
	4,94 (251)	1,32	0,518	S_1	2,81 (441)	0,75	0,912	$(5a)^1(6a)^1$	63
	3,49 (355)	0,00	0,000	S_3	3,05 (407)	0,00	0,000	$(5a)^1(7a)^1$	14
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	30
10me.co	-707,6950			S_0	-709,9120			$(4a)^2(5a)^2$	74
	4,99 (249)	1,38	0,551	S_1	2,77 (448)	0,77	0,993	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,45 (359)	0,00	0,000	S_2	3,01 (412)	0,00	0,000	$(5a)^1(7a)^1$	14
								$(4a)^1(6a)^1$	19
								$(5a)^0(6a)^2$	30
10me13dem.av	-668,6488			S_0	-670,7252			$(4a)^2(5a)^2$	74
	5,16 (240)	1,49	0,464	S_3	2,94 (422)	0,85	0,819	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,51 (354)	0,00	0,001	S_4	3,10 (400)	0,00	0,001	$(5a)^1(7a)^1$	14
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	30

10me13dem.co	-668,6594			S_0	-670,7308			$(4a)^2(5a)^2$	74
	5,00 (248)	1,45	0,473	S_1	2,89 (430)	0,84	0,822	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,40 (365)	0,00	0,001	S_2	3,03 (410)	0,00	0,001	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	19
								$(5a)^0(6a)^2$	30
9dem.co	-629,6290			S_0	-631,5549			$(4a)^2(5a)^2$	75
	5,15 (241)	1,55	0,438	S_1	3,02 (410)	0,91	0,745	$(5a)^1(6a)^1$	67
	3,60 (345)	0,00	-0,002	S_2	3,22 (386)	0,00	-0,002	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	30

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Der S_0 Zustand wird bei allen Modellen von der Grundzustandskonfiguration $(4a)^2(5a)^2$ dominiert. Diese Konfiguration hat den größten Anteil (73-75%) an der Beschreibung des Zustandes. Der erste angeregte Zustand S_1 wird bei den meisten Modellen durch die $(5a)^1(6a)^1$ Konfiguration beschrieben. Dies entspricht dem Übergang eines Elektrons aus dem HOMO in das LUMO. Das Gewicht dieser Konfiguration liegt hierbei zwischen 63 und 67%. Der zweite angeregte Zustand setzt sich aus drei verschiedenen Konfigurationen zusammen, nämlich dem Übergang aus dem HOMO in das LUMO+1, aus dem HOMO-1 in das LUMO und der zweifachen Anregung der Elektronen aus dem HOMO in das LUMO, welches als Folge dessen doppelt besetzt ist.

Betrachtet man die Werte für die Absorptionen, so unterscheiden sich die Daten für die Durchschnittsstrukturen und die optimierten Chromophore kaum. Bei den Rotationsstärken ergeben sich hingegen teilweise deutlich größere Unterschiede. Diese betreffen vor allem die Struktur 11-cis-13-Demethylretinal, bei der sich die Strukturen .av und .co in ihren Torsionswinkeln im dem Stickstoffatom abgewandten Bereich deutlich unterscheiden.

Bei dem folgenden Vergleich der Daten mit den experimentellen Werten und denen aus der Literatur wurden nur die Daten der optimierten Strukturen berücksichtigt, da diese der Realität näher kommen. Um einen besseren Überblick zu erhalten, sind die berechneten Absorptionen und Rotationsstärken gemeinsam mit den experimentell ermittelten und den Literaturdaten in Tabelle 10 dargestellt.

Die als experimentell bezeichneten Daten wurden im Arbeitskreis ermittelt.^[96] Die Werte für die Absorption unterscheiden sich nicht von den Daten aus der

Literatur, was für die Verlässlichkeit der Messungen spricht.

Für die Rotationsstärken ließen sich keine expliziten Daten in der Literatur finden. Die hier angegebenen Werte sind graphisch aus Spektren entnommen. Dabei wurde der gefundene Wert für den Wildtyp mit dem berechneten Wert für wt.co gleichgesetzt und die experimentellen Werte für die übrigen Retinalderivate darauf normiert. Es werden demnach nur die Verhältnisse der Rotationsstärken der einzelnen Strukturen verglichen und nicht die absoluten Werte. Ein Vergleich der absoluten Werte würde keine Aussage zulassen, da hier lediglich ein Fragment des tatsächlichen Chromophors berechnet wurde. Für die experimentellen Daten konnten zwar die genauen Rotationsstärken ermittelt werden, doch wurden diese ebenso wie die Literaturdaten normiert.

Tabelle 10: Vergleich der berechneten Daten mit denen aus Experiment und Literatur

	CASPT2		Literatur		experimentell	
	λ_{max} nm	R au	λ_{max} nm	R au	λ_{max} nm	R au
wt.co	434	0,656	498	0,656	498	0,656
13dem.co	418	0,328	498	0,287	499	0,314
10me.co	448	0,993	506	0,656	-	-
10me13dem.co	430	0,822	500/505	1,394	-	-
9dem.co	410	0,745	465	-	464	0,657

Die berechneten Absorptionen stimmen tendenziell recht gut mit den experimentell ermittelten Daten und denen aus der Literatur überein (Abb. 22). Die 11-cis-9-Demethyl-Struktur weist sowohl im Experiment als auch in der Rechnung eine deutliche hypsochrome Verschiebung auf. Aufgrund der Experimente geht man davon aus, daß die Ursache für diese Verschiebung die verminderte Entfernung zwischen dem Chromophor und dem Gegenion ist; entweder eine Folge des Wegfalls der Methylgruppe^[91] oder weil sich Wasser in der gebildeten Tasche anlagert.^[88] Bei den gewählten Modellsystemen hat das Gegenion im 11-cis-9-Demethylretinal allerdings den gleichen Abstand zum Chromophor wie in den anderen Retinalanalogen (260 pm), was diese Vermutung als alleinige Ursache für das veränderte Absorptionsmaximum des Modellchromophors fraglich erscheinen läßt. Dennoch kann dieses Ergebnis einen veränderten Abstand zum Gegenion als Ursache im realen Protein nicht ausschließen, denn die experimentell gefundene Verschiebung beträgt 33 nm, gegenüber einem berechneten Wert von 24 nm.

Demnach könnte ein Teil der hypsochromen Verschiebung von strukturellen Gegebenheiten herrühren und ein anderer von der reduzierten Entfernung zwischen Gegenion und Chromophor. Daraus würde folgen, daß die starke Verdrillung des Chromophors um die C12-C13-Bindung und die Relaxation der Doppelbindungen die Hauptursachen für den starken hypsochromen Shift sind.

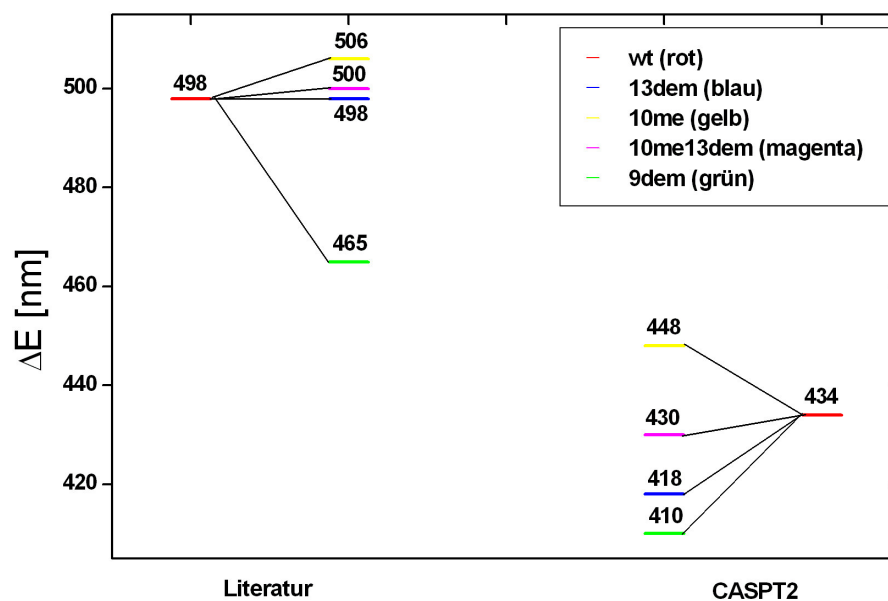


Abbildung 22: Vergleich zwischen den berechneten (rechts) und den in der Literatur gefundenen experimentellen Verschiebungen (links) des Absorptionsmaximums der fünf berechneten Modellchromophore (co)

Abbildung 22 zeigt, daß von allen Analogon das 11-cis-10-Methylretinal sowohl experimentell als auch theoretisch am langwelligsten absorbiert. Die experimentell gefundene Verschiebung von 8 nm wird von der Tendenz her durch die Rechnungen bestätigt; allerdings ist der berechnete Wert mit 14 nm fast doppelt so groß wie der experimentell ermittelte. Die Ursache der bathochromen Verschiebung scheint die stärkere Verdrillung der Bindungen im Bereich C10 bis C13 zu sein; vor allem die im Vergleich zum Rhodopsin stärkere Torsion um die C11=C12-Bindung trägt wahrscheinlich in hohem Maße dazu bei. Wie in Abbildung 21 dargestellt wurde, ist die Torsion um diese Bindung bei dem Modellchromophoren des 11-cis-10-Methylretinal wesentlich stärker als bei dem Chromophor des

Wildtyps.

Für die 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal-Struktur finden sich experimentelle Werte zwischen 500 und 505 nm. Das Absorptionsmaximum liegt demnach nah an dem des Wildtyps. Der berechnete Wert liegt mit 430 nm auch nah an dem des Wildtyps (434 nm) und ist leicht blau verschoben. Zwar weisen diese Werte auf einen Trend hin, der dem Experiment entgegen gerichtet zu sein scheint, doch sollte die berechnete Differenz von 1-5 nm nicht überbewertet werden. Der berechnete Wert ist durchaus noch als mit dem Experiment übereinstimmend zu sehen. Bei der 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal-Struktur sind die C10-C11-, C11=C12- und C13=C14-Bindung etwas stärker tordiert als im Wildtyp, aber weniger stark als im 11-cis-10-Methylretinal. Die Torsion um die Doppelbindung reicht hier noch nicht aus, um das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen zu verschieben, da alle anderen Bindungen wesentlich weniger verdrillt sind als im nativen 11-cis-Retinal. Die beiden Effekte wirken einander entgegen, und als Resultat absorbiert der Modellchromophor des Derivates trotz unterschiedlicher Geometrie ähnlich wie der des Wildtyps.

Der berechnete Wert für das 11-cis-13-Demethylretinal ist mit einem hypsochromen Shift von 16 nm deutlich höher als der experimentelle Wert von 1-2 nm. Hier beobachtet man zum ersten Mal eine deutliche Diskrepanz zwischen Experiment und berechneten Daten. Ein Shift von 16 nm ist zu groß, als daß er als Ungenauigkeit (wie im Falle des 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinals) ausgelegt werden kann. Um die Ursache dieser Verschiebung genauer zu untersuchen, wurde der Chromophor des Wildtyps an der Position 13 demethyliert und die Absorption dieses Modells (wt13dem) als Referenz berechnet.

Tabelle 11: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillator- (f) und Rotationsstärken (R) und die dominierenden Konfigurationen^b des demethylierten Wildtyp-Modellchromophors

	CASSCF			state au	CASPT2			Konfig.	Gewicht
	Energie au	f	R		Energie	f	R		
wt13dem.co	-629,6279			S_0	-631,5525			$(4a)^2(5a)^2$	73
	5,05 (245)	1,47	0,355	S_2	3,01 (412)	0,87	0,594	$(5a)^1(6a)^1$	63
	3,49 (355)	0,01	-0,002	S_3	3,10 (400)	0,00	-0,001	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	17
								$(5a)^0(6a)^2$	31

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich ist, tritt das Absorptionsmaximum der Struktur wt13dem.co mit 412 nm noch stärker hypsochrom verschoben auf als das des 11-cis-13-Demethylretinal-Derivates. Eine Demethylierung an der Position 13 sorgt demnach für einen hypsochromen Shift in der gleichen Größenordnung wie beim 11-cis-9-Demethylretinal, bei dem eine Demethylierung der Position 9 vorgenommen wurde. Nach den Rechnungen ist es demnach nicht von Bedeutung, an welcher Position die Methylgruppe entfernt wird. Wichtig scheint lediglich die Wechselwirkung mit der Proteinumgebung und die damit einhergehenden strukturellen Veränderungen zu sein. In der 11-cis-13-Demethyl-Struktur wird die Demethylierung offensichtlich durch solche kompensiert, was zu einer Verschiebung von nur noch 16 nm im Vergleich zu 22 nm (wt13dem.co) führt.

Eine der Ursachen dafür kann die etwas verringerte Bindungsalternanz der 11-cis-13-Demethyl-Struktur im Vergleich zum Wildtyp sein. Rechnungen an Modellen mit unterschiedlicher Alternanz der Bindungslängen haben gezeigt, daß das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen verschoben wird, wenn die Alternanz abnimmt (Kapitel 4.4). Ein anderer Grund könnte die etwas stärkere Verdrillung der C9=C10- und C13=C14-Doppelbindungen sein, die dafür sorgen, daß der 11-cis-13-Demethylretinal-Chromophor im Vergleich zum wt13dem.co etwas rot verschoben absorbiert.

Die Orbitale der Strukturen sind in Abbildung 23 dargestellt. Die Orbitale der Derivate unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Beim 11-cis-9-Demethylretinal fällt allerdings auf, daß hier die Elektronendichte am C9-Atom im Vergleich zu den anderen Strukturen geringer ist. Durch den Wegfall der Methylgruppe kann keine zusätzliche Elektronendichte von der Methylgruppe in die Kette des Chromophors geschoben werden.

Bei einer Demethylierung an Position 13 ist dieser Effekt nicht so stark ausgeprägt. Der Grund dafür ist das Gegenion, welches einen starken Einfluß auf die Elektronendichte in diesem Teil des Moleküls ausübt. Das Gegenion bewirkt, daß die Elektronendichte weg vom C13-Atom und hin zum Stickstoff gezogen wird. Der induktive Effekt der Methylgruppe am C13-Atom, der die Elektronendichte am C13-Atom stabilisieren würde, scheint deswegen nicht von so großer Bedeutung zu sein. Fällt diese weg, so kommt es zu keiner nennenswerten Änderung der Elektronendichte im Bereich C13 bis C15.

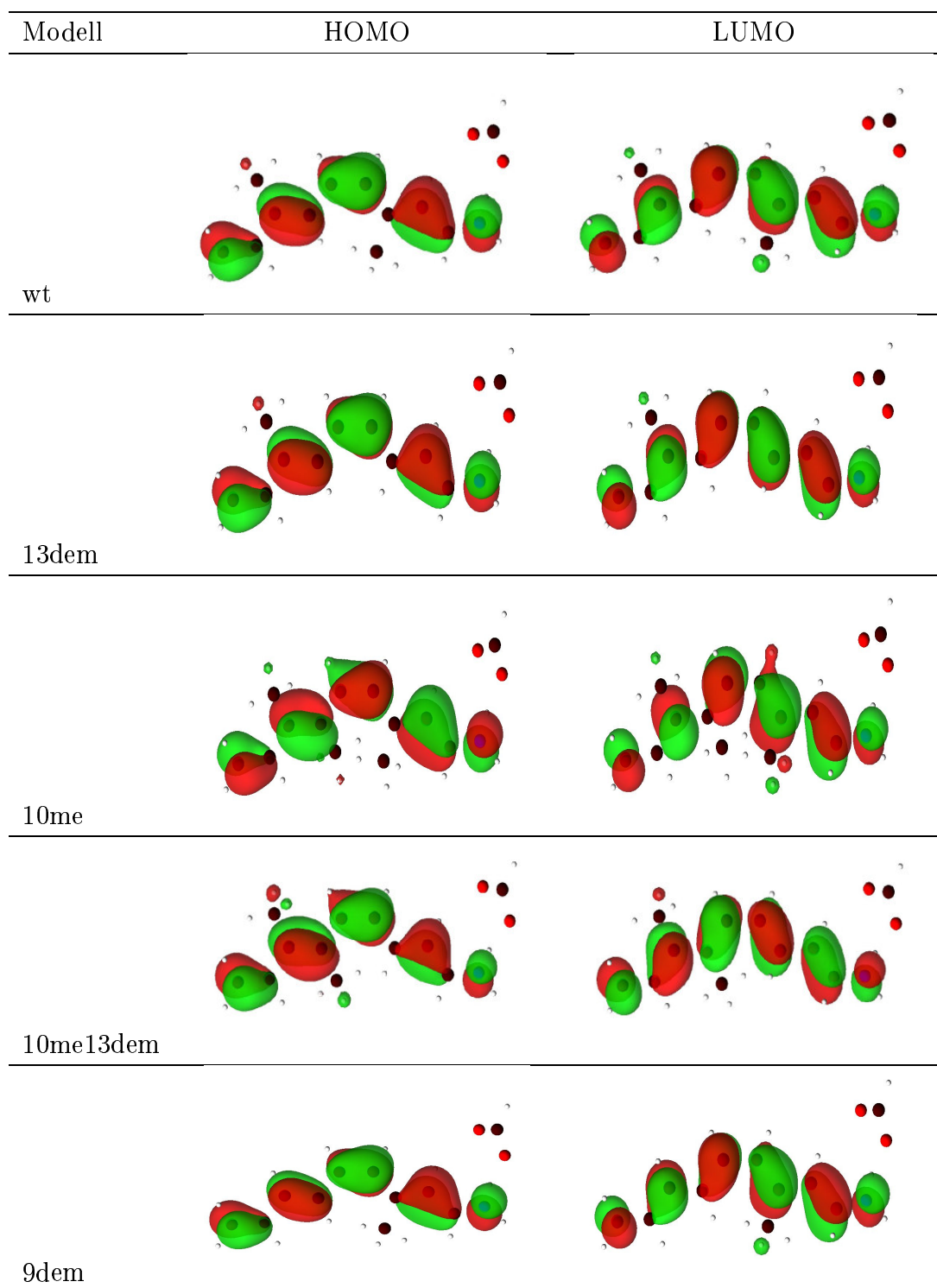


Abbildung 23: HOMO (links) und LUMO (rechts) der Modellsysteme

Wird eine zusätzliche Methylgruppe an dem Kohlenstoffatom 10 eingeführt, so wird die Elektronendichte im Bereich der C9- bis C11-Atome erhöht, was sich an den Orbitalen ablesen läßt. Diese zeigen ein im Vergleich zu den anderen Strukturen leicht vergrößertes Orbital an den Atomen C9 bis C11; erneut Ausdruck der Elektronendichte, die von der Methylgruppe in die Kette des Chromophors geschoben wird.

In Abbildung 24 sind die berechneten Rotationsstärken der Modelle zusammen mit den experimentellen und den aus der Literatur entnommenen Werten aufgetragen. Es fällt auf, daß alle Rotationsstärken positiv sind, was auf eine positive Verdrillung der Kette hindeutet.^[50]

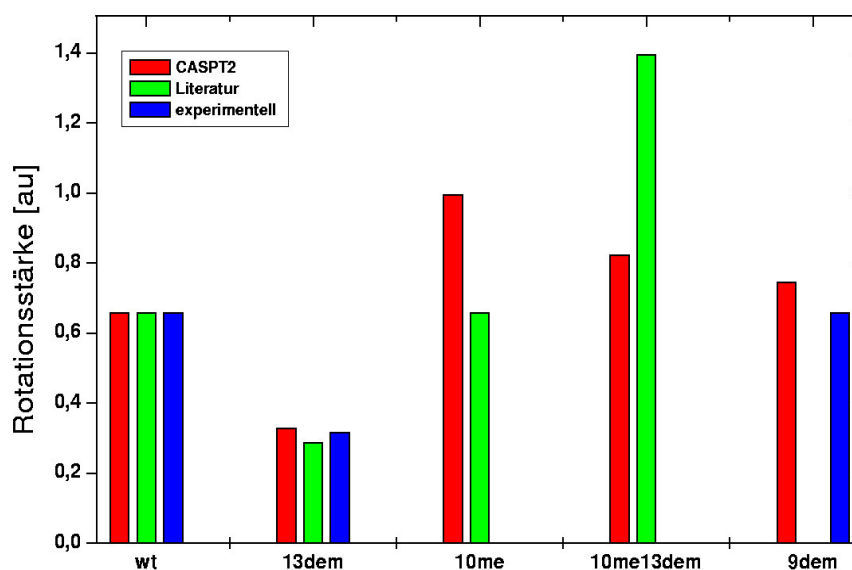


Abbildung 24: Die berechneten, experimentellen und in der Literatur gefundenen Daten für die Rotationsstärken der Retinalanalogen

Die Rotationsstärken der berechneten Modelle stimmen im Allgemeinen gut mit den experimentellen Werten und denen aus der Literatur überein. 11-cis-13-Demethylretinal weist eine geringere Rotationsstärke als der Wildtyp auf. Durch den Wegfall der Methylgruppe am C13-Atom kommt es zu keinen Wechselwirkungen mehr mit dem Wasserstoffatom an der Position 10. Als Folge davon ist

der Chromophor nicht mehr so stark verdrillt wie im Wildtyp, und das Ergebnis ist eine geringere Rotationsstärke.

Im Gegensatz dazu weist das 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal sowohl gemäß der Literatur als auch bei den Berechnungen eine weitaus größere Rotationsstärke auf als der Wildtyp. Der Chromophor ist wesentlich stärker verdrillt, was auf die neu eingeführte Methylgruppe an Position 10 zurückzuführen ist. Zu dieser Torsion tragen nicht nur die intermolekularen sterischen Wechselwirkungen bei, sondern wahrscheinlich ist die Proteinumgebung in hohem Maße mit an der Torsion beteiligt. Die Methylgruppe tritt in Wechselwirkung mit der Tasche, was zu einer größeren Torsion im Vergleich zum Wildtyp führt.

Eine Diskrepanz zwischen Experiment und Rechnung ergibt sich für das 11-cis-10-Methylderivat. Hier finden sich experimentell dieselben Daten für die Rotationsstärke wie für den Wildtyp; die berechneten Daten stehen im Widerspruch dazu. In diesem Fall sollte man den theoretischen Daten stärker vertrauen als dem Experiment, denn es erscheint eher unwahrscheinlich, daß eine so stark verdrillte Struktur wie das 11-cis-10-Methylretinal eine ähnliche Rotationsstärke hat wie der Wildtyp. Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß der berechnete Wert zutrifft, demzufolge hätte die Bande des 10-Methylretinal ungefähr die 1,5 fache Intensität der Bande des Wildtyps hat. Leider konnte diese Verbindung in unserem Arbeitskreis nicht vermessen werden, so daß keine weiteren Daten zum Vergleich zur Verfügung stehen.

Das 11-cis-9-Demethylretinal zeigt experimentell eine etwas höhere Rotationsstärke als der Wildtyp. Die Abweichung ist allerdings nicht sehr groß, so daß man auch hier von einer Bestätigung der Daten durch das Experiment ausgehen kann. Im Vergleich zum Wildtyp sind die Doppelbindungen des 11-cis-9-Demethylretinals wesentlich weniger verdrillt, da die fehlende Methylgruppe dem Chromophor größere strukturelle Freiheit in der Proteintasche erlaubt. Dafür erfolgt eine stärkere Torsion um die Einfachbindungen. Das Ergebnis ist eine Struktur, welche zwar relativ unverdrillt in Bezug auf die Doppelbindungen ist, durch die energetisch günstigere Torsion um Einfachbindungen dennoch eine ähnliche Verdrillung wie das 11-cis-Retinal aufweist.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die simulierten Strukturen den tatsächlichen Verhältnissen in den Retinalderivaten wahrscheinlich recht nahe kommen, da die Übereinstimmungen mit dem Experiment größtenteils sehr gut sind. Es ist somit gelungen, die Derivate zu simulieren und den Ursachen der Verschie-

bung auf die Spur zu kommen. Die batho- und hypsochromen Verschiebungen der jeweiligen Derivate können in erster Linie auf strukturelle Unterschiede in den Modellsystemen zurückgeführt werden. Die elektrostatische Wechselwirkung als Resultat eines veränderten Abstandes zwischen Chromophor und Gegenion wurde bei den Untersuchungen ausgeklammert, da die Modellsysteme alle einen vergleichbaren Abstand zwischen dem Retinal und dem Formation aufweisen. Ein kleiner Beitrag zur Verschiebung des Absorptionsmaximums wird durch die unterschiedliche Bindungsalternanz geleistet (Kapitel 4.4). Ist diese schwächer, wie im Fall der 11-cis-13-Demethylretinal-Strukturen, so verschiebt sich das λ_{max} zu kürzeren Wellenlängen. Bei den meisten hier untersuchten Modellchromophoren war die Bindungslängenalternanz allerdings recht ähnlich, weshalb als Hauptursache für die Verschiebung ein anderes strukturelles Merkmal zu sehen ist. Die wesentlichen Unterschiede der Modelle sind die Torsionswinkel, die demnach auch die Hauptursache der verschobenen Absorptionsmaxima darstellen. Vor allem die Torsion um die zentrale C11=C12-Bindung trägt in hohem Maße zu einer Verschiebung bei. Wird diese stärker verdrillt, so kommt es zu einem bathochromen Shift (11-cis-10-Methylretinal). Umgekehrt scheint es zu einer hypsochromen Verschiebung zu kommen, falls die Torsion um diese Bindung im Vergleich zum Wildtyp geschwächt wird (11-cis-9-Demethylretinal). Diese Beobachtung läßt sich generell auf die anderen Doppelbindungen übertragen, wie man am Fall der 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal-Struktur erkennen kann. Jedoch scheint der Effekt bei den übrigen Doppelbindungen nicht ganz so stark ausgeprägt zu sein wie bei der C11=C12-Bindung.

4.3 Bathorhodopsin

4.3.1 Das erste stabile Photointermediat des Rhodopsins

Die Belichtung des Rhodopsins setzt eine komplexe Reaktionssequenz in Gang, die bereits in Kapitel 1.2 ausführlich beschrieben wurde. Durch die Absorption eines Photons isomerisiert das 11-cis-Retinal in die all-trans Form und bildet innerhalb von 200 fs zunächst das Photorhodopsin. Dieses ist allerdings nicht stabil, sondern geht innerhalb von 5 ps^[7] in Bathorhodopsin über, das erste thermisch stabile Photoprodukt des Rhodopsins.^[97] Dieses ist bei Temperaturen von etwa -140°C stabil und kann bei diesen Temperaturen auch isoliert werden. Bathorhodopsin liegt stets im Gleichgewicht mit dem blau verschobenen Intermediat (BSI) vor, wobei der Anteil des BSI mit der Erhöhung der Temperatur zunimmt.^[98, 99]

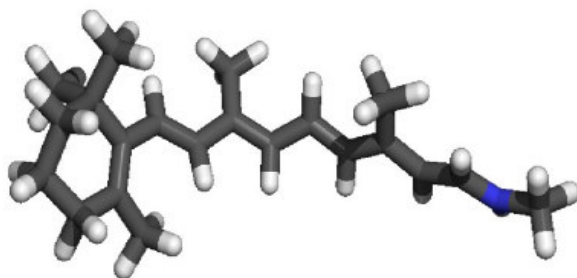


Abbildung 25: Modell des nativen all-trans-Retinal

Die Charakterisierung des Bathozustandes gelang experimentell bereits mit Hilfe unterschiedlicher spektroskopischer Methoden (UV, IR, Raman, NMR, CD) [95, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106] und zuletzt auch kristallographisch.^[107] Alle Methoden liefern annähernd übereinstimmende Daten für den Chromophor und die ihn umgebende Proteintasche.

Beim Übergang vom Grund- in den Bathozustand sind die Änderungen in der Proteinumgebung des Chromophors relativ gering. Die Proteinumgebung in der Nähe des Stickstoffatoms der Schiff-Base ändert sich beim Übergang vom Photo- zum Bathorhodopsin beispielsweise überhaupt nicht.^[108] Erst beim Übergang des Batho- in den Lumizustand reagiert die Proteinumgebung auf die veränderte Chromophorgeometrie^[109, 110, 111, 112] und es kommt zu strukturellen Änderungen.

Im Gegensatz dazu ist die Struktur des Chromophors im Bathozustand, im Vergleich zum Dunkelzustand des Proteins, deutlich verändert, eine Folge der veränderten Konfiguration um die C11-C12-Bindung. Viele Anzeichen in den experimentellen Spektren deuten darauf hin, daß der Chromophor stark verdrillt ist. Besonders auffällig erscheint, daß offensichtlich vor allem die Doppelbindungen verdrillt sind, während die Einfachbindungen nahezu planar sind.

Im Bathozustand sind ca 63 % der Energie eines Photons gespeichert, was bei 500 nm einer Energie von etwa 35 kcal/mol^[110, 113, 114, 115, 116] entspricht. Die Energie, die im System gespeichert ist, wird in den folgenden Schritten des Photozyklus wieder abgegeben. Der Bathozustand ist demnach eine entscheidende Zwischenstufe in der Sehkaskade.

Ein geringer Teil der Energie wird dabei in Form elektrostatischer Energie gespeichert, und zwar durch Ladungstrennung zwischen der protonierten Schiff-Base des Retinals und dem negativ geladenen Gegenion Glu113.^[103, 117] Durch die Isomerisierung des Chromophors von der 11-cis in die all-trans Form könnte der Chromophor seine Entfernung zum Glu113 vergrößern, was die Speicherung der Energie möglich machen würde.

Das CD-Spektrum des Bathorhodopsins zeigt im Gegensatz zum Dunkelzustand eine negative α -Bande.^[118] Diese Tatsache läßt darauf schließen, daß sich die Torsion innerhalb der Kette als Folge der Isomerisierung deutlich geändert haben muß;^[89] vielleicht hat sie sich sogar umgekehrt. Zeigt das 11-cis-Retinal eine positive Bande, so sollte das all-trans-Retinal aufgrund seiner negativen Bande eine andere Verdrillung als der Grundzustand haben. Vor allem die Torsion am C12-Atom sollte demnach unterschiedlich sein, da dessen Bindungen als Verursacher der α -Bande angesehen werden.^[80, 81, 119]

Der Hauptanteil der Energie des einfallenden Photons wird allerdings dadurch gespeichert, daß die Doppelbindungen des Retinalchromophors extrem verdrillt sind.^[89, 106, 115, 120, 121, 122] Der Chromophor liegt somit in einer energetisch sehr hoch liegenden Konformation vor.

Da sich die experimentelle Charakterisierung aufgrund der Reaktionsbedingungen teilweise als sehr schwierig erweist, ist es umso wichtiger, den Bathozustand theoretisch zu beschreiben. In dieser Arbeit wurden verschiedene Modelle des Bathozustandes des Wildtyps und der bereits bekannten Retinalderivate berechnet. Die Berechnung der Derivate ist besonders interessant, da man davon ausgeht, daß die Torsion des Bathozustandes durch die Wechselwirkungen der

Methylgruppen am C9- und C13-Atom mit der Proteinumgebung hervorgerufen wird.^[123] Durch die Berechnung der an der Position 9 und 13 demethylierten Modellsysteme kann diese Theorie geprüft werden.

4.3.2 Derivate des Bathorhodopsin

Mit Hilfe von QM/MM-Simulationen wurden Bathorhodopsinstrukturen der Retinalanalogen all-trans-13-Demethyl-, all-trans-10-Methyl-, all-trans-10-Methyl-13-Demethyl- und all-trans-9-Demethylretinal erzeugt. Da dieses Vorgehen bereits bei dem Rhodopsin selbst zu recht guten Ergebnissen geführt hatte, kann man davon ausgehen, daß auch die Bathostrukturen ein realitätsnahes Bild zeigen. Der Bathozustand des nativen Systems ist in der Literatur ausführlich beschrieben und charakterisiert. Von den Bathostrukturen der Derivate ist teilweise lediglich deren Existenz bewiesen; Absorptionsmaxima und Rotationsstärken sind weitgehend unbekannt. Im Arbeitskreis wurden die Bathozustände von all-trans-13-Demethyl- und all-trans-9-Demethylrhodopsin untersucht, so daß zu diesen Analogon somit Absorptionsmaxima und Rotationsstärken bekannt sind.

Von den Derivaten sind folgende Fakten aus der Literatur zugänglich:

- all-trans-13-Demethylretinal: Der Bathozustand wird im Vergleich zum nativen System schneller gebildet, er ist allerdings nicht sehr stabil. Es bildet sich ein Gleichgewicht zwischen Batho und BSI aus, an dem der Bathozustand lediglich mit ca. 20 % beteiligt ist.^[77, 98, 124]
- all-trans-10-Methylretinal: Im Gegensatz zum Wildtyp ist der Bathozustand dieses Derivates auch bei höheren Temperaturen, bis hin zu 210 K, stabil.^[85, 95] Die Verdrillung des Chromophors ist im Vergleich zum nativen Rhodopsin stärker, was an der zusätzlichen Methylgruppe zu liegen scheint.^[86]
- all-trans-10-Methyl-13-Demethylretinal: Über dieses Derivat existieren in der Literatur keine expliziten Angaben. Bekannt ist lediglich, daß 11-cis-10-Methyl-13-Demethylretinal einen ähnlichen Photozyklus aufweist wie das native Rhodopsin.^[75, 75]
- all-trans-9-Demethylretinal: Von diesem Chromophor ist bekannt, daß er im Dunkelzustand schon wesentlich relaxierter in der Proteintasche vorliegt,

als dies beim 11-cis-Retinal der Fall ist. Für den Bathozustand des Systems gilt das gleiche: Während im Wildtyp die Relaxation des Chromophors erst beim Übergang in den Lumizustand erfolgt, ist hier der Chromophor bereits im Bathozustand wesentlich weniger verdrillt.^[90]

4.3.3 Modellsysteme der Retinalanalogen des Bathorhodopsins

Alle berechneten Modelle wurden auf der Grundlage von QM/MM-Simulationen erzeugt, die auf der Röntgenstruktur des Bathorhodopsin von Okada^[107] basieren. Als Modellsystem wurde auch hier wieder ein fünf Doppelbindungen umfassendes System gewählt, wobei wie zuvor die N-Lys296-Bindung und die C6-C7-Bindung durchtrennt und die Gruppen durch ein Wasserstoffatom substituiert wurden. Das Gegenion Glu113 wurde erneut durch ein Formation ersetzt. Mit einbezogen in die Rechnung wurde hier allerdings auch das Wassermolekül wat2b. Wie man aus den Rechnungen aus Kapitel 4.1 erkennen kann, trägt die Anwesenheit des Wassermoleküls nicht entscheidend zur Lage des Absorptionsmaximums bei, es verschiebt dieses lediglich um 2-3 nm. Die ermittelten Daten können demnach mit den Daten für die Derivate des Wildtyps aus Kapitel 4.2 verglichen werden, bei denen das Wassermolekül nicht mit in die Rechnung einbezogen wurde.

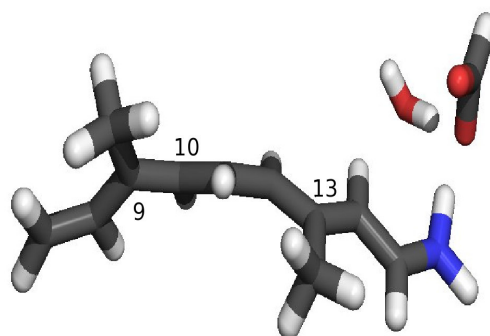


Abbildung 26: Modell des Systems all-trans-Retinal

Für das all-trans-9-Demethylretinal wurden zwei verschiedene Modelle erzeugt: eins in dem die Umgebung analog zu den anderen Systemen simuliert wurde, und ein Modell, bei dem an Stelle von einem (wat2b) alle Wassermoleküle in den QM-Teil der QM/MM-Simulation mit einbezogen wurden. Dies geschah, da der

Wasserstoff der protonierten Schiff-Base wie schon bei den Dunkelzuständen stark oszillierte. Die mit allen Wassermolekülen simulierte Struktur wird im folgenden mit der Kennzeichnung .all bezeichnet. Die folgenden Abkürzungen werden für die berechneten Modellsysteme verwendet.

Tabelle 12: Abkürzungen der Modellsysteme

Abkürzung	Retinalchromophor
wt(b)	all-trans Retinal (Wildtyp)
13dem(b)	all-trans-13-Demethylretinal
10me(b)	all-trans-10-Methylretinal
10me13dem(b)	all-trans-10-Methyl-13-Demethylretinal
9dem(b)	all-trans-9-Demethylretinal
9dem.all(b)	all-trans-9-Demethylretinal

Die Moleküldynamik der hier untersuchten Modelle des Bathorhodopsins und seiner Derivate wurden von Sugihara bei zwei unterschiedlichen Temperaturen, 90 und 130 K, verfolgt. Der Temperaturbereich, in dem das native System stabil ist, ist bekannt. Vom 10-Methylbathorhodopsin weiß man, daß es bei wesentlich höheren Temperaturen als der Wildtyp stabil ist.^[86] Von den übrigen Derivaten ist hingegen kein Temperaturbereich bekannt, in dem sich der Bathozustand ausbildet und auch stabil ist. Wenn im folgenden jeweils zwei Strukturen bei unterschiedlichen Temperaturen untersucht werden, kann man davon ausgehen, daß der Bathozustand mit höherer Zuverlässigkeit beschrieben wird.

4.3.4 Strukturelle Besonderheiten der Derivate des Bathorhodopsins

Alle gewählten Modellsysteme wurden zunächst auf ihre strukturellen Besonderheiten hin untersucht. Die Bindungslängen der Bathoanalogen sind in Abbildung 27 dargestellt. Daraus wird deutlich, daß sich die bei 90 und 130 K simulierten Strukturen von den Bindungslängen her kaum unterscheiden. Die Differenzen bewegen sich im Bereich von 0 bis 0,5 pm und sind deshalb zu vernachlässigen. Auch hier zeigt sich wieder das von den Dunkelzuständen her bekannte Verhalten, daß sich die Bindungslängen innerhalb der Kette verkürzen, wenn eine der Methylgruppen entfernt wird. Dies kann auch hier erneut auf den elektronenschiebenden

Effekt der Methylgruppen zurückgeführt werden, die durch ihren induktiven Effekt die Elektronendichte in der Kette vergrößert und somit für eine Verlängerung der Bindungslängen innerhalb der Kette sorgt.^[93] Eine andere Möglichkeit sind die veränderten strukturellen Wechselwirkungen zwischen dem Kohlenstoffatom in der Kette und seinem Substituenten. Im Gegensatz zu der Methylgruppe hat das Wasserstoffatom einen wesentlich geringeren Raumbedarf. Dies könnte sich in einer Verkürzung der Bindungslängen äußern, wenn die Methylgruppe durch ein Wasserstoffatom ersetzt wird.

Im Vergleich zu den Dunkelzuständen haben die Bathomodelle alle eine wesentlich geringere Bindungsalternanz. Vor allem die an der Position 13 demethylierten Strukturen weisen in der Nähe des Stickstoffatoms kaum Alternanz auf. Insgesamt gesehen haben diese Modelle die geringste Alternanz aller Derivate. Die größte Bindungsalternanz der Modellchromophore weist hingegen die Struktur all-trans-9-Demethylretinal auf.

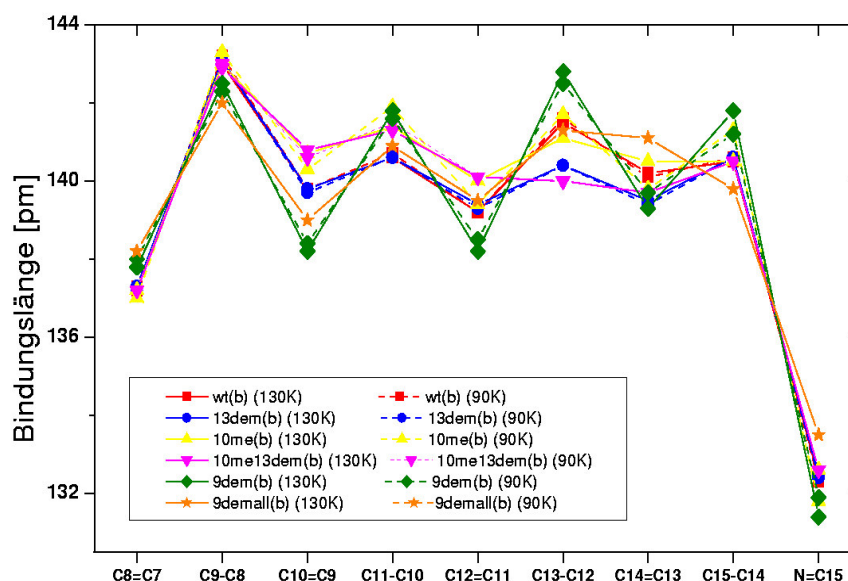


Abbildung 27: Vergleich der Bindungslängen der bei 90 und 130 K simulierten Strukturen

Die Torsionswinkel der bei 130 bzw. 90 K optimierten Strukturen sind ebenfalls so gut wie identisch. Auch hier sind die Unterschiede äußerst gering, wie man Abbildung 28 entnehmen kann.

Im Vergleich zu den Dunkelstrukturen fällt auf, daß sämtliche Modelle wesentlich stärker um die Doppelbindungen verdrillt sind. Wie auch schon bei den Grundzustandsmodellensystemen sind die Derivate des all-trans-9-Demethylretinal um die C11=C12-Doppelbindungen etwas weniger stark tordiert als die anderen Strukturen, dafür aber umso um mehr die C11-C10-Einfachbindung. Auch im Bathozustand kann hier der energetisch ungünstigeren Verdrillung der Doppelbindung ausgewichen werden, da es durch den Wegfall der Methylgruppe am C9-Atom zu einer größeren strukturellen Freiheit kommt. Die Wechselwirkungen zwischen der Methylgruppe am C13- und dem Wasserstoff am C10-Atom, welche zu einer Verdrillung um die C11=C12-Bindung führen würde,^[75, 76, 79] können durch die Torsion der C11-C10-Einfachbindung vermieden werden.

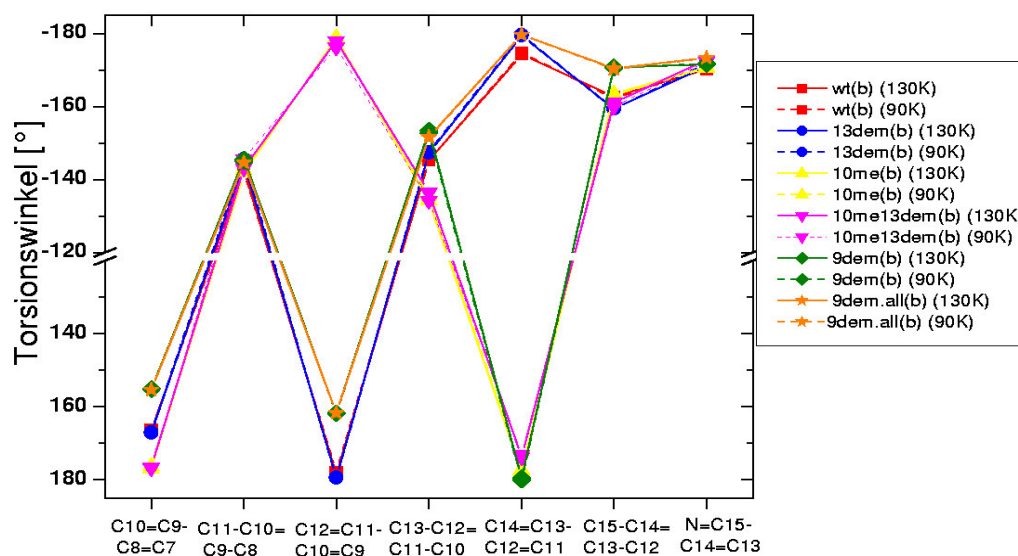


Abbildung 28: Vergleich der Torsionswinkel der bei 90 und 130 K simulierten Strukturen

Bei den beiden Strukturen all-trans-10-Methyl- und all-trans-10-Methyl-13-Demethylretinal zeigt sich erneut die stärkere Verdrillung um die C11=C12-Bindung. Die Ursache dafür scheint die neu eingeführte Methylgruppe zu sein, welche durch ihren größeren Raumanspruch in Wechselwirkung mit der Proteinumgebung tritt und damit zu einer weiteren Verdrillung der C11=C12-Bindung führt. Im Fall der all-trans-10-Methyl-Struktur kommen zusätzlich noch die Wechselwirkungen

zwischen den Methylgruppen am C10- und C13-Atom hinzu. Diese Struktur ist zusätzlich noch stark um die C11-C10- und C12-C13-Einfachbindungen tordiert.

Ein Vergleich aller all-trans Strukturen zeigt allerdings, daß sich vor allem Unterschiede zwischen den all-trans-9-Demethylretinal-Strukturen und den übrigen ergeben. In Abbildung 29 sind alle Modellsysteme übereinander gelegt. Es ist, wie auch schon bei den Derivaten der Grundzustandes, zu erkennen, daß die 9-Demethylretinalstruktur eine andere Konformation einnimmt als die übrigen Analogen. Ursache dafür scheint die bereits erwähnte schwächere Verdrillung im Bereich der Kohlenstoffatome 10 bis 12 zu sein.

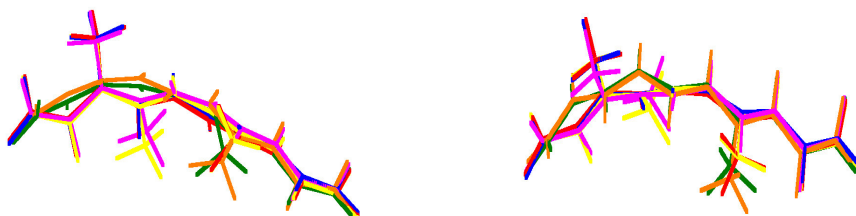


Abbildung 29: Die Strukturen im Vergleich (wt = rot, 13dem = blau, 10me = gelb, 10me13dem = magenta, 9dem = grün, 9dem.all = orange)

Dies wird durch die Daten der C7=C8 ... C15=N-Torsionswinkel, die in Tabelle 13 aufgelistet sind, noch bestätigt.

Tabelle 13: C7=C8 ... C15=N-Torsionswinkel der Modelle

Analog	C7=C8...C15=N (130K)	C7=C8...C15=N (90K)
all-trans-Retinal	172,4	171,2
all-trans-13-Demethylretinal	164,6	162,2
all-trans-10-Methylretinal	170,5	170,3
all-trans-10-Methyl-13-Demethylretinal	162,7	163,1
all-trans-9-Demethylretinal	154,3	155,2
all-trans-9-Demethylretinal.all	152,9	152,7

Hier zeigen sich deutliche Unterschiede, was die Gesamttorsion des Chromophors betrifft. Durch die unterschiedliche Verdrillung nehmen die all-trans-9-Demethylstrukturen eine anders verdrillte Form ein und scheinen so die Wechselwirkungen innerhalb des Moleküls und mit der Proteintasche zu vermindern.

Ein weiterer Punkt, in dem sich einige der Strukturen voneinander unterscheiden, ist der Chromophor-Glu113 Abstand. Der Stickstoff-Sauerstoff Abstand beträgt hier zumeist, wie bei den Modellen vorher, zwischen 263 und 268 pm.

Einige Strukturen weisen allerdings einen im Vergleich dazu verkürzten N-O Abstand auf. Bei der Struktur all-trans-9-Demethylretinal (90 K), ist dieser mit 258 pm lediglich leicht verkürzt. Hingegen ist der Abstand bei den Strukturen all-trans-10-Methyl- (90 K) und all-trans-9-Demethylretinal (130 K) mit jeweils 251 pm drastisch verkürzt. Da der Abstand zwischen Chromophor und Gegenion die Lage des Absorptionsmaximums stark beeinflusst, wie bereits in Kapitel 4.1 angedeutet wurde, ist es notwendig, die oben beschriebenen Abweichungen bei der Auswertung der spektroskopischen Daten zu berücksichtigen.

4.3.5 Spektroskopische Daten der Derivate des Bathorhodopsins

Für alle aufgeführten Modelle wurden der Grundzustand und die ersten fünf angeregten Zustände berechnet. In Tabelle 14 sind die spektroskopischen Daten des Grundzustandes und der beiden ersten angeregten Zustände aufgelistet.

Tabelle 14: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillator (f) - und Rotationsstärken (R) und die dominierenden Konfigurationen^b der bei unterschiedlichen Temperaturen optimierten Modellchromophore der Analogen des Bathorhodopsins

	CASSCF			state	CASPT2			Konfiguration	Gewicht
	Energie au	f	R		Energie au	f	R		
wt(b)	-744,6868			S_0	-746,9782			$(4a)^2(5a)^2$	70
130K	4,70 (264)	1,53	-0,133	S_1	2,59 (479)	0,84	-0,241	$(5a)^1(6a)^1$	60
	3,05 (407)	0,00	-0,004	S_2	2,79 (445)	0,00	-0,005	$(5a)^1(7a)^1$	14
								$(4a)^1(6a)^1$	20
								$(5a)^0(6a)^2$	24
wt(b)	-744,6866			S_0	-746,9780			$(4a)^2(5a)^2$	70
90K	4,73 (262)	1,54	-0,121	S_1	2,60 (477)	0,85	-0,216	$(5a)^1(6a)^1$	61
	3,06 (405)	0,00	-0,004	S_2	2,80 (443)	0,00	-0,004	$(5a)^1(7a)^1$	14
								$(4a)^1(6a)^1$	20
								$(5a)^0(6a)^2$	24
13dem(b)	-705,6437			S_0	-707,7935			$(4a)^2(5a)^2$	70
130K	4,67 (265)	1,52	-0,111	S_1	2,60 (478)	0,84	-0,200	$(5a)^1(6a)^1$	61
	3,00 (413)	0,00	-0,003	S_2	2,75 (451)	0,00	-0,003	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	25
13dem(b)	-705,6450			S_0	-707,7942			$(4a)^2(5a)^2$	70
90K	4,66 (266)	1,52	-0,099	S_1	2,60 (477)	0,85	-0,179	$(5a)^1(6a)^1$	61
	3,03 (410)	0,00	-0,003	S_2	2,77 (447)	0,00	-0,003	$(5a)^1(7a)^1$	15
								$(4a)^1(6a)^1$	18
								$(5a)^0(6a)^2$	25

10me(b)	-783,7180			S_0	-786,1557				$(4a)^2(5a)^2$	68
130K	4,58 (271)	1,44	-0,125	S_1	2,46 (503)	0,78	-0,231		$(5a)^1(6a)^1$	59
	2,85 (435)	0,00	-0,003	S_2	2,60 (477)	0,00	-0,003		$(5a)^1(7a)^1$	14
									$(4a)^1(6a)^1$	21
									$(5a)^0(6a)^2$	23
10me(b)	-783,7247			S_0	-786,1612				$(4a)^2(5a)^2$	70
90K	4,95 (251)	1,50	-0,127	S_1	2,66 (466)	0,81	-0,234		$(5a)^1(6a)^1$	62
	2,99 (415)	0,00	-0,002	S_2	2,72 (455)	0,00	-0,002		$(5a)^1(7a)^1$	14
									$(4a)^1(6a)^1$	20
									$(5a)^0(6a)^2$	25
10me13dem(b)	-744,6761			S_0	-746,9714				$(4a)^2(5a)^2$	68
130K	4,55 (272)	1,43	-0,102	S_1	2,48 (501)	0,78	-0,190		$(5a)^1(6a)^1$	59
	2,84 (437)	0,00	-0,002	S_2	2,60 (477)	0,00	-0,002		$(5a)^1(7a)^1$	14
									$(4a)^1(6a)^1$	19
									$(5a)^0(6a)^2$	25
10me13dem(b)	-744,6743			S_0	-746,9698				$(4a)^2(5a)^2$	68
90K	4,55 (273)	1,40	-0,114	S_1	2,48 (501)	0,78	-0,190		$(5a)^1(6a)^1$	59
	2,86 (434)	0,00	-0,002	S_2	2,61 (475)	0,00	-0,002		$(5a)^1(7a)^1$	14
									$(4a)^1(6a)^1$	19
									$(5a)^0(6a)^2$	25
9dem(b)	-705,6649			S_0	-707,8099				$(4a)^2(5a)^2$	73
130K	5,30 (234)	1,68	0,247	S_1	3,03 (410)	0,96	0,432		$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,44 (360)	0,00	0,001	S_2	3,14 (395)	0,00	0,001		$(5a)^1(7a)^1$	15
									$(4a)^1(6a)^1$	19
									$(5a)^0(6a)^2$	26
9dem(b)	-705,6535			S_0	-707,8025				$(4a)^2(5a)^2$	73
90K	5,07 (244)	1,64	0,220	S_1	2,91 (426)	0,94	0,386		$(5a)^1(6a)^1$	64
	3,35 (370)	0,00	0,001	S_2	3,07 (404)	0,00	0,001		$(5a)^1(7a)^1$	16
									$(4a)^1(6a)^1$	19
									$(5a)^0(6a)^2$	25
9dem.all(b)	-705,6460			S_0	-707,7959				$(4a)^2(5a)^2$	71
130K	4,69 (264)	1,56	0,180	S_2	2,68 (462)	0,89	0,314		$(5a)^1(6a)^1$	60
	3,11 (399)	0,00	0,001	S_3	2,86 (433)	0,00	0,001		$(5a)^1(7a)^1$	15
									$(4a)^1(6a)^1$	20
									$(5a)^0(6a)^2$	23
9dem.all(b)	-705,6460			S_0	-707,7957				$(4a)^2(5a)^2$	71
90K	4,69 (264)	1,56	0,180	S_2	2,69 (462)	0,89	0,318		$(5a)^1(6a)^1$	60
	3,11 (399)	0,00	0,001	S_3	2,87 (433)	0,00	0,001		$(5a)^1(7a)^1$	15
									$(4a)^1(6a)^1$	20
									$(5a)^0(6a)^2$	23

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Der S_0 -Zustand wird bei allen Modellen von der $(4a)^2(5a)^2$ -Konfiguration bestimmt, mit einem Gewicht zwischen 68 und 73 %. Die Konfiguration $(5a)^1(6a)^1$ dominiert den S_1 -Zustand aller Modelle. Hierbei handelt es sich um den Über-

gang eines Elektrons aus dem HOMO in das LUMO. Mit einer Oszillatorstärke um die 0,78 - 0,96 ist diese Anregung die wichtigste (59 - 66 %) und wird in der folgenden Auswertung auch am ausführlichsten diskutiert. Der zweite angeregte Zustand (S_2) setzt sich ebenfalls bei allen Modellen gleich zusammen. Es handelt sich hierbei um eine Kombination der Übergänge $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}+1$, $\text{HOMO}-1 \rightarrow \text{LUMO}$ sowie dem zweifachen $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}$ Übergang.

Bei den meisten Strukturen unterscheiden sich die Absorptionen für die bei 90 und 130 K ermittelten Daten nur um ein bis zwei Nanometer. Im Falle des all-trans-10-Methylretinals ist dies allerdings nicht der Fall. Die bei 90 K erzeugte Struktur weist einen deutlichen hypsochromen Shift auf. Hauptursache dafür ist der im Vergleich zu den anderen Derivaten deutlich verringerte Abstand zum Gegenion. Dadurch kommt es zu einer Verstärkung der elektrostatischen Wechselwirkung, was eine Verschiebung des Absorptionsmaximums zu kürzeren Wellenlängen nach sich zieht. [35, 67, 70, 72, 125] Das gleiche gilt für die all-trans-9-Demethylstrukturen (90 K und 130 K), die im Vergleich zu den entsprechenden all-trans-9-Demethyl.all Derivaten bei wesentlich kürzeren Wellenlängen absorbieren, was auch hier auf den kürzeren Abstand zwischen Gegenion und Chromophor zurückgeführt werden kann.

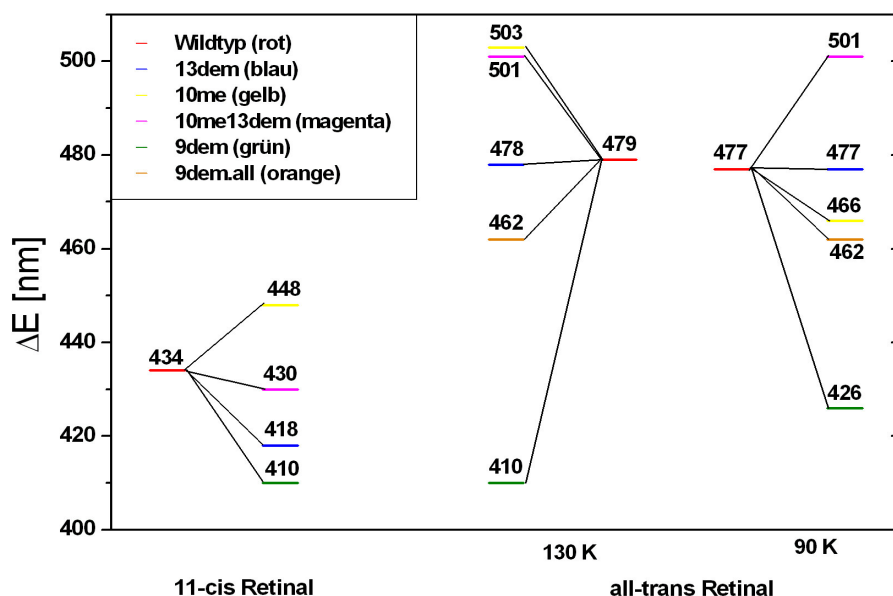


Abbildung 30: Vergleich der $S_0 - S_1$ - Übergänge des Rhodopsins (11-cis-Retinal) und des Bathochromophors (all-trans-Retinal)

Tabelle 15 und Abbildung 30 zeigen die berechneten Daten und die aus der Literatur und dem Experiment bekannten Werte. Die experimentellen Werte (exp.) stammen wiederum aus dem Arbeitskreis.^[96] Die Rotationsstärken wurden, wie schon bei den Rhodopsinderivaten, auf den berechneten Wert des Wildtypmodells normiert (exp. 90 K und exp. 130 K). Es erfolgt also erneut lediglich ein Vergleich der Verhältnisse der Rotationsstärken zueinander.

Tabelle 15: Vergleich der berechneten Daten mit denen aus dem Experiment und der Literatur

	CASPT2 (130K)		CASPT2 (90K)		Literatur	exp. (130K)		exp. (90K)
	λ_{max} nm	R au	λ_{max} nm	R au	λ_{max} nm	λ_{max} nm	R au	R au
wt(b)	479	-0,241	477	-0,216	534	535	-0,241	-0,216
13dem(b)	478	-0,200	477	-0,179	-	523	-0,200	-0,179
10me(b)	503	-0,231	466	-0,231	-	-	-	-
10me13dem(b)	501	-0,190	501	-0,190	-	-	-	-
9dem(b)	410	0,432	426	0,386	-	471	0,156	0,140
9dem.all(b)	462	0,314	462	0,318	-	471	0,156	0,140

Die Absorption des nativen Retinals wird von 434 nm im 11-cis- zu 479/477 nm im all-trans-Retinal verschoben. Dies entspricht einem Shift von 45/43 nm. Bei den Bathostrukturen wurde zwar wat2b mit in die Rechnungen mit einbezogen, dieses führt allerdings lediglich zu einer Verschiebung des Shifts von 1-2 nm. Im Experiment beträgt der Shift 37 nm (498/535 nm). Der berechnete Wert stimmt demnach tendenziell sehr gut mit dem Experiment überein.

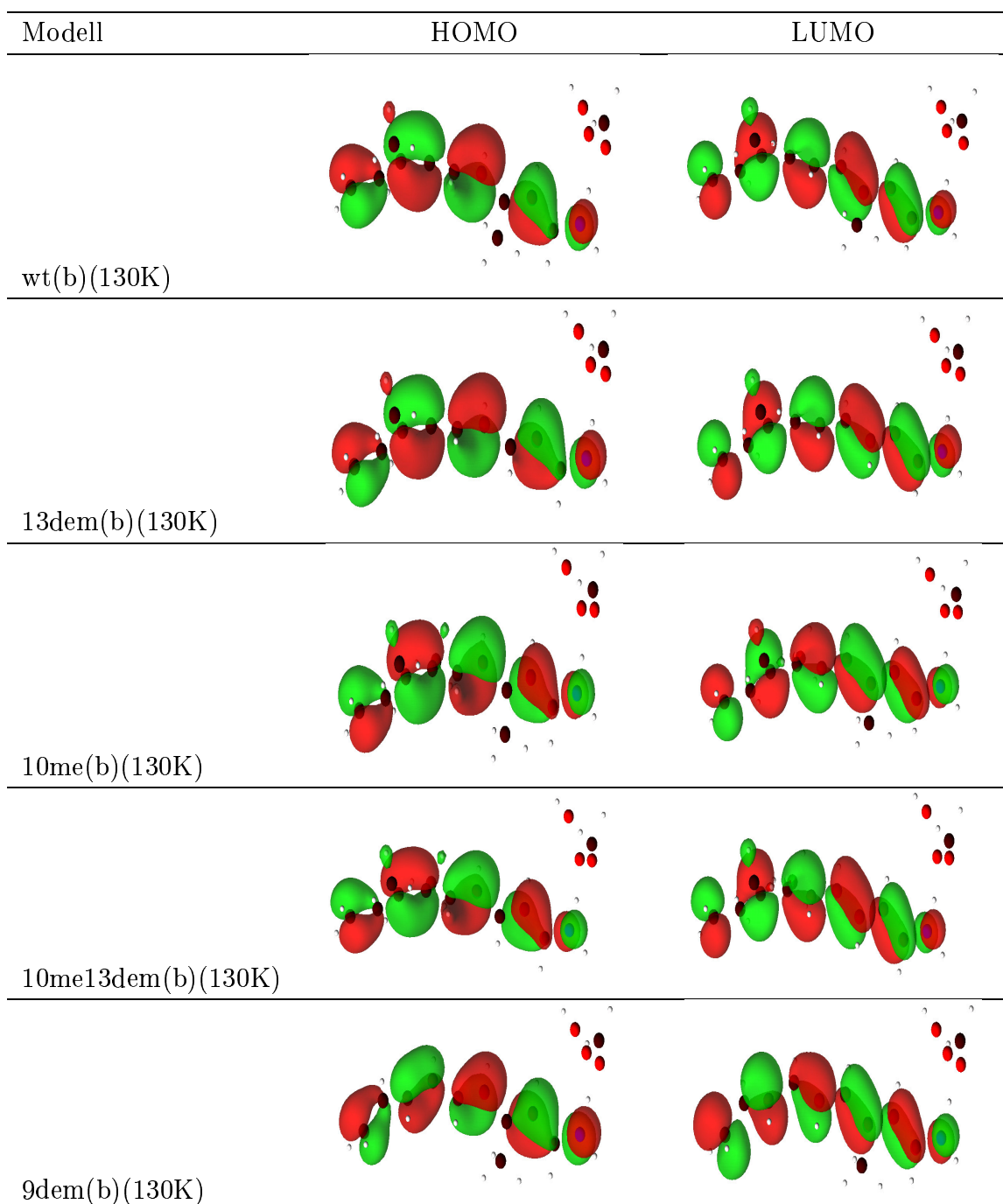
Die experimentelle Verschiebung für all-trans-9-Demethylrhodopsin beträgt 63 nm zu kürzeren Wellenlängen. Für die berechneten all-trans-9-Demethyl.all Strukturen (90 und 130 K) ergibt sich ein Verschiebung von 15-17 nm. Diese ist im Vergleich zum Experiment demnach viel zu gering. Die all-trans-9-Demethyl Strukturen liefern hingegen einen Shift von 51-69 nm, welcher eher das Experiment zu reproduzieren scheint. Die Unterschiede zwischen den Modellen sind im folgenden beschrieben: zum einen ist der Abstand vom Chromophor zum Gegenion in den 9dem-Strukturen mit um die 251 pm deutlich geringer als der der 9dem.all-Modelle, wo er bei 268 pm liegt. Dies führt zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums zu kürzeren Wellenlängen. Des Weiteren ist die Bindungsalternanz der 9dem.all-Strukturen größer. Wie in Kapitel 4.1 und 4.4 beschrieben, hat dies in Gegenwart des Gegenions ebenfalls einen entscheidenden Einfluß auf die Lage des Absorptionsmaximums.^[37, 67] Die hypsochrome Verschiebung ist

demnach eine Kombination des festgestellten kürzeren Chromophor-Glu113 Abstandes und der veränderten Bindungslängen im Vergleich zur Wildtyp-Struktur.

Bei den all-trans-10-Methyl-13-Demethyl-Derivaten zeigt sich eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums von 20 nm im Vergleich zum Wildtyp. Die Strukturen sind deutlich stärker um die C11=C12-Bindung verdrillt, was einen bathochromen Shift zur Folge hat. Zum anderen weisen diese Strukturen eine relativ geringe Bindungsalternanz auf, was ebenfalls zu einer weiteren Verschiebung von λ_{max} zu längeren Wellenlängen führt. Ähnliche Beobachtungen gelten auch für die all-trans-10-Methylretinal-Strukturen. Deshalb liegt das Absorptionsmaximum der bei 130 K ermittelten Struktur auch im selben Wellenlängenbereich wie bei den 10-Methyl-13-Demethylretinal-Analogen. Die 90 K Struktur fällt aus dem oben genannten Grund des kürzeren Abstandes zwischen Chromophor und Gegenion aus der Betrachtung heraus, da dieser dafür sorgt, daß λ_{max} zu stark kurzweilig verschoben wird.

Findet sich experimentell ein hypsochromer Shift von 11 nm für die Bathostruktur des 13-Demethylretinals, so absorbieren die simulierten Strukturen bei der gleichen Wellenlänge wie der Wildtyp. Bei den Dunkelzuständen wurde berechnet, daß eine Demethylierung zu einem starken hypsochromen Shift führt. Dieser wird bei der Bathostruktur des 13-Demethylretinals dadurch kompensiert, daß diese Struktur kaum Bindungsalternanz aufweist. Die Absorptionsmaxima verschieben sich dadurch wieder zu längeren Wellenlängen und somit in den Bereich, in dem auch die Struktur des Wildtyps absorbiert.

Die Orbitale der 130 und 90 K Strukturen lassen sich optisch nicht voneinander unterscheiden. Aus diesem Grund wurden nur die der bei 130 K optimierten Strukturen dargestellt. Auch hier ist wie schon bei den 11-cis-Retinal-Strukturen zu erkennen, daß die Elektronendichte um das C9-Atom abnimmt, wenn dort die Methylgruppe durch ein Wasserstoffatom ausgetauscht wird. Erfolgt dies an der C13-Position, so ist der Effekt wiederum nicht ganz so ausgeprägt, da das Gegenion für eine Lokalisierung der Elektronendichte in diesem Bereich des Moleküls sorgt und somit der Effekt der Methylgruppe an der leicht erhöhten Elektronendichte am C13-Atom nicht so stark in das Gewicht fällt. Eine Methylierung am Kohlenstoffatom 10 zeigt hier auch einen wesentlich geringeren Einfluß auf die Orbitale als bei den dark state Strukturen.



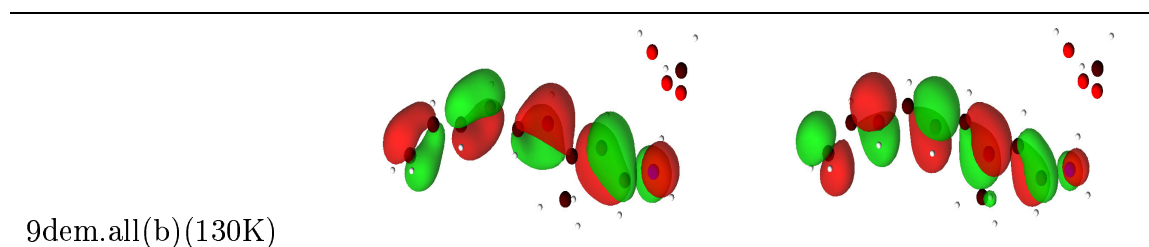


Abbildung 31: HOMO (links) und LUMO (rechts) der Modellsysteme

Abbildung 32 zeigt die Rotationsstärken der berechneten Modelle zusammen mit den experimentellen Werten des entsprechenden Pigments. Hierbei wurden sowohl die 130 K als auch die 90 K Daten aufgetragen. Die Ergebnisse wurden, wie bei den Modellsystemen des Grundzustandes zuvor, auf den berechneten Wert für den Wildtyp normiert.

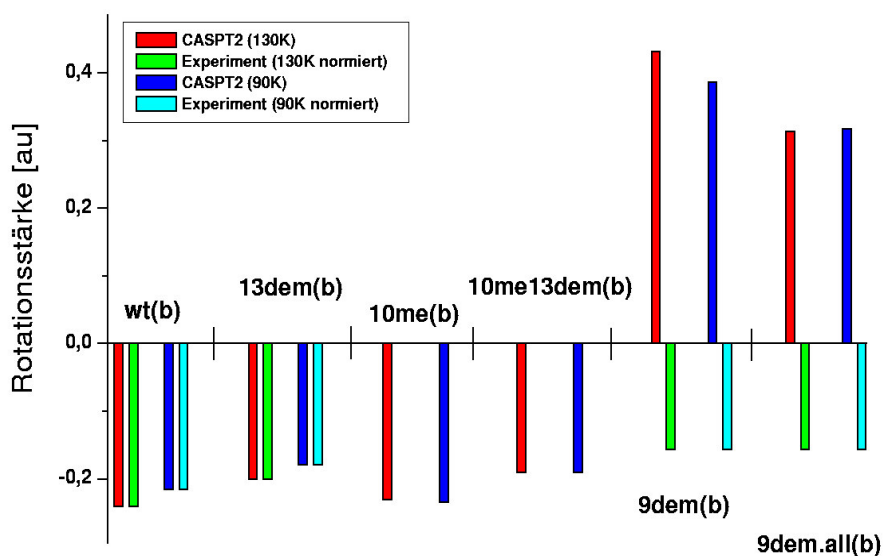


Abbildung 32: Berechnete und experimentell bestimmte Rotationsstärken der Systeme: in rot und blau die berechneten Daten der bei 90 und 130K erzeugten Strukturen, in grün und türkis die auf diese Daten normierten experimentellen Werte (siehe auch Tabelle 14)

Deutlich zu erkennen ist, daß sich das Vorzeichen der Rotationsstärken im Vergleich zum Dunkelzustand umgekehrt hat, was mit den experimentellen Daten im

Einklang steht.^[118] Die einzige Ausnahme sind die all-trans-9-Demethylretinal-Strukturen, hier bleibt das positive Vorzeichen der Rotationsstärke erhalten. Abbildung 29 liefert eine Erklärung für dieses abweichende Verhalten. Im Gegensatz zu den übrigen Derivaten sind die all-trans-9-Demethyl-Strukturen so tordiert, daß sie einen Bogen beschreiben. Diese andersartige Torsion im Vergleich zu den übrigen Strukturen führt dazu, daß sich das Vorzeichen der CD-Bande bei den all-trans-9-Demethyl-Strukturen nicht umgekehrt hat.

Die berechneten Daten für die all-trans-13-Demethylretinal Banden stimmen sehr gut mit denen aus dem Experiment überein. Die simulierten Strukturen scheinen demnach die tatsächlichen Verhältnisse im Rhodopsin wiederzugeben. Das all-trans-13-Demethylretinal hat eine Rotationsstärke, die etwas geringer ist als die des nativen Retinals.

Zwischen den Derivaten gibt es auch kaum Unterschiede, was sich dadurch erklären läßt, daß die Torsionswinkel der Modelle relativ ähnlich sind. Es gibt einige Abweichungen im Fall der 9-Demethylstruktur und der an Position 10 methylierten Strukturen, doch beziehen sich diese lediglich jeweils auf eine Bindung. Die Modelle sind zwar stärker um die Doppelbindungen verdrillt als ihre 11-cis-Analogen, doch scheint die Torsion insgesamt gesehen nicht so stark zu sein, da die Rotationsstärken generell geringer sind. Dies steht im Widerspruch zu den Experimenten, bei denen eine höhere Intensität der α -Bande im Bathozustand gegenüber dem Dunkelzustand gefunden wird.^[118] Bei den Dunkelzuständen waren die Unterschiede zwischen den Modellen wesentlich stärker ausgeprägt, was zu wesentlich auffälligeren Unterschieden in der Höhe der Rotationsstärken führte.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Modelle der Bathozustände die tatsächlichen Zustände im Protein wahrscheinlich nicht so genau wiedergeben, wie dies bei den Dunkelzuständen gelungen ist. Der Grund dafür sind auch die fehlenden Vergleichswerte aus Experiment und Literatur. Einige Daten, wie die Rotationsstärke des Wildtyps oder des all-trans-13-Demethylretinals, sind zwar mit dem Experiment im Einklang, doch gibt es auch andere Fälle. Die Rotationsstärken des 9-Demethylderivates zeigen zum Beispiel ein Ergebnis, welches nicht mit dem Experiment übereinstimmt, sondern vielmehr in die entgegengesetzte Richtung weist. Die Absorptionen der Modelle lassen sich erklären, doch gibt es auch dafür kaum Vergleichswerte. Es können zwar im Falle des all-trans-9-Demethylretinals die Tendenzen des experimentell gefundenen Shifts reproduziert werden, doch ist die Ursache dafür vielleicht eher in dem verkürzten Abstand zwi-

schen Gegenion und Chromophor zu sehen als in den strukturellen Gegebenheiten des Modells, da das Modell ja doch stark abweichende Rotationsstärken zeigt.

Generell läßt sich sagen, daß auch hier wieder die schon in Kapitel 4.1 und 4.2 aufgezeigten Gründe zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums führen. Dies sind zum einen die Verdrillung um Doppel- und Einfachbindungen und zum anderen die unterschiedliche Alternanz der Bindungslängen der Modellsysteme. Bei dieser Studie kam zum ersten Mal der veränderte Abstand zwischen Chromophor und Gegenion zum Tragen. War dieser bisher bei allen Modellen annähernd gleich, so traten hier signifikante Unterschiede auf, die sich in der Lage der Absorptionsmaxima bemerkbar machten.

4.4 Der Einfluß der Bindungsalternanz

Die in den vorangegangenen Kapiteln erhaltenen Ergebnisse lassen vermuten, daß der Einfluß der Bindungsalternanz auf die spektroskopischen Eigenschaften der Systeme nicht vernachlässigbar ist. Bei Modellen ohne Gegenion scheint der Effekt gering zu sein, wie man an den Rechnungen der Referenzstrukturen in Kapitel 4.1 sehen konnte. Wird das Gegenion allerdings mit einbezogen (pSb und pSbgeg), so wirkt sich die Bindungsalternanz wesentlich stärker auf die Lage des Absorptionsmaximums aus.

Dieses Verhalten soll im Weiteren genauer untersucht werden. Grund dafür ist, daß für die Optimierung von Strukturen eine große Anzahl von quantenmechanischen Methoden zur Verfügung stehen. Jede diese Methode liefert aber, bei gleicher Struktureingabe, eine etwas andere optimierte Struktur. Die Unterschiede zwischen den Strukturen machen sich vor allem in den Bindungslängen und somit in deren Alternanz bemerkbar.

Die Frage, welchen Einfluß die Bindungsalternanz auf die spektroskopischen Eigenschaften des Chromophors hat, soll im Folgenden geklärt werden. Ist dieser groß, so muß man beim Vergleich der spektroskopischen Werte von Strukturen vorsichtig sein, die zwar mit der gleichen Methode (z.B. CASSCF/CASPT2) berechnet wurden, die aber auf unterschiedlich geometrieoptimierten Strukturen basieren. Das würde bedeuten, daß man lediglich die Tendenzen der erhaltenen Werte, aber nicht immer die absolut ermittelten Daten miteinander vergleichen darf.

4.4.1 Modellsysteme mit unterschiedlicher Bindungsalternanz

Zur Untersuchung dieser Fragestellung wurden zwei unterschiedliche Modelle des Retinalchromophors ausgewählt, eines mit vier (sbh.n3) und eines mit fünf (sbh.n4) Doppelbindungen (Abb. 33). Die Modelle wurden zunächst mit den Methoden MP2, CASSCF und DFTB voroptimiert und anschließend dem CASSCF/CASPT2 Verfahren unterworfen.

Von den unterschiedlichen Methoden ist bekannt, daß die mit CASSCF berechneten Modelle stets eine etwas höhere Bindungsalternanz zeigen,^[126, 127] wohingegen MP2/DFTB eine geringere Alternanz ergibt.^[128, 129, 130, 131] Die da-

mit optimierten Modellsysteme zeigen demnach unterschiedlich stark ausgeprägte Bindungslängenalternanz und eignen sich somit gut, um den Einfluß der Alternanz auf die spektroskopischen Daten zu untersuchen.

Von Vorteil ist zusätzlich, daß es sich bei diesen drei Methoden um sehr gängige Verfahren handelt, mit denen bereits eine Vielzahl von Strukturen optimiert und diskutiert worden sind.

Nach der Optimierung wurden sämtliche Strukturen planarisiert, um den Einfluß unterschiedlicher Torsionswinkel auszuschalten. Das komplexe Gegenion, bestehend aus Glu113 und wat2b, wurde manuell hinzugesetzt, um die Proteinumgebung zu simulieren, wobei Glu113 erneut durch ein Formiation ersetzt wurde. Der Abstand des Gegenions zum Chromophor ist somit bei allen Strukturen gleich, was auch diesen Faktor als Ursache einer möglichen Absorptionsverschiebung ausschließt. Diese Endstrukturen wurden nicht mehr optimiert, so daß die Geometrie der Modellchromophore mit und ohne Gegenion die gleiche ist. Die spektroskopischen Daten wurden anschließend mit Hilfe des CASSCF/CASPT2-Verfahrens bestimmt.



Abbildung 33: Modelle zur Bestimmung des Einflusses der Bindungsalternanz. Rechts die Struktur sbh.n3, links die Struktur sbh.n4

Alle Modelle wurden sowohl mit als auch ohne Gegenion/wat2b berechnet. Das aktive Fenster umfaßte für die Strukturen sbh.n3 acht Elektronen und Orbitale und für die sbh.n4-Strukturen zehn Elektronen und Orbitale, was den π -Elektronen und π -Orbitalen des jeweiligen Chromophors entspricht.

Es wurden folgende Abkürzungen für die Modellsysteme gewählt:

Tabelle 17: Abkürzungen der Modellsysteme

Methode	4 Doppelbdg.		5 Doppelbdg.	
	mit Gegenion	ohne Gegenion	mit Gegenion	ohne Gegenion
CASSCF	sbh.n3.cas	sbh.n3o.cas	sbh.n4.cas	sbh.n4o.cas
MP2	sbh.n3.mp2	sbh.n3o.mp2	sbh.n4.mp2	sbh.n4o.mp2
DFTB	sbh.n3.dftb	sbh.n3o.dftb	sbh.n4.dftb	sbh.n4o.dftb

4.4.2 Strukturen der Modellsysteme

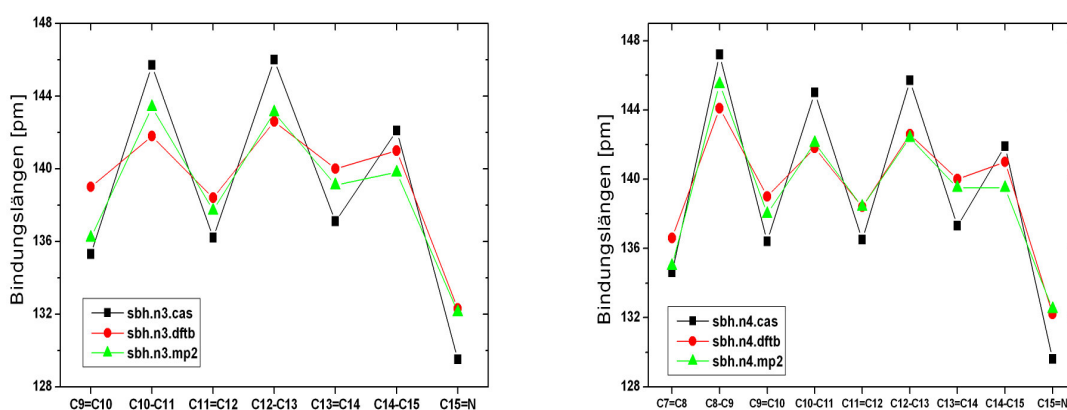


Abbildung 34: Bindungslängen der Modelle sbh.n3 (links) und sbh.n4 (rechts) im Vergleich

In Abbildung 34 sind die Bindungslängen der Strukturen sbh.n3 und sbh.n4 aufgetragen. Es fällt auf, daß sich die Strukturen in Bezug auf ihre Bindungsalternanz deutlich unterscheiden. Bei den Strukturen sbh.n3 zeigt das mit CASSCF optimierte Modell eine ausgeprägte Alternanz: Einfach- und Doppelbindungen sind von deutlich unterschiedlicher Länge. (Siehe auch Abbildung 35, in der die Differenzen der Bindungslängen aufgetragen sind). Für die Strukturen sbh.n4 zeigt sich in etwa das gleiche Bild; auch hier hat die Optimierung mit CASSCF eine deutliche Alternanz der Bindungslängen zur Folge.

Im Gegensatz dazu weisen die mit MP2 und DFTB berechneten Strukturen eine vergleichsweise ausgeglichene Verteilung der Bindungslängen auf. In Abbildung 35 sind die Differenzen der Bindungen innerhalb der Strukturen aufgetragen. Hier ist nun zu erkennen, daß die mit DFTB optimierten Strukturen in der Nähe des Stickstoffes eine höhere Alternanz aufweisen als die mit MP2 berechneten. Dafür nimmt mit zunehmender Entfernung vom Stickstoffatom die Bindungsal-

ternanz bei den mit dem MP2-Verfahren optimierten Strukturen im Vergleich zu den mit dem DFTB-Verfahren optimierten Strukturen zu. Betrachtet man die gesamte Struktur, so läßt sich für sbh.n3 sagen, daß die mit MP2 erhaltene Struktur insgesamt gesehen eine deutlich größere Alternanz aufweist. Hier ist die Differenz der Bindungslängen lediglich zwischen den ersten beiden Bindungen geringer als bei der entsprechenden DFTB-Struktur.

Für die sbh.n4-Strukturen ist diese Aussage so nicht mehr gültig. Hier zeigt die sbh.n4.dftb-Struktur etwas öfter eine größere Alternanz als die sbh.n4.mp2-Struktur. Je weiter man sich vom Stickstoffatom entfernt, desto geringer wird aber auch hier die Alternanz der sbh.n4.dftb-Struktur. Betrachtet man auch diese Strukturen als Ganzes, so ist die Bindungsalternanz der mit dem MP2-Verfahren optimierten Struktur auch hier etwas größer als die des mit DFTB optimierten Modellchromophoren.

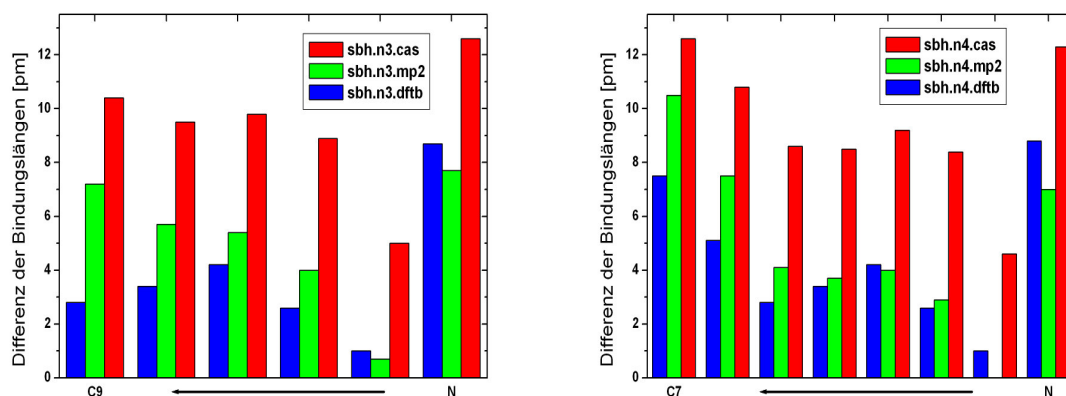


Abbildung 35: Differenz der Bindungslängen der Modelle sbh.n3 (links) und sbh.n4 (rechts) im Vergleich

Die Ladungsverteilungen in den Modellen (Abb. 36) wurden ebenfalls untersucht. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Verteilung der Ladung in den mit unterschiedlichen Methoden optimierten Strukturen nahezu identisch ist. Lediglich bei den Ladungen am Stickstoff und C13-Atom sind geringe Unterschiede zu erkennen. Die mit CASSCF voroptimierte Struktur hat im Vergleich zu den beiden anderen eine etwas größere positive Ladung am Stickstoffatom und dafür eine etwas geringere auf dem C13-Atom.

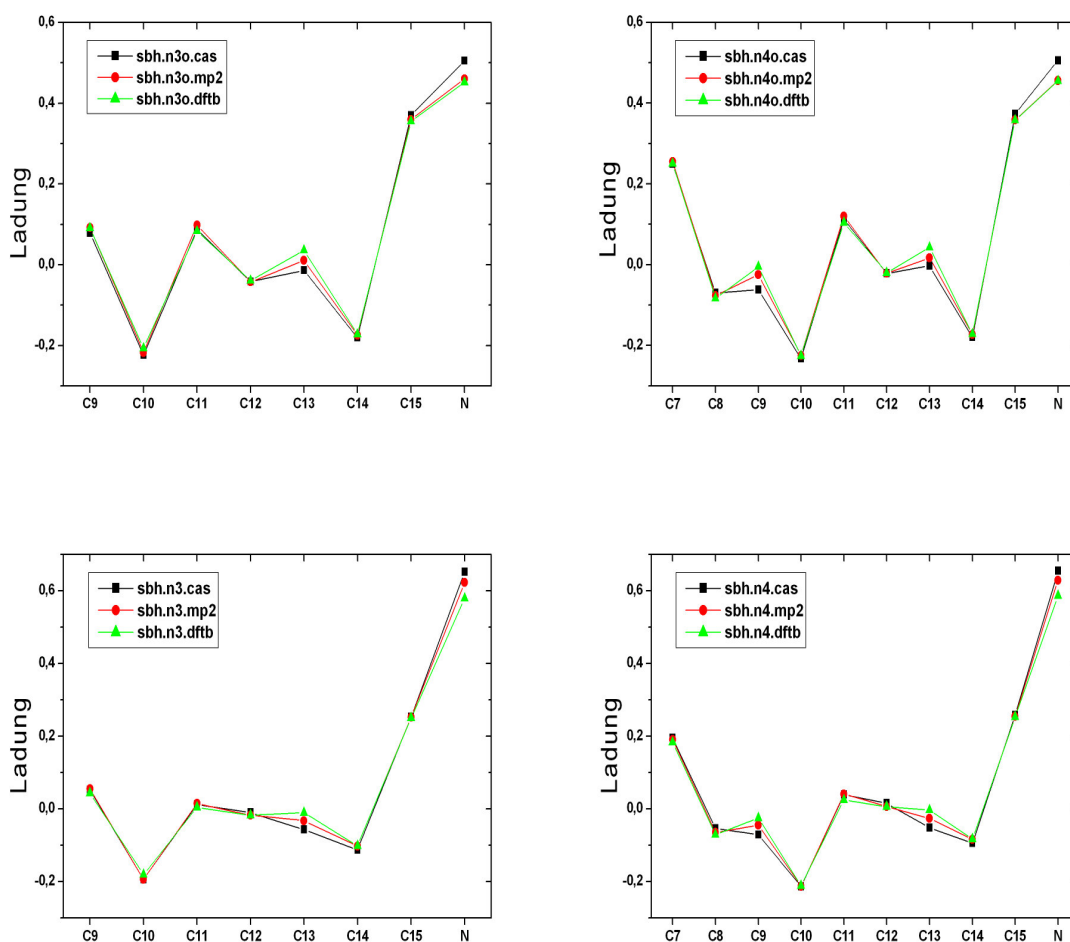


Abbildung 36: Ladungsverteilung in den Modellen n3o (oben links), n4o (oben rechts), n3 (unten links) und n4 (unten rechts)

Auch hier zeigen sich die schon aus Kapitel 4.1 bekannten Unterschiede zwischen den Modellen mit und ohne Gegenion. Die positive Ladung wird am Stickstoffatom lokalisiert, wenn das negativ geladene Gegenion mit in das Modell einbezogen wird. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich die Modelle, wie beabsichtigt, im Wesentlichen nur in ihren Bindungslängen und deren Alternanz unterscheiden. Daraus folgt, daß alle im Folgenden ermittelten Unterschiede in der Lage der Absorptionsmaxima mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die unterschiedliche Bindungsalternanz zurückgeführt werden können.

4.4.3 Spektroskopische Daten der Modelle

In Tabelle 18 sind die spektroskopischen Daten des Grundzustandes und der ersten beiden angeregten Zustände der Modellsysteme ohne Gegenion aufgeführt.

Tabelle 18: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit unterschiedlichen Methoden optimierten Modellchromophoren ohne Gegenion.

	CASSCF			CASPT2			
	Energie au	f	state	Energie au	f	Konfiguration	Gewicht
sbh.n3o.cas	-403,3154		S_0	-404,5896		$(3a)^2(4a)^2$	86
	3,62(342)	1,15	S_1	3,00(418)	0,94	$(4a)^1(5a)^1$	70
	4,75(261)	0,26	S_2	4,13(300)	0,22	$(4a)^1(5a)^1$	17
						$(3a)^1(5a)^1$	32
						$(4a)^0(5a)^2$	18
sbh.n3o.mp2	-403,3146		S_0	-404,5944		$(3a)^2(4a)^2$	86
	4,41(355)	1,15	S_1	2,89(429)	1,11	$(4a)^1(5a)^1$	72
	5,63(281)	0,26	S_2	3,87(321)	0,12	$(4a)^1(5a)^1$	13
						$(3a)^1(5a)^1$	32
						$(4a)^0(5a)^2$	22
sbh.n3o.dftb	-403,2958		S_0	-404,5833		$(3a)^2(4a)^2$	85
	4,15(364)	1,31	S_1	2,80(443)	1,08	$(4a)^1(5a)^1$	71
	5,48(299)	0,14	S_2	3,66(339)	0,12	$(4a)^1(5a)^1$	14
						$(3a)^1(5a)^1$	31
						$(4a)^0(5a)^2$	21
sbh.n4o.cas	-480,2494		S_0	-481,7617		$(4a)^2(5a)^2$	82
	3,22(385)	1,25	S_1	2,54(487)	0,98	$(5a)^1(6a)^1$	66
	4,23(293)	0,30	S_2	3,58(346)	0,25	$(5a)^1(6a)^1$	17
						$(4a)^1(6a)^1$	27
						$(5a)^0(6a)^2$	17
sbh.n4o.mp2	-480,2484		S_0	-481,7674		$(4a)^2(5a)^2$	82
	3,08(403)	1,53	S_1	2,48(501)	1,23	$(5a)^1(6a)^1$	68
	3,82(325)	0,13	S_2	3,28(379)	0,12	$(5a)^1(6a)^1$	13
						$(4a)^1(6a)^1$	26
						$(5a)^0(6a)^2$	21

sbh.n4o.dftb	-480,2312		S_0	-481,7578		$(4a)^2(5a)^2$	81
	3,04(408)	1,45	S_1	2,41(514)	1,15	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,69(336)	0,15	S_2	3,16(392)	0,13	$(5a)^1(6a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	25
						$(5a)^0(6a)^2$	19

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm
^b au; ^c Das Gewicht der Konfigurationen in %

Der S_0 -Zustand kennzeichnet auch hier bei allen Modellen den Grundzustand des Systems. Dabei handelt es sich um die Konfiguration $(3a)^2(4a)^2$ (sbh.n3) bzw. $(4a)^2(5a)^2$ (sbh.n4), in der die energieniedrigsten Orbitale stets doppelt besetzt sind (closed shell). Diese liefert auch hier den größten Beitrag (81 - 86 %) zu der Beschreibung des Grundzustandes. Der erste angeregte Zustand wird bei allen Modellen vom HOMO \rightarrow LUMO Übergang ($(4a)^1(5a)^1$ bzw. $(5a)^1(6a)^1$) dominiert, der Anteil liegt hierbei zwischen 66 und 72 %. Drei Konfigurationen mit unterschiedlichem Gewicht beschreiben den S_2 Zustand. Zum einen der HOMO \rightarrow LUMO Übergang mit einem geringen Anteil von 13 - 16 %. Das größte Gewicht mit 25 - 32% trägt der HOMO -1 \rightarrow LUMO Zustand bei. Die HOMO \rightarrow LUMO Doppelanregung hat ein Gewicht von 18 - 22 %.

Die Daten der Strukturen ohne Gegenion sind in Abbildung 37 graphisch aufbereitet. Es ist deutlich zu erkennen, daß sich systematische Unterschiede in der Absorption zeigen: mit abnehmender Bindungsalternanz verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen, wobei der Effekt nahezu unabhängig von der Länge des Modellchromophors ist. Die beiden Graphen der Modelle sbh.n3o und sbh.n4o verlaufen annähernd parallel zueinander.

Die Daten sind nur abhängig von der Alternanz der Bindungen, da der Chromophor in allen Modellen vollständig planar ist und sich die Bindungswinkel nicht wesentlich unterscheiden. Eine langwellige Verschiebung der Absorption tritt demnach auf, wenn die Bindungsalternanz des Modellsystems gering ist, sich die Bindungslängen im Modell also nicht stark unterscheiden. Die positive Ladung der protonierten Schiff-Base wird somit über den gesamten Chromophor verteilt. Daraus folgt, daß eine Verteilung der Elektronendichte über weite Teile des Moleküls eine langwellige Verschiebung der Absorption nach sich zieht.^[33, 37, 67, 69, 132]

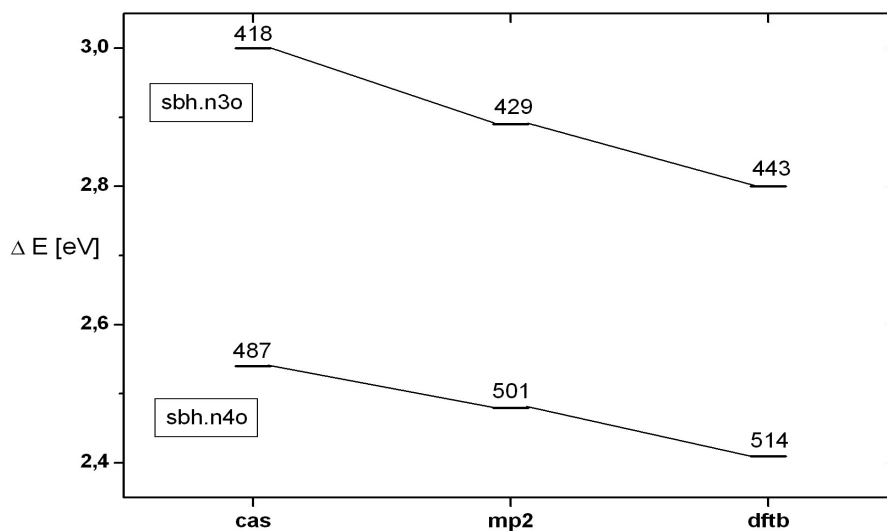


Abbildung 37: HOMO → LUMO Übergänge der protonierten Schiff-Basen ohne Gegenion. Der obere Graph zeigt die Modelle sbh.n3o, der untere die Modelle sbh.n4o. Die Zahlen an den Graphen bezeichnen die Absorption in nm.

Alle Modelle wurden ebenfalls in Gegenwart des komplexen Gegenions, welches in Form des Formations als Substitut für Glu113 und wat2b vorlag, berechnet. Die berechneten spektroskopischen Eigenschaften der Modelle sind in Tabelle 19 wiedergegeben.

Tabelle 19: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit unterschiedlichen Methoden optimierten Molelechromophore mit Gegenion.

	CASSCF		CASPT2				
	Energie au	f	state	Energie au	f	Konfiguration	Gewicht
sbh.n3.cas	-667,8088		S_0	-669,8389		$(3a)^2(4a)^2$	82
	5,53(224)	1,28	S_1	3,64(341)	0,84	$(4a)^1(5a)^1$	68
	4,67(265)	0,07	S_2	4,02(308)	0,06	$(4a)^1(6a)^1$	15
						$(3a)^1(5a)^1$	15
						$(4a)^0(5a)^2$	29

sbh.n3.mp2	-667,8049		S_0	-669,8406		$(3a)^2(4a)^2$	81
	5,24(237)	1,41	S_1	3,30(376)	0,89	$(4a)^1(5a)^1$	70
	4,28(290)	0,01	S_2	3,85(322)	0,01	$(4a)^1(6a)^1$	16
						$(3a)^1(5a)^1$	19
						$(4a)^0(5a)^2$	34
sbh.n3.dftb	-667,7953		S_0	-669,8382		$(3a)^2(4a)^2$	79
	5,27(235)	1,38	S_1	3,20(388)	0,84	$(4a)^1(5a)^1$	70
	4,01(309)	0,01	S_2	3,65(339)	0,01	$(4a)^1(6a)^1$	16
						$(3a)^1(5a)^1$	20
						$(4a)^0(5a)^2$	34
sbh.n4.cas	-744,7403		S_0	-747,0092		$(4a)^2(5a)^2$	78
	5,22(238)	1,13	S_1	3,41(363)	0,74	$(5a)^1(6a)^1$	56
	4,22(294)	0,03	S_2	3,60(344)	0,03	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	15
						$(5a)^0(6a)^2$	31
sbh.n4.mp2	-744,7348		S_0	-747,0109		$(4a)^2(5a)^2$	76
	4,88(254)	1,52	S_2	2,93(423)	0,91	$(5a)^1(6a)^1$	64
	3,72(334)	0,00	S_3	3,29(377)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	18
						$(5a)^0(6a)^2$	31
sbh.n4.dftb	-744,7275		S_0	-747,0106		$(4a)^2(5a)^2$	75
	4,98(248)	1,57	S_1	2,98(417)	0,94	$(5a)^1(6a)^1$	63
	3,59(345)	0,00	S_2	3,18(389)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	18
						$(5a)^0(6a)^2$	31

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Der Grundzustand S_0 wird, wie bei den Modellen ohne Gegenion, bei allen Systemen durch die Konfiguration $(3a)^2(4a)^2$ (sbh.n3) bzw. $(4a)^2(5a)^2$ (sbh.n4) beschrieben, mit einem Gewicht zwischen 75 und 82 %. Dies entspricht erneut der Doppelbesetzung aller energieniedrigsten Orbitale (closed shell). Der erste angeregte Zustand (S_1), wird wiederum durch den HOMO \rightarrow LUMO Übergang $(4a)^1(5a)^1$ bzw. $(5a)^1(6a)^1$ charakterisiert, dessen Anteil hierbei zwischen 56 und 68 % liegt. Für den zweiten angeregten Zustand (S_2) sind drei Konfigurationen bestimmend, die HOMO \rightarrow LUMO Anregung (15 - 16 %), der HOMO-1 \rightarrow LUMO Übergang (15 - 19 %) sowie mit dem größten Anteil die zweifache HOMO \rightarrow LUMO Anregung mit einem Gewicht von 29 - 34 %.

Wie sich die Energien des ersten angeregten Zustandes in Abhängigkeit von den berechneten Strukturen der beiden Chromophormodelle verändern, ist in Abbildung 38 dargestellt.

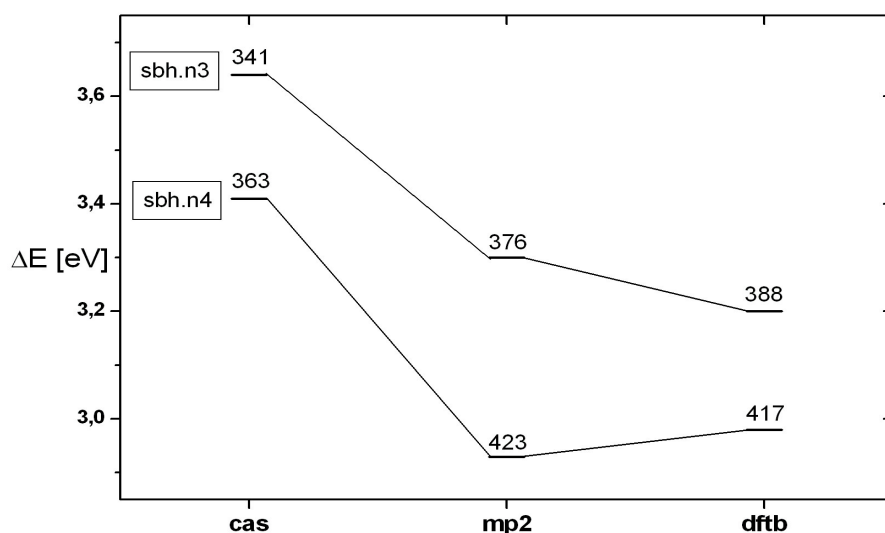


Abbildung 38: HOMO \rightarrow LUMO Übergänge der protonierten Schiff-Basen mit Gegenion. Der obere Graph zeigt die Modelle sbh.n3, der untere die Modelle sbh.n4. Die Zahlen an den Punkten bezeichnen die Absorption in nm.

Bei den Strukturen sbh.n3 zeigt sich dieselbe Abfolge der Absorptionsmaxima wie bei den Strukturen ohne Gegenion. Die Struktur mit der am stärksten ausgeprägten Alternanz (sbh.n3.cas) absorbiert im Vergleich zu den übrigen Strukturen am kurzwelligsten.^[33, 37, 67, 69, 125] Eine Verringerung der Alternanz führt somit zu einem bathochromen Shift: sbh.n3.mp2 absorbiert 35 nm rot verschoben verglichen mit der CASSCF optimierten Struktur und für das Modell sbh.n3.dftb ist eine weitere Rotverschiebung um 11 nm zu beobachten. Ursache hierfür ist die bei der sbh.n3.dftb-Struktur im Vergleich zu der mit MP2 optimierten Struktur deutlich geringere Bindungsalternanz, was den vom Stickstoff entfernten Teil des Moleküls betrifft, angefangen bei den Bindungen C14=C13-C12. In der Nähe des Stickstoffs ist die Alternanz zwar leicht vergrößert oder in etwa gleich der in der sbh.n3.mp2 vorliegenden Struktur, doch läßt sich generell sagen, daß die Alternanz der sbh.n3.dftb-Struktur geringer ist, was zu einer bathochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums führt.

Bei den Strukturen sbh.n4 absorbiert die mit CASSCF optimierte Struktur ebenfalls am kurzwelligsten (363 nm), da die Bindungsalternanz hier am ausgeprägtesten ist. Im Weiteren findet sich hier allerdings nicht die bis dahin bekannte Abfolge, nach der die MP2 optimierte Struktur kurzwelliger absorbiert als die mit DFTB optimierte Struktur. Vielmehr absorbiert die sbh.n4.dftb-Struktur bei kürzeren Wellenlängen (417 nm) als die sbh.n4.mp2-Struktur (423 nm). Anhand von Abbildung 35, läßt sich ein möglicher Grund dafür ausmachen. Die DFTB optimierte Struktur weist in weiten Teilen des Moleküls eine größere Bindungsalternanz auf als die entsprechende MP2-Struktur. Nur in der Nähe des positiven Stickstoffatoms, genauer gesagt ab der C13-C14-Bindung, kehren sich die Verhältnisse um, und zwar bei den Modellchromophoren mit vier Doppelbindungen deutlicher als bei denen mit drei Doppelbindungen.

Warum zeigen die Strukturen sbh.n3 und sbh.n4 mit Gegenion nicht denselben Verlauf der Absorptionen wie die Modellsysteme ohne Gegenion? Die Ursache dafür ist die Ladungsverteilung (Abb. 36), welche durch die Gegenwart des Gegenions beeinflusst wird. Ist das Gegenion nicht vorhanden, wird die positive Ladung über das gesamte Molekül verteilt. Kommt es zu einer Anregung eines Elektrons nimmt somit das ganze Molekül daran teil, und der Effekt der geringeren Bindungsalternanz am Stickstoff wird durch die größere Alternanz am anderen Ende des Moleküls kompensiert. Hier findet sich bei allen Strukturen eine Verschiebung des λ_{max} zu längeren Wellenlängen mit einer Abnahme der Alternanz.

In Gegenwart des Gegenions wird ein Großteil der positiven Ladung am Stickstoff lokalisiert. Dies wird durch die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen dem negativ geladenen Gegenion und der positiv geladenen Schiff-Base verursacht. Durch die veränderte Ladungsverteilung kommt es zu einer anderen Form der Anregung als bei den Strukturen ohne Gegenion. Zwar handelt es sich auch hier um eine HOMO \rightarrow LUMO Anregung, doch haben sich die Orbitale aufgrund der Wechselwirkungen verändert (Abb. 39). Die Anregung findet scheinbar vor allem in der Nähe des Stickstoffatoms und somit in der Nähe des Gegenions statt. Somit spielt die Bindungsalternanz in dem dem Stickstoffatom abgewandten Teil des Moleküls kaum noch eine Rolle. Aus diesem Grund absorbiert sbh.n4.dftb kurzwelliger als sbh.n4.mp2, da diese in diesem Molekülteil die weitaus größere Alternanz aufweist. Bei den Strukturen sbh.n3 findet sich der gegenläufige Trend, da die Alternanz der MP2-Struktur in der Nähe des Stickstoffatoms größer ist.

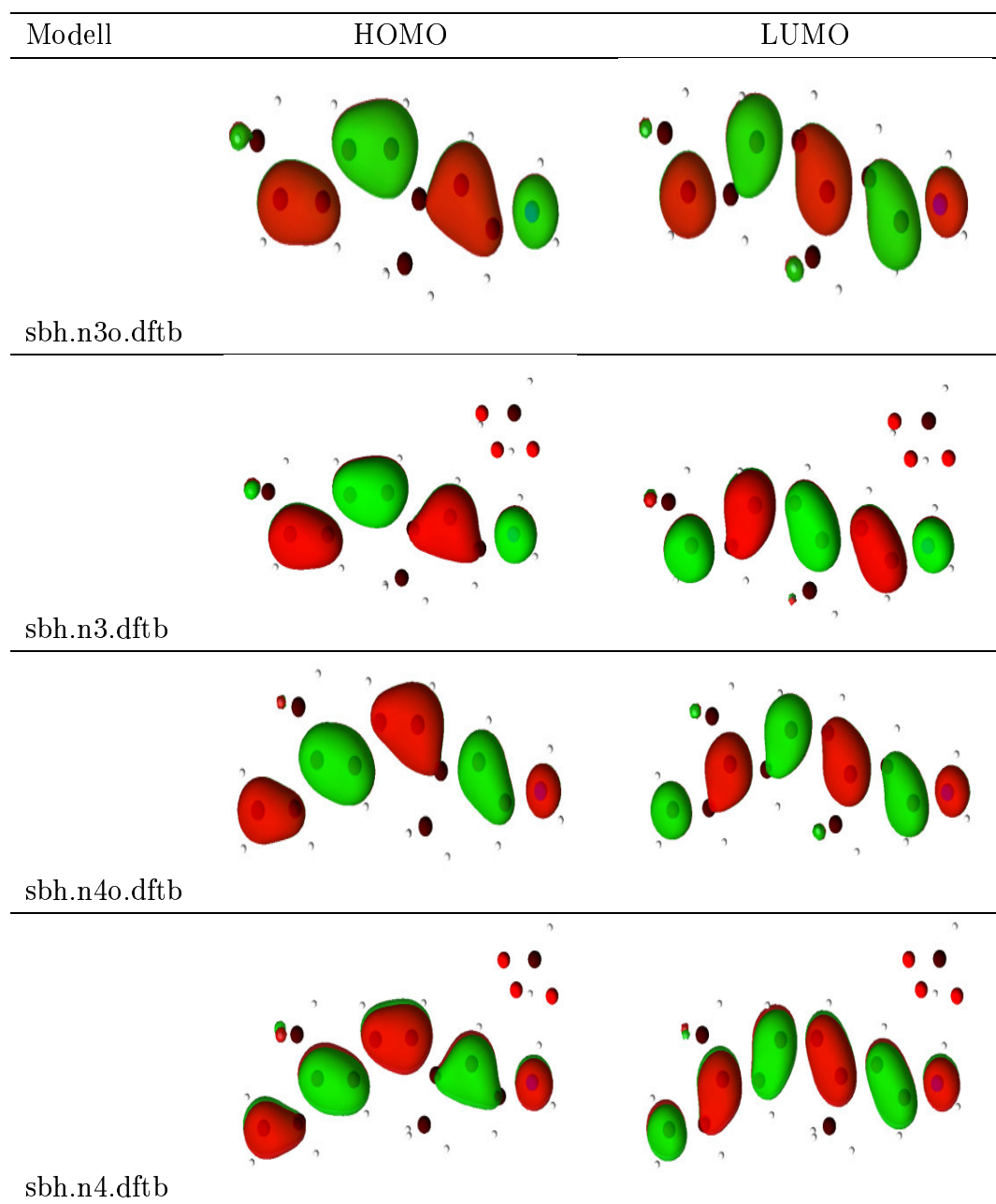


Abbildung 39: HOMO (links) und LUMO (rechts) der mit DFTB optimierten Modellchromophore

Als Fazit läßt sich festhalten, daß die Bindungsalternanz einen entscheidenden Einfluß auf die Lage des Absorptionsmaximums hat. Nimmt diese ab, so verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu längeren Wellenlängen. Die Elektro-

endichte wird über weite Teile des Moleküls verteilt, was zu einer langwelligen Verschiebung des Absorptionsmaximums führt.

Die Gegenwart einer Ladung, wie z.B. eines Gegenions, scheint ebenfalls einen großen Einfluß auf die Absorption zu haben. Dieses sorgt für eine Lokalisierung der Ladung/Elektronendichte, welche nicht weiter über die restlichen Atome des Modells verteilt werden kann. Als Folge davon ist lediglich die Ladungsverteilung in dem Teil des Moleküls von Bedeutung, in dem die Ladung verstärkt lokalisiert ist; in diesem Fall im Bereich N - C13. Die Alternanz in diesem Teil bestimmt die Lage des Absorptionsmaximums des Modells: ist diese hoch, so absorbiert das Modell kurzwelliger als wenn diese relativ gering ist.

Bei den in Kapitel 4.1 diskutierten Strukturen war der Einfluß der Bindungslängen auf die Absorption relativ unerheblich, da die Modelle alle mit der gleichen Methode optimiert wurden und die Alternanzen der Bindungslängen nicht so stark differierten wie bei den hier untersuchten Modellsystemen. Generell muß man allerdings festhalten, daß die mit CASSCF/CASPT2 berechneten Absorptionsmaxima von Modellchromophoren, die mit unterschiedlichen Methoden optimiert wurden, nicht direkt verglichen werden können. Bei einem Vergleich von Literaturdaten, die aus unterschiedlichen Publikationen stammen, ist demnach Vorsicht geboten. Lediglich wenn die berechneten Strukturen komplett gleich voroptimiert und die Berechnung der angeregten Zustände mit dem gleichen Verfahren erfolgt ist, ist es zulässig die absoluten Daten zu vergleichen. In anderen Fällen sollten lediglich die Tendenzen der Rechnungen verglichen werden.

Kapitel 5

Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe geeigneter Modellchromophore die Ursachen des Opsinshifts genauer zu untersuchen. Durch die Beschränkung auf vier bis maximal fünf Doppelbindungen und die Reduzierung der als Gegenion fungierenden Aminosäure Glu113 auf eine funktionelle Gruppe war es möglich, die Systeme mit dem sehr anspruchsvollen CASSCF/CASPT2-Verfahren zu berechnen und dadurch sehr genaue Ergebnisse vor allem in Bezug auf die angeregten Zustände zu erhalten. Die Gefahr, das Modell so sehr zu beschneiden, daß es zu den realen Zuständen im Retinalmolekül den Bezug verliert, liegt hier nicht vor. Es scheint, daß mit der Wahl der Modellverbindungen ein Kompromiss gefunden wurde, der zu zufriedenstellenden Ergebnissen führt.

Sämtliche Modelle basieren auf Kristallstrukturen, die mit Hilfe von quantenmechanischen Methoden bearbeitet wurden. Auf diese Weise war es möglich, einheitliche und vergleichbare Strukturen zu untersuchen. Ein Vergleich der berechneten Ergebnisse mit dem Experiment ist zulässig und auch aussagekräftig, da die theoretisch berechneten Strukturen den experimentell gefundenen Gegebenheiten im Molekül weitgehend entsprechen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden einige grundsätzliche Faktoren untersucht, die den Opsinshift beeinflussen. Es zeigt sich, daß dieser unter anderem auf zwei grundsätzlich unterschiedliche Ursachen zurückzuführen ist, welche allerdings eng miteinander verknüpft sind.

In Kapitel 4.1 wurden Modellsysteme mit unterschiedlichem komplexen Gegenionen untersucht. Hier konnte gezeigt werden, daß das Gegenion zu einer Veränderung der Chromophorgeometrie beiträgt. Interagieren eine positiv geladene Schiff-Base und ein negativ geladenes Gegenion, so wird die positive Ladung der

Schiff-Base in der Nähe des Stickstoffatoms lokalisiert. Die Folge davon ist auch eine Änderung der Bindungslängenalternanz, also der Chromophorstruktur. Diese beiden Faktoren tragen mit unterschiedlichem Gewicht zur Verschiebung des Absorptionsmaximums bei. Es konnte gezeigt werden, daß ca. 90% der Verschiebung auf die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den beiden Molekülen zurückzuführen sind. Die restlichen 10% werden durch die strukturellen Änderungen innerhalb des Chromophors, also vor allem durch die Bindungslängenalternanz verursacht. Aus diesem Grund ist die Änderung in der Lage des λ_{max} bei den nicht protonierten Schiff-Basen mit neutralem Gegenion im Vergleich zu den pSb-Systemen geringer (20 nm im Vergleich zu mehr als 100 nm), da dort keine Ladungen sondern neutrale Moleküle miteinander wechselwirken.

Die in Kapitel 4.1 untersuchten Modelle zeigen vergleichsweise geringe strukturelle Unterschiede. Diese werden größer, wenn Modelle mit unterschiedlichen Methoden voroptimiert werden. Die Frage, inwieweit sich größere Änderungen in der Struktur auf die Absorption auswirken, wurde deswegen in Kapitel 4.4 anhand von mit CASSCF-, MP2- und DFT-optimierten Strukturen näher untersucht. Hier unterscheiden sich die Bindungslängen recht deutlich voneinander. Ist die Bindungsalternanz um das Stickstoffatom hoch, so wird das Absorptionsmaximum zu kürzeren Wellenlängen verschoben und umgekehrt. Die Unterschiede in der Absorption sind teilweise recht hoch: bei den Chromophoren ohne Gegenion wurden Unterschiede von bis zu 30 nm gefunden, je nachdem mit welcher Methode die Modelle voroptimiert wurden. Wird das Gegenion mit in die Rechnung einbezogen, so kann sich dieser Unterschied auf bis zu 50 nm vergrößern. Bei gleicher Struktureingabe erhält man also Modelle, die sich bei gleicher Berechnung der angeregten Zustände in der Lage ihres λ_{max} um bis zu 50 nm unterscheiden. Bei dem Vergleich von Daten muß also stets die Herkunft des Modells überprüft werden, damit sichergestellt werden kann, daß auch vergleichbare Strukturen miteinander in Beziehung gesetzt werden.

Zusätzlich wurden in dieser Arbeit Untersuchungen an Retinalderivaten durchgeführt. Diese unterscheiden sich durch Methylierung bzw. Demethylierung von der Wildtypstruktur, was sich in Änderungen der Chromophorgeometrie äußert. Die berechneten Strukturen wurden ausgehend von der Kristallstruktur des Wildtyps optimiert, da von diesen Retinalanalogen keinerlei Kristallstrukturen vorliegen. Im Fall der Grundzustandsstrukturen ist die Darstellung der Modelle sehr gut gelungen. Anhand der Daten konnten die experimentellen Befunde verifiziert

und erweitert werden. Da sich die elektrostatischen Wechselwirkungen bei diesen Strukturen nicht signifikant ändern, konnte gezeigt werden, daß sich die Verschiebung der Absorption im Vergleich zum Wildtyp zum größten Teil auf strukturelle Unterschiede zurückführen läßt. Hier ist zum einen wieder die Bindungsalternanz der Strukturen zu erwähnen, welche in diesem Fall allerdings nicht den Hauptanteil an der Verschiebung verursacht. Ein weiterer wichtiger Faktor ist hier vor allem die Torsion der Modelle. Waren die Systeme in Kapitel 4.1 und 4.4 planar, so zeigten sich hier unterschiedliche Torsionswinkel, die vor allem durch die Methylierung bzw. Demethylierung des Chromophors verursacht wurden. Vor allem die Torsion um die zentrale C11-C12 Doppelbindung trägt wesentlich zur Verschiebung des Absorptionsmaximums bei.

Bei den Bathozuständen der Modelle, also den photochemischen Folgestrukturen, wurde ebenfalls der gleiche Ansatz gewählt, und es wurden optimierte Modellsysteme auf der Grundlage der Kristallstruktur erzeugt. Im Gegensatz zum Grundzustand zeigen sich hier für einige Strukturen deutliche Abweichungen im Vergleich zum Experiment. Es sind allerdings auch nur wenige experimentelle Daten bekannt, so daß hier keine generelle Aussage über die Güte der Strukturen getroffen werden kann. Bei den Bathostrukturen kommt es zu einer Kombination aus elektrostatischen Wechselwirkungen und strukturellen Änderungen, die dafür sorgt, daß sich die Absorptionsmaxima der Strukturen verschieben. Unter elektrostatischen Wechselwirkungen ist hier vor allem der Abstand zwischen Chromophor und Gegenion zu sehen, der sich bei einigen Modellen signifikant unterscheidet. Wird dieser verringert, so verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu kürzeren Wellenlängen, da die Wechselwirkung zwischen Chromophor und Gegenion stärker wird.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß im Rahmen dieser Arbeit einige wichtige Ursachen des Opsinshifts untersucht wurden. Die Daten zeigen, daß der Opsinshift auf verschiedenen Faktoren zurückgeführt werden kann, welche einen unterschiedlich hohen Anteil an der Größe der letztlich resultierenden Verschiebung haben. Für einige der noch offenen Fragen konnte ein Lösungsansatz gefunden werden, welcher in nachfolgenden Untersuchungen noch weiter verfolgt werden sollte. Auf diese Weise sollte es gelingen, die Vorgänge im Rhodopsin bis ins Detail nachzuvollziehen und zu verstehen.

Kapitel 6

Anhang

6.1 Einfluß der Anzahl der berechneten Zustände

Zu Beginn einer jeden Rechnung steht die Auswahl eines geeigneten Modellsystems, welches sich mit der Methode der Wahl in angemessener Zeit berechnen läßt. Des weiteren müssen die Rahmenbedingungen der Rechnung ausgewählt werden. Dies umfaßt die Wahl des Basissatzes, der so ausgesucht werden muß, daß die ermittelten Daten nicht zu ungenau werden, der Zeitaufwand hierbei wiederum aber auch nicht zu hoch werden darf. Bei der CASSCF/CASPT2-Methode kommt zusätzlich die Auswahl der aktiven Orbitale und Elektronen hinzu, mit deren Festlegung die Wellenfunktion des Systems bestimmt wird. Der letzte wichtige Faktor, der entschieden werden muß, ist die Anzahl der zu berechnenden angeregten Zustände. Bei der CASSCF/CASPT2-Methode werden die angeregten Zustände durch Kombination aus unterschiedlichen Elektronenkonfigurationen charakterisiert, welche mit einem bestimmten Gewichtsanteil in % die Zusammensetzung des Zustandes bestimmen. Dies konnte bei einigen Ergebnissen in Kapitel 4 schon beobachtet werden.

Die wohl wichtigste Anregung des Retinalchromophors ist der Übergang eines Elektrons vom HOMO ins LUMO. Dieser ist der intensivste und deshalb im experimentellen Spektrum am deutlichsten zu erkennende Übergang. Bei der Berechnung von Spektren muß deshalb besonderes Augenmerk auf eine möglichst exakte Beschreibung dieses Übergangs gelegt werden. In den bisher in Kapitel 4 aufgeführten Daten wurde stets je einer der berechneten Zustände von der HOMO \rightarrow LUMO Anregung dominiert, der Anteil dieser Konfiguration lag dabei meist

bei einem Wert um die 60% oder sogar höher. Das Gewicht dieser Konfiguration schwankt allerdings mit der Anzahl der berechneten Zustände stark. Zusätzlich kann es auch vorkommen, daß die HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration in mehr als einem Zustand mit einem hohen Gewicht vertreten ist, was Auswirkungen auf die berechneten Daten hat. Variiert man die Anzahl der berechneten Zustände, so verändert sich das Gewicht der Konfigurationen in den berechneten Zuständen und somit die Lage des Absorptionsmaximum und die Genauigkeit der Rechnung. Ziel ist es aber, möglichst nur einen Zustand mit einem hohen prozentualen Anteil der HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration zu erhalten.

In Kapitel 4.1 wurde der Einfluß des komplexen Gegenions auf die Absorption der Modellsysteme beschrieben. Die dort präsentierten Daten gehören zu Rechnungen, bei denen stets sechs Zustände berechnet wurden. Die untersuchten Modelle wurden allerdings auch mit vier und fünf Zuständen berechnet. Die von den Konfigurationen her genauesten Werte wurden aber bei der Berechnung mit sechs Zuständen ermittelt, weshalb diese Daten auch zur Auswertung herangezogen wurden. Anhand der übrigen Daten läßt sich allerdings aufzeigen, ob und wie sich die Zusammensetzung der Zustände und somit die Lage der Absorptionsmaxima verändert, wenn die Zahl der Zustände variiert wird. Im folgenden sind die spektroskopischen Daten für alle Systeme tabellarisch dargestellt. Die hier angegebenen Daten für die nicht protonierten Schiff-Basen beziehen sich alle auf Rechnungen, bei denen der $n-\pi^*$ Zustand nicht mit berechnet wurde. Das aktive Fenster umfaßte demnach für alle im Folgenden angegebenen Daten 10 Elektronen und 10 Orbitale. Der Basissatz blieb ebenfalls unverändert bei 4s3p1d für die schweren Zentren (Stickstoff, Kohlenstoff und Sauerstoff) und 2s für die Wasserstoffatome. Der level shift der CASPT2-Rechnungen lag jeweils bei 0,3 au.

Tabelle 19: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit vier Zuständen berechneten Modellchromophore mit komplexem Gegenion

	CASSCF			CASPT2			Gewicht
	Energie au	f	state	Energie au	f	Konfiguration	
pSb	-480,3250		S_0	-481,7581		$(4a)^2(5a)^2$	79
	3,06 (405)	1,65	S_1	2,35 (528)	1,26	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,48 (356)	0,03	S_2	3,02 (410)	0,03	$(5a)^1(7a)^1$	14
						$(4a)^1(6a)^1$	24
						$(5a)^0(6a)^2$	26
pSb1	-820,7782		S_0	-823,2769		$(4a)^2(5a)^2$	76
	4,95 (251)	1,34	S_1	3,11 (399)	0,84	$(5a)^1(6a)^1$	61
	3,79 (327)	0,01	S_2	3,30 (376)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	17
						$(5a)^0(6a)^2$	33
pSb2	-744,7272		S_0	-747,0087		$(4a)^2(5a)^2$	68
	5,11 (243)	1,19	S_2	3,49 (356)	0,81	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,82 (325)	0,01	S_1	3,32 (373)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	17
						$(5a)^0(6a)^2$	33
	5,02 (247)	0,46	S_3	3,81 (325)	0,35	$(5a)^1(6a)^1$	28
pSb3	-744,7303		S_0	-747,0131		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,09 (244)	1,36	S_2	3,33 (372)	0,89	$(5a)^1(6a)^1$	56
	3,72 (334)	0,01	S_1	3,23 (384)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	17
						$(5a)^0(6a)^2$	33
	4,92 (252)	0,30	S_3	3,88 (319)	0,24	$(5a)^1(6a)^1$	20
Sb1	-668,7023		S_0	-670,7564		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,80 (214)	1,79	S_2	3,42 (363)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	75
	3,94 (315)	0,00	S_3	3,47 (357)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	19
						$(5a)^0(6a)^2$	32
Sb	-479,8758		S_0	-481,3707		$(4a)^2(5a)^2$	75
	6,03 (206)	0,52	S_1	3,00 (413)	0,26	$(5a)^1(6a)^1$	25
						$(2a)^1(6a)^1$	14
	4,05 (306)	0,00	S_2	3,62 (342)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	16
						$(4a)^1(6a)^1$	19
					$(5a)^0(6a)^2$	30	

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Tabelle 20: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit vier Zuständen berechneten Modellchromophore ohne Gegenion

	CASSCF		state	CASPT2		Konfiguration	Gewicht
	Energie au	f		Energie au	f		
pSb1ref	-480,2341		S_0	-481,7550		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,28 (378)	1,34	S_1	2,41 (515)	0,98	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,86 (321)	0,24	S_2	3,30 (376)	0,20	$(5a)^1(6a)^1$	19
						$(4a)^1(6a)^1$	24
pSb2ref	-480,2296		S_0	-481,7508		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,28 (378)	1,30	S_1	2,41 (515)	0,95	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,88 (320)	0,26	S_2	3,30 (376)	0,22	$(5a)^1(6a)^1$	20
						$(4a)^1(6a)^1$	23
					$(5a)^0(6a)^2$	13	
pSb3ref	-480,2310		S_0	-481,7533		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,22 (385)	1,30	S_1	2,37 (522)	0,96	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,80 (326)	0,26	S_2	3,23 (384)	0,22	$(5a)^1(6a)^1$	20
						$(4a)^1(6a)^1$	23
Sb1ref	-479,8716		S_0	-481,3861		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,96 (208)	0,27				$(5a)^1(6a)^1$	15
	3,92 (316)	0,00	S_1	3,52 (352)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	19
						$(5a)^0(6a)^2$	20

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Tabelle 21: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit fünf Zuständen berechneten Strukturen mit komplexem Gegenion

	CASSCF			CASPT2			Gewicht
	Energie au	f	state	Energie au	f	Konfiguration	
pSb	-480,2346		S_0	-481,7581		$(4a)^2(5a)^2$	79
	3,09 (401)	1,63	S_1	2,34 (530)	1,24	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,46 (358)	0,04	S_2	3,03 (409)	0,04	$(5a)^1(7a)^1$	14
						$(4a)^1(6a)^1$	24
						$(5a)^0(6a)^2$	24
pSb1	-820,7782		S_0	-823,2769		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,06 (245)	1,20	S_4	3,42 (363)	0,81	$(5a)^1(6a)^1$	50
	3,78 (328)	0,01	S_2	3,31 (374)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	18
						$(5a)^0(6a)^2$	32
pSb2	4,99 (248)	0,45	S_5	3,79 (328)	0,34	$(5a)^1(6a)^1$	28
						$(5a)^0(6a)^1(7a)^1$	15
	-744,7271		S_0	-747,0087		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,16 (240)	1,60	S_1	3,17 (391)	0,98	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,80 (326)	0,01	S_2	3,33 (372)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	14
pSb3						$(4a)^1(6a)^1$	18
						$(5a)^0(6a)^2$	32
	-744,7304		S_0	-747,0131		$(4a)^2(5a)^2$	80
	5,15 (241)	1,59	S_1	3,15 (393)	0,97	$(5a)^1(6a)^1$	64
	3,70 (335)	0,01	S_2	3,24 (382)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
Sb1						$(4a)^1(6a)^1$	18
						$(5a)^0(6a)^2$	32
	-668,7019		S_0	-670,7566		$(4a)^2(5a)^2$	76
	5,83 (213)	1,80	S_2	3,40 (364)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	75
	3,92 (317)	0,00	S_3	3,48 (356)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
Sb						$(4a)^1(6a)^1$	19
						$(5a)^0(6a)^2$	31
	-479,8757		S_0	-481,3806		$(4a)^2(5a)^2$	76
	6,13 (202)	1,19	S_2	4,15 (299)	0,81	$(5a)^1(6a)^1$	51
	4,05 (306)	0,00	S_1	3,62 (342)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	19
						$(5a)^0(6a)^2$	31
	6,06 (205)	0,76	S_5	4,36 (284)	0,55	$(5a)^1(6a)^1$	35

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Tabelle 22: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit fünf Zuständen berechneten Modellchromophoren ohne Gegenion

	CASSCF		state	CASPT2		Konfiguration	Gewicht
	Energie au	f		Energie au	f		
pSb1ref	-480,2339		S_0	-481,7550		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,32 (373)	1,29	S_1	2,40 (516)	0,94	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,85 (322)	0,28	S_2	3,29 (377)	0,24	$(5a)^1(6a)^1$	21
						$(4a)^1(6a)^1$	23
pSb2ref	-480,2294		S_0	-481,7508		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,33 (373)	1,25	S_1	2,40 (516)	0,90	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,87 (320)	0,31	S_2	3,30 (376)	0,26	$(5a)^1(6a)^1$	22
pSb3ref	-480,2307		S_0	-481,7532		$(4a)^2(5a)^2$	80
	3,26 (380)	1,25	S_1	2,37 (523)	0,91	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,79 (327)	0,31	S_2	3,23 (384)	0,27	$(5a)^1(6a)^1$	22
						$(4a)^1(6a)^1$	22
Sb1ref	-479,8715		S_0	-481,3778		$(4a)^2(5a)^2$	75
	6,04 (205)	1,44		3,87 (321)	0,92	$(5a)^1(6a)^1$	60
	5,99 (207)	0,48	S_1	4,08 (304)	0,33	$(5a)^1(6a)^1$	23
						$(2a)^1(6a)^1$	15

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Tabelle 23: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit sechs Zuständen berechneten Modellchromophore mit komplexem Gegenion

	CASSCF		state	CASPT2		Konfiguration	Gewicht
	Energie au	f		Energie au	f		
pSb	-480,2333		S_0	-481,7584		$(4a)^2(5a)^2$	80
	2,96 (418)	1,67	S_1	2,39 (519)	1,34	$(5a)^1(6a)^1$	67
	3,48 (357)	0,04	S_2	3,01 (412)	0,04	$(5a)^1(7a)^1$	14
						$(4a)^1(6a)^1$	25
					$(5a)^0(6a)^2$	26	
pSb1	-820,7781		S_0	-823,2769		$(4a)^2(5a)^2$	68
	5,10 (243)	1,49	S_1	3,18 (390)	0,93	$(5a)^1(6a)^1$	54
	3,77 (329)	0,01	S_2	3,32 (374)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	14
						$(4a)^1(6a)^1$	18
					$(5a)^0(6a)^2$	32	
pSb2	-744,7270		S_0	-747,0087		$(4a)^2(5a)^2$	68
	5,21 (238)	1,63	S_1	3,12 (398)	0,98	$(5a)^1(6a)^1$	66
	3,80 (327)	0,01	S_2	3,34 (371)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	14
						$(4a)^1(6a)^1$	18
					$(5a)^0(6a)^2$	32	
pSb3	-744,7303		S_0	-747,0130		$(4a)^2(5a)^2$	75
	5,20 (239)	1,61	S_2	3,11 (399)	0,96	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,70 (335)	0,01	S_3	3,25 (382)	0,01	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	17
					$(5a)^0(6a)^2$	32	
Sb1	-668,7016		S_0	-670,7567		$(4a)^2(5a)^2$	75
	5,85 (212)	1,73	S_1	3,44 (361)	1,02	$(5a)^1(6a)^1$	73
	3,91 (317)	0,00	S_2	3,48 (356)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	19
					$(5a)^0(6a)^2$	31	
Sb	-479,8753		S_0	-481,3708		$(4a)^2(5a)^2$	71
	6,14 (202)	1,52	S_2	3,90 (318)	0,97	$(5a)^1(6a)^1$	63
	4,04 (307)	0,00	S_1	3,62 (342)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	18
					$(5a)^0(6a)^2$	29	

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Tabelle 24: CASSCF- und CASPT2- korrigierte Zustandsenergien^a, Oszillatorstärken (f) und die dominierenden Konfigurationen^b der mit sechs Zuständen berechneten Modellchromophore ohne Gegenion

	CASSCF		CASPT2				
	Energie	f	state	Energie	f	Konfiguration	Gewicht
	au			au			
pSb1	-480,2318		S_0	-481,7555		$(4a)^2(5a)^2$	81
ref	3,15 (393)	1,38	S_1	2,45 (506)	1,08	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,84 (323)	0,22	S_2	3,28 (378)	0,19	$(5a)^1(6a)^1$	18
						$(4a)^1(6a)^1$	25
						$(5a)^0(6a)^2$	16
pSb2	-480,2272		S_0	-481,7513		$(4a)^2(5a)^2$	81
ref	3,16 (393)	1,35	S_1	2,45 (506)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	65
	3,85 (322)	0,24	S_2	3,29 (377)	0,21	$(5a)^1(6a)^1$	18
						$(4a)^1(6a)^1$	24
						$(5a)^0(6a)^2$	15
pSb3	-480,2286		S_0	-481,7537		$(4a)^2(5a)^2$	80
ref	3,09 (401)	1,35	S_1	2,42 (513)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	64
	3,77 (329)	0,24	S_2	3,22 (385)	0,21	$(5a)^1(6a)^1$	19
						$(4a)^1(6a)^1$	24
						$(5a)^0(6a)^2$	15
Sb1	-479,8711		S_0	-481,3780		$(4a)^2(5a)^2$	75
ref	6,05 (205)	1,73	S_3	3,65 (340)	1,05	$(5a)^1(6a)^1$	71
	3,91 (317)	0,00	S_1	3,52 (352)	0,00	$(5a)^1(7a)^1$	15
						$(4a)^1(6a)^1$	19
						$(5a)^0(6a)^2$	31

^a Differenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand in eV, in Klammern Wert in nm

^b Das Gewicht der Konfigurationen in %

Die Resultate der Rechnungen mit unterschiedlichen Anzahlen von Zuständen werden deutlich, wenn man Abbildung 40 betrachtet. Hier sind die Energien der Zustände, bei denen die HOMO \rightarrow LUMO Anregung einen Anteil liefert, gegen die Anzahl der berechneten Zustände aufgetragen. Die Zahlen an den Datenmarkierungen bezeichnet dabei den Anteil der HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration am Gesamtzustand in Prozent.

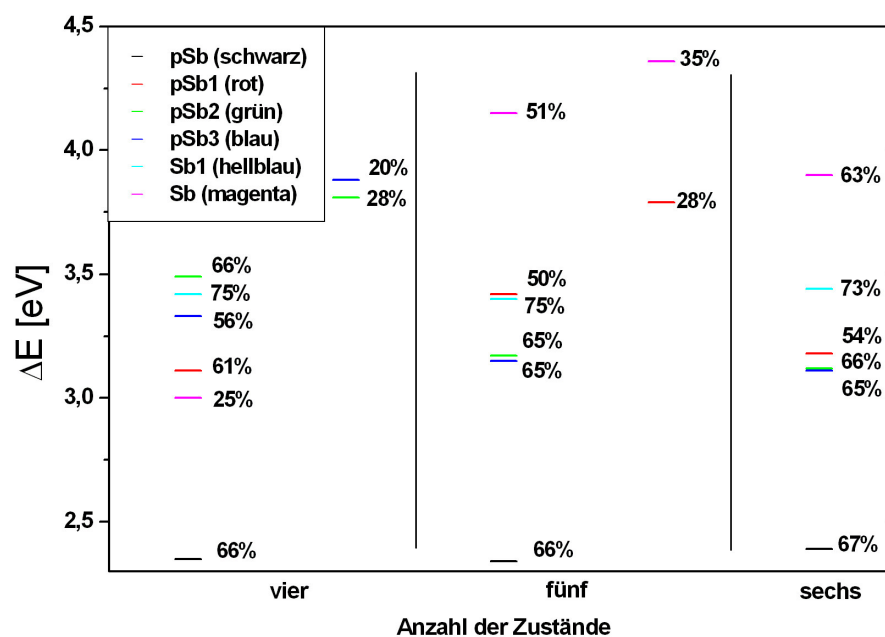


Abbildung 40: HOMO \rightarrow LUMO Übergänge der Modelle, die Zahlen geben das Gewicht des Zustands an

Bei den Rechnungen mit vier Zuständen besitzt der HOMO \rightarrow LUMO Übergang bei mehr als einem Modell in zwei Zuständen ein hohes Gewicht (pSb2, pSb3). Es gibt also nicht nur einen Zustand, der von einem HOMO \rightarrow LUMO Übergang dominiert wird, sondern mehrere Zustände, bei denen das Gewicht dieser Konfiguration sehr groß ist. Dieses Phänomen tritt bei der Struktur pSb2 sehr deutlich auf. Es gibt einen Zustand mit einem HOMO \rightarrow LUMO Anteil von 66% und einen zweiten, bei dem diese Konfiguration ein Gewicht von 28% besitzt. Bei der freien deprotonierten Schiff-Base hat die $(5a)^1(6a)^1$ -Konfiguration zwar nur in einem Zustand (S_1) einen höheren Anteil, doch liegt dieser mit lediglich 25% entschieden zu niedrig; idealerweise sollte das Gewicht des HOMO - LUMO

Überganges bei 55% und höher liegen. Die hier ermittelten Daten können demnach nicht zur Auswertung verwendet werden, da die $(5a)^1(6a)^1$ -Konfiguration entweder in mehr als einem Zustand zu viel Gewicht hat oder bei einer Struktur ein viel zu geringes.

Als Folge davon wurde die Zahl der Zustände auf fünf erhöht und die Modelle erneut berechnet. Dabei veränderte sich auch die Zusammensetzung der Zustände für die Modelle. Bei den Modellsystemen pSb2 und pSb3 hat der HOMO \rightarrow LUMO Übergang nun nur noch bei einem Zustand ein hohes Gewicht. Dafür hat sich die Zusammensetzung der Zustände bei pSb1 extrem verschlechtert. Sowohl S_4 als S_5 haben nun einen großen prozentualen Anteil der HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration. Bei der freien deprotoniert Schiff-Base hat sich der HOMO \rightarrow LUMO Anteil im Zustand S_2 zwar nun von 25 auf 51% erhöht, dafür liegt jetzt ein zweiter Zustand (S_5) vor, bei dem das Gewicht der $(5a)^1(6a)^1$ -Konfiguration bei 35% liegt. Ein Ergebnis das immer noch sehr unbefriedigend ist und welches ebenfalls nicht zu einer sinnvollen Auswertung herangezogen werden sollte.

Erst eine Erhöhung der berechneten Zustände auf sechs löst die oben beschriebenen Probleme. Bei jedem Modell wird nun lediglich ein Zustand von der HOMO \rightarrow LUMO Anregung bestimmt, dessen Gewicht mit um die 54 - 67% bei recht akzeptablen Werten liegt.

Zu den Energien der HOMO \rightarrow LUMO Übergänge läßt sich sagen, daß sich diese vor allem mit dem Gewicht der Konfiguration verändern. Die Struktur pSb hat bei allen Rechnungen lediglich einen Zustand, in dem der HOMO \rightarrow LUMO Übergang einen hohen Anteil hat. Der prozentuale Anteil ändert sich bei der Berechnung von mehr Zuständen kaum, und die Energie des Zustands ändert sich um lediglich 0,04 eV. Das gleiche gilt für die Struktur Sb1.

Bei den Strukturen pSb1, pSb2 und pSb3 treten zwischenzeitlich zwei Zustände mit einem hohen HOMO \rightarrow LUMO Anteil auf. Hier ist zu erkennen, daß die Zustände energetisch höher liegen, wenn der HOMO \rightarrow LUMO Übergang in mehr als einem Zustand ein hohes Gewicht hat, da diese stark miteinander wechselwirken. Der prozentuale Anteil der Konfiguration ist höher, wenn diese nur in einem Zustand vertreten ist.

Abbildung 41 ist analog zu Abbildung 40 für die Referenzstrukturen erstellt worden. Auch hier sind die Energien der den HOMO \rightarrow LUMO Übergang beinhaltenden Zustände gegen die Anzahl der berechneten Zustände aufgetragen. An den Markierungen bezeichnet die Zahl wiederum das Gewicht der HOMO \rightarrow LUMO

Konfiguration in Prozent. Bei den Referenzstrukturen treten bei der Berechnung mit vier Zuständen ebenfalls zwei Zustände mit einem HOMO \rightarrow LUMO Anteil von 66% und 20% auf. Bei der Referenzstruktur der deprotonierten Schiff-Base (Sb1ref) hat die HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration in keinem der vier Zustände ein Gewicht über 10%. Diese Daten sind demnach für eine Auswertung nicht akzeptabel.

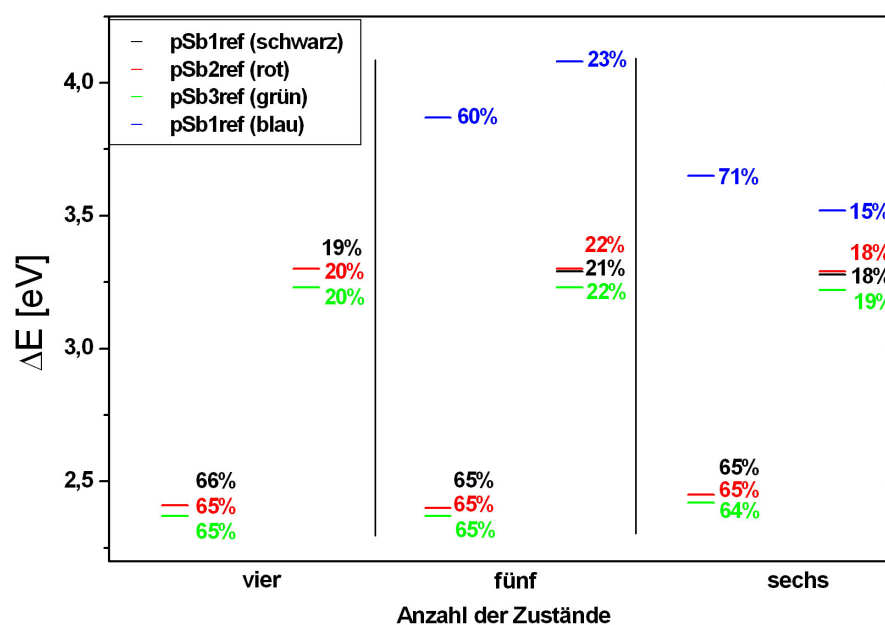


Abbildung 41: HOMO \rightarrow LUMO Übergänge der Referenzstrukturen; die Zahlen geben das Gewicht des Zustands an

Erhöht man hier die Anzahl der Zustände auf fünf, so nimmt das Gewicht der $(5a)^1(6a)^1$ -Konfiguration im zweiten Zustand erst einmal zu. Für die Struktur Sb1ref erhält man nun zwei Zustände mit einem relativ hohen prozentualen Anteil der HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration (60 und 23%).

Berechnet man die Modelle mit sechs Zuständen, so sinkt der HOMO \rightarrow LUMO Anteil im zweiten Zustand allerdings mit unter 20% auf ein durchaus akzeptables Gewicht ab. Das Gewicht der $(5a)^1(6a)^1$ -Konfiguration im ersten Zustand ändert sich hier, außer bei Sb1ref kaum und liegt nahezu konstant bei 65%; unabhängig davon, wieviele Zustände berechnet werden.

Zu den Energien der Zustände läßt sich auch hier wieder die gleiche Schlußfolgerung ziehen wie bei den vorherigen Modellen. Treten zwei Zustände mit einem hohen Anteil an HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration vor, so liegen diese energetisch relativ hoch. Erhöht sich die Anzahl der Zustände und erhält man lediglich einen Zustand mit einem hohen Anteil an HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration, so besitzt dieser eine wesentlich geringere Energie, da die elektronischen Wechselwirkungen zwischen den Zuständen mit unterschiedlichen Konfigurationen geringer sind.

Die genaue Beschreibung des HOMO \rightarrow LUMO Zustands ist demnach von der Anzahl der berechneten Zustände abhängig. Werden zuwenig berechnet, so scheint sich die HOMO \rightarrow LUMO Konfiguration auf mehrere Zustände zu verteilen. Als Folge davon liegen diese aufgrund der Korrelation untereinander energetisch höher als der reine HOMO \rightarrow LUMO Zustand. Erhöht man die Anzahl der Zustände, so nehmen diese Wechselwirkungen ab, und die HOMO \rightarrow LUMO Anregung trägt lediglich im hohen Maße zu einem Zustand bei.

Literaturverzeichnis

- [1] W. Kuhne, *On the Photochemistry of the Retina and on Visual Purple*, Macmillan, London, 1878.
- [2] J. Nathans, "Rhodopsin: Structure, functions and genetics", *Biochemistry* **31**, p. 4923, 1992.
- [3] R. R. Rando, "Polyenes and vision", *Chem. and Biol.* **3**, p. 255, 1996.
- [4] L. Stryer, *Biochemistry, Fourth Edition*, Spektrum, Akad. Verlag, 1995.
- [5] R. R. Birge, "Nature of the primary photochemical events in rhodopsin and bacteriorhodopsin", *Biochim. and Biophys. Acta* **1016**, p. 293, 1990.
- [6] S. T. Menon, M. Han, and T. P. Sakmar, "Rhodopsin: Structural basis of molecular physiology", *Physiol. Rev.* **81**, p. 1659, 2001.
- [7] R. R. Rando, "The biochemistry of the visual cycle", *Chem. Rev.* **101**, p. 1881, 2001.
- [8] T. Okada, O. P. Ernst, K. Palczewski, and K. P. Hofmann, "Activation of rhodopsin: New insights from structural and biochemical studies", *Trends in Biochem. Sc.* **26**, p. 318, 2001.
- [9] T. Okada and K. Palczewski, "Crystal structure of rhodopsin: Implications for vision and beyond", *Current Opinion in Struc. Biol.* **11**, p. 420, 2001.
- [10] R. B. Barlow, R. R. Birge, E. Kaplan, and J. R. Tallent, "On the molecular origin of photoreceptor noise", *Nature* **366**, p. 64, 1993.
- [11] L. A. Peteanu, R. W. Schoenlein, Q. Wang, R. A. Mathies, and C. V. Shank, "The first step in vision occurs in femtoseconds: Complete blue and red spectral studies", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, p. 11762, 1993.

- [12] K. A. Freedman and R. S. Becker, "Comparative investigation of the photoisomerization of the protonated and unprotonated n-butylamine schiff base of 9-cis, 11-cis, 13-cis and all-trans retinal", *J. Am. Chem. Soc.* **108**, p. 1245, 1986.
- [13] R. Vogel, G.-B. Fan, F. Siebert, and M. Sheves, "Anions stabilize a metarhodopsin II-like photoproduct with a protonated schiff base", *Biochemistry* **40**, p. 13342, 2001.
- [14] P. W. Atkins and R. S. Friedman, *Molecular Quantum Mechanics, Third Edition*, Oxford University Press, 1997.
- [15] A. Szabo and N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry - Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*, Dover Publications INC., Mineola, New York, 1989.
- [16] B. O. Roos, "The Complete Active Space Self-Consistent Field method and its applications in electronic structure calculation," in *Ab initio methods in Quantum Chemistry-II*, K. P. Lawley, ed., John Wiley & Sons, New York, 1987.
- [17] B. O. Roos, "The multiconfigurational (MC) self-consistent field (SCF) theory", in *Lecture Notes in Quantum Chemistry*, B. O. Roos, ed., Springer Verlag, 1992.
- [18] B. O. Roos, "Multiconfigurational (MC) self-consistent (SCF) theory", in *European Summerschool in Quantum Chemistry Book 2*, B. O. Roos and P.-O. Widmark, eds., Lund University, Lund, 2003.
- [19] B. O. Roos, K. Andersson, M. P. Fulscher, P.-Å. Malmqvist, L. Serrano-Andres, K. Pierloot, and M. Merchan, "Multiconfigurational perturbation theory: Applications in electronic spectroscopy", in *Advances in Chemical Physics: New Methods in Computational Quantum Mechanics, Vol. XCIII:219-331*, I. Prigogine and S. A. Rice, eds., John Wiley & Sons, New York, 1996.
- [20] J. Finley, P. A. Malmqvist, and B. O. Roos, "The Multi-State CASPT2 method", *Chem. Phys. Let.* **288**, p. 299, 1998.

- [21] K. Andersson, P.-Å. Malmqvist, and B. O. Roos, "Second-order perturbation theory with a Complete Active Space Self-Consistent Field reference function", *J. Chem. Phys.* **96**, p. 1218, 1992.
- [22] K. Andersson, "Different forms of the zeroth-order hamiltonian in second order i theory with a Complete Active Space Self-Consistent Field reference function", *Theor. Chim. Acta* **91**, p. 31, 1995.
- [23] K. Andersson, M. P. Fulscher, and B. O. R. et al., "Application of level shift corrected perturbation theory in electronic spectroscopy", *J. Mol. Struct. (Theochem)*. **388**, p. 257, 1996.
- [24] B. O. Roos and K. Anderson, "Applications of level shift corrected perturbation theory in electronic spectroscopy", *Chem. Phys. Let.* **245**, p. 215, 1995.
- [25] N. Forsberg and P. A. Malmqvist, "Multiconfiguration perturbation theory with imaginary level shift", *Chem. Phys. Let.* **274**, p. 196, 1997.
- [26] P. O. Lowdin, "Quantum theory of many-particle systems. I. physical interpretation by means of density matrices, natural spin orbitals and convergence problems in the method of configuration interaction", *Phys. Rev.* **97**, p. 1474, 1955.
- [27] T. Dunning, "Gaussian basis functions for use in molecular calculations. I. Contraction of (9s5p) atomic basis sets for the first row atoms", *J. Chem. Phys.* **53**, p. 2823, 1970.
- [28] P.-O. Widmark, P. A. Malmqvist, and B. O. Roos, "Density matrix averaged atomic natural orbital (ANO) basis sets for correlated molecular wave functions. I. First row atoms", *Theor. Chim. Acta* **77**, p. 291, 1990.
- [29] K. Pierloot, B. Dumez, P. O. Widmark, and B. O. Roos, "Density matrix averaged atomic natural orbital (ANO) basis sets for correlated molecular wave functions. IV. Medium size basis sets for the atoms H-Kr", *Theor. Chim. Acta* **90**, p. 87, 1995.
- [30] K. Palczewski, T. Kumasaka, T. Hori, B. C. A, H. Motoshima, B. A. Fox, I. L. Trong, D. C. Teller, T. Okada, R. E. Stenkamp, M. Yamamoto, and

- M. Miyano, "Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor", *Science* **289**, p. 739, 2000.
- [31] D. C. Teller, T. Okada, C. A. Behnke, K. Palczewski, and R. E. Stenkamp, "Advances in determination of a high resolution three dimensional structure of rhodopsin, a model of G-protein coupled receptors", *Biochemistry* **40**, p. 7761, 2001.
- [32] K. Andersson, M. Baryz, A. Bernhardsson, M. R. A. Blomberg, D. L. Cooper, M. P. Fülcher, C. de Graaf, B. Hess, G. Karlström, R. Lindh, P. Malmqvist, T. Nakajima, P. Neogrady, J. Olsen, B. O. Roos, B. Schimmelpfennig, M. Schütz, L. Seijo, L. Serrano-Andres, P. E. Siegbahn, J. Stålring, T. Thorsteinsson, V. Veryazov, and P. Widmark, *MOCCAS Version 5.4*. Dept. of Theor. Chem., Chem. Center, Univ. of Lund, P.O.B. 124, S-221 00 Lund, Sweden, Lund, 2002.
- [33] G. G. Kochendoerfer, S. W. Lin, T. P. Sakmar, and R. A. Mathies, "How color visual pigments are tuned", *TIBS* **24**, p. 300, 1999.
- [34] B. Honig, U. Dinur, K. Nakanishi, V. Balogh-Nair, M. A. Gawinowics, M. Arnaboldi, and M. G. Motto, "An external point-charge model for wavelength regulation in visual pigments", *J. Am. Chem. Soc.* **101**, p. 7084, 1979.
- [35] P. E. Blatz, J. H. Mohler, and H. V. Navangul, "Anion induced wavelength regulation of absorption maxima of schiff bases of retinal", *Biochemistry* **11**, p. 848, 1972.
- [36] H. Kakitani, T. Kakitani, H. Rodman, and B. Honig, "On the mechanism of wavelength regulation in visual pigments", *Photochem. Photobiol.* **41**, p. 479, 1985.
- [37] M. Han, B. S. DeDecker, and S. O. Smith, "Localization of the retinal protonated schiff base counterion in rhodopsin", *Biophys. J.* **65**, p. 899, 1993.
- [38] M. Han and S. O. Smith, "High-resolution structural studies of the retinal-Glu113 interaction in rhodopsin", *Biophys. Chem.* **56**, p. 23, 1995.

- [39] E. A. Zhukovsky, P. R. Robinson, and D. D. Oprian, "Changing the location of the schiff base counterion in rhodopsin", *Biochemistry* **31**, p. 10400, 1992.
- [40] S. W. Lin, T. P. Sakmar, R. R. Franke, H. G. Khorana, and R. A. Mathies, "Resonance raman microprobe spectroscopy of rhodopsin mutants: Effect of substitutions in the third transmembrane helix", *Biochemistry* **31**, p. 5105, 1992.
- [41] T. P. Sakmar, R. Franke, and H. G. Khorana, "Glutamic acid-113 serves as the retinylidene schiff base counterion in bovine rhodopsin", *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**, p. 8309, 1989.
- [42] K. Fahmy and T. P. Sakmar, "Light-dependent transducin activation by an ultraviolet-absorbing rhodopsin mutant", *Biochemistry* **32**, p. 9165, 1993.
- [43] E. A. Zhukovsky and D. D. Oprian, "Effect of carboxylic acids side chains on the absorption maximum of visual pigments", *Science* **246**, p. 928, 1989.
- [44] J. Nathans, "Determinants of visual pigment absorbance: Identification of the retinylidene schiff's base counterion in bovine rhodopsin", *Biochemistry* **29**, p. 9746, 1990.
- [45] J. Li, P. C. Edwards, M. Burghammer, C. Villa, and G. F. X. Schertler, "Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form", *JMB* **343**, p. 1409, 2004.
- [46] P. J. R. Spooner, J. M. Sharples, M. A. Verhoeven, J. Lugtenburg, C. Glaubitiz, and A. Watts, "Relative orientation between the β -ionone ring and the polyene chain for the chromophore of rhodopsin in native membranes", *Biochemistry* **41**, p. 7549, 2002.
- [47] T. Okada, M. Sugihara, A.-N. Bondar, M. Elstner, P. Entel, and V. Buß, "The retinal conformation and its environment in rhodopsin in light of a new 2.2 Å crystal structure", *J. Mol. Biol.* **342**, p. 571, 2004.
- [48] G. F. J. Salgado, A. V. Struts, K. Tanaka, N. Fujikota, K. Nakanishi, and M. F. Brown, "Deuterium NMR structure of retinal in the ground state of rhodopsin", *Biochemistry* .

- [49] J. Lou, M. Hashimoto, N. Berova, and K. Nakanishi, "Enantioselective binding of an 11-cis locked cyclopropyl retinal. The conformation of retinal in bovine rhodopsin", *Org. Lett.* **1**, p. 51, 1999.
- [50] Q. Tan, J. Lou, B. Borhan, E. Karnaukhova, N. Berova, and K. Nakanishi, "Absolute sense of twist of the C12-C13 bond of the retinal chromophore in bovine rhodopsin based on exciton-coupled CD spectra of 11,12 dihydroretinal analogues", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **36**, p. 2089, 1997.
- [51] M. Sugihara, V. Buss, P. Entel, and J. Hafner, "The nature of the complex counterion of the chromophore in rhodopsin", *J. Phys. Chem. B* **108**, p. 3673, 2004.
- [52] P. Entel, M. Sugihara, M. Elstner, and T. Frauenheim, "11-cis retinal protonated schiff base: The effect of environment and solvent on the chromophore of rhodopsin", *Compt. Nanosc. Nanotechn.* , p. 77, 2002.
- [53] V. Buss, M. Sugihara, P. Entel, and J. Hafner, "Thr94 and wat2b effect protonation of the retinal chromophore in rhodopsin", *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, p. 3245, 2003.
- [54] T. Nagata, A. Terakita, H. Kandori, D. Kojima, Y. Shichida, and A. Maeda, "Water and peptide backbone structure in the active center of bovine rhodopsin", *Biochemistry* **36**, p. 6164, 1997.
- [55] Y. Gat and M. Sheves, "A mechanism for controlling the pK_a of the retinal protonated schiff base in retinal proteins. A study with model compounds", *J. Am. Chem. Soc.* **115**, p. 3772, 1993.
- [56] P. C. Edwards, J. Li, M. Burghammer, J. H. McDowell, C. V. and P. A. Hargraves, and G. F. X. Schertler, "Crystals of native and modified bovine rhodopsins and their heavy atom derivatives", *JMB* **343**, p. 1439, 2004.
- [57] C. N. Rafferty and H. Shichi, "The involvement of water at the retinal binding site in rhodopsin and early light-induced intramolecular proton transfer", *Photochemistry and Photobiology* **33**, p. 229, 1981.
- [58] T. Okada, Y. Fujiyoshi, M. Silow, J. Navarro, E. M. Landau, and Y. Shichida, "Functional role of internal water molecules in rhodopsin revealed by X-ray crystallography", *PNAS* **99**, p. 5982, 2002.

- [59] T. P. Sakmar, R. R. Franke, and H. G. Khorana, "The role of the retinylidene schiff base counterion in rhodopsin in determining wavelength absorbance and schiff base pK_a ", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, p. 3079, 1991.
- [60] M. Schreiber and V. Buß, "Origin of the bathochromic shift in the early photointermediates of the rhodopsin visual cycle: A CASSCF/CASPT2 study", *Int. J. Quant. Chem.* **95**, p. 882, 2003.
- [61] M. Sugihara, V. Buss, P. Entel, M. Elstner, and T. Frauenheim, "11-cis retinal protonated schiff base: Influence of the protein environment on the geometry of the rhodopsin chromophore", *Biochemistry* **41**, p. 15259, 2002.
- [62] E. Tajkhorshid and S. Suhai, "The effect of the protein environment on the structure and charge distribution of the retinal schiff base in bacteriorhodopsin", *Theoret. Chem. Acc.* **121**, p. 101, 1999.
- [63] M. Carravetta, X. Zhao, O. G. Johannessen, W. C. Lai, M. A. Verhoeven, P. H. M. Bovee-Geurts, P. J. E. Verdegem, S. Kiihne, H. Luthman, H. J. M. de Groot, W. J. deGrip, J. Lugtenburg, and M. H. Levitt, "Protein-induced bonding perturbation of the rhodopsin chromophore detected by double-quantum solid state NMR", *J. Am. Chem. Soc.* **126**, p. 3948, 2004.
- [64] S. I. E. Touw, H. J. M. de Groot, and F. Buda, "Ab initio modeling of the spatial, electronic and vibrational structure of schiff base models for visual photoreceptors", *J. Phys. Chem. B* **108**, p. 13560, 2004.
- [65] C. Sandorfy, "Spectroscopy of non-aromatic schiff bases", *J. of Photochem.* **17**, p. 297, 1981.
- [66] J. Hufen, M. Sugihara, and V. Buss, "How the counterion affects ground- and excited state properties of the rhodopsin chromophore", *J. Phys. Chem. B* **108**, p. 20419, 2004.
- [67] B. Honig, A. D. Greenberg, U. Dinur, and T. G. Ebrey, "Visual pigment spectra: Implications of the protonation of the retinal schiff base", *Biochemistry* **15**, p. 4593, 1976.
- [68] M. Schreiber, V. Buss, and M. Sugihara, "Exploring the opsin shift with ab initio methods: Geometry and counterion effects on the electronic spectrum of retinal", *J. Chem. Phys.* **119**, p. 12045, 2003.

- [69] G. G. Kochendoerfer, Z. Wang, D. D. Oprian, and R. A. Mathies, "Resonance raman examination of the wavelength regulation mechanism in human visual pigments", *Biochemistry* **36**, p. 6577, 1997.
- [70] N. Livnah and M. Sheves, "Model compounds can mimic spectroscopic properties of bovine rhodopsin", *J. Am. Chem. Soc.* **115**, p. 351, 1993.
- [71] L. Serrano-Andres, R. Lindh, and B. O. Roos, "Theoretical study of the electronic spectrum of all-trans-1,3,5,7 octatetraene", *J. Phys. Chem.* **97**, p. 9360, 1993.
- [72] K. R. Babu, A. Dukupati, R. R. Birge, and B. E. Knox, "Regulation of phototransduction in short-wavelength cone visual pigments via the retinylidene schiff base counterion", *Biochemistry* **40**, p. 13760, 2001.
- [73] M. Ponder and R. Mathies, "Excited-state polarizabilities and dipole moments of diphenylpolyenes and retinal", *J. Phys. Chem.* **87**, p. 5090, 1983.
- [74] M. Ishiguro., "A mechanism of primary photoactivation of rhodopsin: Modeling of the intermediates in the rhodopsin photocycle", *J. Am. Chem. Soc.* **122**, p. 444, 2000.
- [75] G. G. Kochendoerfer, P. J. E. Verdegem, I. van der Hoef, J. Lugtenburg, and R. A. Mathies, "Retinal analog study of the role of steric interactions in the excited state isomerization dynamics of rhodopsin", *Biochemistry* **35**, p. 16230, 1996.
- [76] Q. Wang, G. G. Kochendoerfer, R. W. Schoenlein, P. J. E. Verdegem, J. Lugtenburg, R. M. Mathies, and C. V. Shank, "Femtosecond spectroscopy of a 13-demethylrhodopsin visual pigment analogue: The role of nonbonded interactions in the isomerization process", *J. Phys. Chem.* **100**, p. 17388, 1996.
- [77] C. M. Einterz, S. J. Hug, J. W. Lewis, and D. S. Kliger, "Early photolysis intermediate of the artificial visual pigment 13-demethylrhodopsin", *Biochemistry* **29**, p. 1485, 1990.
- [78] W. Gärtner and S. Ternieden, "Influence of a steric hindrance in the chromophore of rhodopsin on the quantum yield of the primary photochemistry", *J. Photochem. Photobiol. B* **33**, p. 83, 1996.

- [79] W. Sperling and C. N. Rafferty, "Relationship between absorption spectrum and molecular conformations of 11-cis retinal", *Nature* **224**, p. 591, 1969.
- [80] H. Zhang, K. A. Lerro, T. Yamamoto, T. H. Lien, L. Sastry, M. A. Gawinowicz, and K. Nakanishi, "The location of the chromophore in rhodopsin: A photoaffinity study", *J. Am. Chem. Soc.* **116**, p. 10165, 1994.
- [81] B. Honig, P. Kahn, and T. G. Ebrey, "Intrinsic optical activity of retinal isomers. Implications for the circular dichroism spectra of rhodopsin", *Biochemistry* **12**, p. 1637, 1973.
- [82] J. Saam, E. Tajkhorshid, S. Hayashi, and K. Schulten, "Molecular dynamics investigation of primary photoinduced events in the activation of rhodopsin", *Biophys. J.* **83**, p. 3097, 2002.
- [83] O. Weingart and V. Buss, "Excited state isomerization of small polyeneiminium ions - the influence of the initial torsion and methyl substitution on MD-calculated reaction dynamics", *Phase Transitions* **75**, p. 19, 2002.
- [84] S. W. Lin, M. Groesbeek, I. van der Hoef, P. Verdegem, J. Lugtenburg, and R. A. Mathies, "Vibrational assignment of torsional normal modes of rhodopsin: Probing excited state isomerization dynamics along the reactive C11=C12 torsion coordinate", *J. Phys. Chem. B* **102**, p. 2787, 1998.
- [85] P. J. E. Verdegem, P. H. M. Bovee-Geurts, W. J. de Grip, J. Lugtenburg, and H. J. M. de Groot, "Retinylidene ligand structure in bovine rhodopsin, metarhodopsin-I and 10-methylrhodopsin from internuclear distance measurements using ^{13}C labeling and 1-D rotational resonance MAS NMR", *Biochemistry* **38**, p. 11316, 1999.
- [86] F. DeLange, P. H. M. Bovee-Geurts, J. VanOostrum, M. D. Portier, P. J. E. Verdegem, J. Lugtenburg, and W. J. deGrip, "An additional methyl group at the 10 position of retinal dramatically slows down the kinetics of the rhodopsin photocascade", *Biochemistry* **37**, p. 1411, 1998.
- [87] D. Koch and W. Gärtner, "Steric hindrance between chromophore substituents as the driving force of rhodopsin photoisomerization: 10-methyl-13-demethyl retinal containing rhodopsin", *Photochem. and Photobiol.* **65**, p. 181, 1997.

- [88] M. Han, M. Groesbeek, S. O. Smith, and T. P. Sakmar, "Role of the C₉ methyl group in rhodopsin activation: Characterization of mutant opsins with artificial chromophore 11-cis-9-demethylretinal", *Biochemistry* **37**, p. 538, 1998.
- [89] J. Lou, Q. Tan, E. Kanaukhova, N. Berova, K. Nakanishi, and R. K. Crouch, "Synthetic retinals: Convenient probes of rhodopsin and visual transduction process", *Meth. in Enzym.* **315**, p. 219, 2000.
- [90] U. M. Ganter, E. D. Schmid, D. Perez-Sala, R. R. Rando, and F. Siebert, "Removal of the 9-methyl group of retinal inhibits signal transduction in the visual process. A fourier transform infrared and biochemical investigation", *Biochemistry* **28**, p. 5954, 1989.
- [91] R. Vogel, G.-B. Fan, M. Sheves, and F. Siebert, "The molecular origin of the inhibition of transducin activation in rhodopsin lacking the 9-methyl group of the retinal chromophore: A UV-VIS and FTIR spectroscopy study", *Biochemistry* **39**, p. 8895, 2000.
- [92] E. Tajkhorshid, B. Paizs, and S. Suhai, "Conformational effects on the proton affinity of the schiff base in bacteriorhodopsin: A density functional study", *J.Phys.Chem.B.* **101**, p. 8021, 1997.
- [93] R. D. J. Froese, I. Komaromi, K. S. Byun, and K. Morokuma, "Theoretical studies of protonated and non-protonated schiff bases of retinal: Ground state structures and energies of the all-trans, 13-cis, 11-cis, 9-cis, 6,7-cis and 6-s-cis isomers", *Chem. Phys. Lett.* **272**, p. 335, 1997.
- [94] A. Bifone, H. J. M. de Groot, and F. Buda, "Ab initio molecular dynamics of retinal", *Chem. Phys. Let.* **248**, p. 165, 1996.
- [95] S. O. Smith, J. Courtin, H. de Groot, R. Gebhard, and J. Lugtenburg, "¹³C magic-angle spinning NMR study of bathorhodopsin, the primary photoproduct of rhodopsin", *Biochemistry* **30**, p. 7409, 1991.
- [96] D. S. Richter, "Personal communication", 2005.
- [97] J. E. Kim, D. W. McCamant, L. Zhu, and R. A. Mathies, "Resonance raman structural evidence that the cis-to-trans isomerization in rhodopsin occurs in femtoseconds", *J. Phys. Chem. B* **105**, p. 1240, 2001.

- [98] S. J. Hug, J. W. Lewis, C. M. Einterz, T. E. Thorgeirsson, and D. S. Kliger, "Nanosecond photolysis of rhodopsin: Evidence for a new, blue shifted intermediate", *Biochemistry* **29**, p. 1475, 1990.
- [99] Y. W. Lewis, F. J. G. M. van Kuijk, T. E. Thorgeirsson, and D. S. Kliger, "Photolysis intermediates of human rhodopsin", *Biochemistry* **30**, p. 11372, 1991.
- [100] I. Palings, J. A. Pardoën, E. van den Berg, C. Winkel, J. Lugtenburg, and R. A. Mathies, "Assignment of fingerprint vibrations in the resonance raman spectra of rhodopsin, isorhodopsin and bathorhodopsin: Implications for chromophore structure and environment", *Biochemistry* **26**, p. 2544, 1987.
- [101] F. Jaeger, L. Ujj, and G. H. Atkinson, "Vibrational spectrum of bathorhodopsin in the room-temperature rhodopsin photoreaction", *J. Am. Chem. Soc.* **119**, p. 12610, 1997.
- [102] M. Han and S. O. Smith, "NMR constraints on the location of the retinal chromophore in rhodopsin and bathorhodopsin", *Biochemistry* **34**, p. 1425, 1995.
- [103] I. Palings, E. M. M. van den Berg, J. Lugtenburg, and R. A. Mathies, "Complete assignment of the hydrogen out-of-plane wagging vibration of bathorhodopsin: Chromophore structure and energy storage in the primary photoproduct of vision", *Biochemistry* **28**, p. 1498, 1989.
- [104] G. Eyring, B. Curry, A. Broek, J. Lugtenburg, and R. Mathies, "Assignment and interpretation of hydrogen out-of-plane vibrations in the resonance raman spectra of rhodopsin and bathorhodopsin", *Biochemistry* **21**, p. 384, 1982.
- [105] G. Eyring, B. Curry, R. Mathies, F. Fransen, I. Palings, and J. Lugtenburg, "Interpretation of the resonance raman spectrum of bathorhodopsin based on visual pigment analogues", *Biochemistry* **19**, p. 2410, 1980.
- [106] Y. Imamoto, M. Sakai, Y. Katsuta, A. Wada, M. Ito, and Y. Shichida, "Structure around C6-C7 bond of the chromophore in bathorhodopsin: Low-temperature spectroscopy of 6s-cis locked bicyclic rhodopsin analogs", *Biochemistry* **35**, p. 6257, 1996.

- [107] M. Schreiber, M. Sugihara, T. Okada, and V. Buß, "Quantum mechanical studies on the crystallographic model of bathorhodopsin", *Angew. Chem. Int. Ed.* **45**, p. 4274, 2006.
- [108] D. Pan and R. A. Mathies, "Chromophore structure in lumirhodopsin and metarhodopsin I by time-resolved resonance raman microchip spectroscopy", *Biochemistry* **40**, p. 7929, 2001.
- [109] T. Okada, H. Kandori, Y. Shichida, T. Yoshizawa, M. Denny, B. W. Zhang, A. E. Asato, and R. S. H. Liu, "Spectroscopic study of the batho-to-lumi transition during the photobleaching of rhodopsin using ring-modified retinal analogues", *Biochemistry* **30**, p. 4796, 1991.
- [110] A. Popp, L. Ujj, and G. H. Atkinson, "Picosecond dynamics of the batho intermediate in the room-temperature rhodopsin photosequence", *J. Phys. Chem.* **99**, p. 10043, 1995.
- [111] D. Pan, Z. Ganim, J. E. Kim, M. A. Verhoeven, J. Lugtenburg, and R. A. Mathies, "Time-resolved resonance raman analysis of chromophore structural changes in the formation and decay of rhodopsin's BSI intermediate", *J. Am. Chem. Soc.* **124**, p. 4857, 2002.
- [112] U. M. Ganter, W. Gärtner, and F. Siebert, "Rhodopsin-lumirhodopsin phototransition of bovine rhodopsin investigated by fourier transform infrared difference spectroscopy", *Biochemistry* **27**, p. 7480, 1988.
- [113] G. A. Schick, T. M. Cooper, R. A. Holloway, L. P. Murray, and R. R. Birge, "Energy storage in the primary photochemical events of rhodopsin and isorhodopsin", *Biochemistry* **26**, p. 2556, 1987.
- [114] A. Cooper, "Energy uptake in the first step of visual excitation", *Nature* **282**, p. 531, 1979.
- [115] A. Bifone, H. J. M. de Groot, and F. Buda, "Energy storage in the primary photoproduct of vision", *J. Phys. Chem. B* **101**, p. 2954, 1997.
- [116] A. Warshel and N. Barbov, "Energy storage and reaction pathways in the first steps of the vision process", *J. Am. Chem. Soc.* **104**, p. 1469, 1982.

- [117] S. O. Smith, J. Courtin, H. de Groot, R. Gebhard, and J. Lugtenburg, “ ^{13}C magic angle spinning NMR studies of bathorhodopsin, the primary photoproduct of rhodopsin”, *Biochemistry* **30**, p. 7409, 1991.
- [118] S. Horiuchi, F. Tokunaga, and T. Yoshizawa, “Circular dichroism of cattle rhodopsin and bathorhodopsin at liquid nitrogen temperature”, *Biochim. et Biophys. Acta* **591**, p. 445, 1980.
- [119] M. Ito, Y. Katsuta, Y. Imamoto, Y. Shichida, and T. Yoshizawa, “Conformational analysis of the rhodopsin chromophore using bicyclic retinal analogues”, *Photochem. Photobiol.* **56**, p. 915, 1992.
- [120] A. Bifone, H. J. M. de Groot, and F. Buda, “Ab initio molecular dynamics of rhodopsin”, *Pure and Appl. Chem.* **69**, p. 2105, 1997.
- [121] T. Andruniow, N. Ferre, and M. Olivucci, “Structural, initial excited-state relaxation, and energy storage of rhodopsin resolved at the multiconfigurational perturbation theory level”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, p. 17908, 2004.
- [122] C. N. Rafferty, J. Y. Cassim, and D. G. McConnell, “Circular dichroism, optical rotatory dispersion and absorption studies on the conformation of bovine rhodopsin in situ and solubilized detergent”, *Biophys. Struct. Mechanism* **2**, p. 277, 1977.
- [123] E. C. Y. Yan, Z. Ganim, M. A. Kazmi, B. S. W. Chang, T. P. Sakmar, and R. A. Mathies, “Resonance raman analysis of the mechanism of energy storage and chromophore distortion in the primary visual photoproduct”, *Biochem.* **43**, p. 10867, 2004.
- [124] Y. Shichida, A. Kropf, and T. Yoshizawa, “Photochemical reactions of 13-demethyl visual pigment analogues at low temperature”, *Biochemistry* **29**, p. 1962, 1981.
- [125] H. J. M. de Groot, G. S. Harbison, J. Herzfeld, and R. G. Griffin, “Nuclear magnetic resonance study of the schiff base in bacteriorhodopsin: Counterion effects on the ^{15}N shift anisotropy”, *Biochemistry* **28**, p. 3346, 1989.

- [126] N. Ferre and M. Olivucci, "Probing the rhodopsin cavity with reduced retinal models at the CASPT2//CASSCF/AMBER level of theory", *J. Am. Chem. Soc.* **125**, p. 6868, 2003.
- [127] N. Ferre, A. Cembran, M. Garavelli, and M. Olivucci, "Complete Active Space Self Consistent Field/Amber parametrization of the Lys296-retinal-Glu113 rhodopsin chromophore counterion system", *Theor. Chim. Acta* **112**, p. 335, 2004.
- [128] M. Wanko, M. Hoffmann, P. Strodel, A. Koslowski, W. Thiel, and F. Neese, "Calculating absorption shifts for retinal proteins: Computational challenges", *J. Phys. Chem. B* **109**, p. 3606, 2005.
- [129] Q. Cui, M. Elstner, E. Kaxiras, T. Frauenheim, and M. Karplus, "A QM/MM implementation of the self-consistent charge density functional tight binding (SCC-DFTB) method", *J. Phys. Chem. B* **105**, p. 569, 2001.
- [130] J. A. Gascon, M. Sproviero, and V. S. Batista, "QM/MM study of the NMR spectroscopy of the retinyl chromophore in visual rhodopsin", *JCTC* **1(4)**, p. 674, 2005.
- [131] D. Jacquemin, A. Femenias, H. Chermette, J.-M. Andre, and E. A. Perpète, "Second-order moller-plesset evaluation of the bond length alternation of several series of linear oligomers", *J. Phys. Chem. A* **109**, p. 5734, 2005.
- [132] R. Birge and B. E. Knox, "Perspectives on the counterion switch-induced photoactivation of the G-protein coupled receptor rhodopsin", *PNAS* **100**, p. 9105, 2003.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Begriffe

CASSCF	Complete Active Space Self Consistent Field
CASPT2	Multiconfigurational Second Order Perturbation Theory
MCSCF	Multiconfigurational Self Consistent Field
HF	Hartree-Fock
DFT	Dichtefunktionaltheorie
MP2	Moller-Plesset-Störungstheorie
DFTB	Density Functional Tight Binding
QM/MM	Quantum Mechanics/Molecular Mechanics
CI	Configuration Interaction
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Occupied Molecular Orbital
CAS_n_n	aktiver Raum; beinhaltet n Orbitale und n Elektronen
UV	Ultraviolett
IR	Infrarot
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
CD	Circular Dichroism
f	Oszillatorstärke
R	Rotationsstärke
E	Energie
au	atomic units
eV	Elektronenvolt
nm	Nanometer
dark state	Grundzustand / Dunkelzustand
bathochrome Verschiebung	Verschiebung zu längeren Wellenlängen (red shift)
hypsochrome Verschiebung	Verschiebung zu kürzeren Wellenlängen (blue shift)
Photo	Photorhodopsin
Lumi	Lumirhodopsin
Batho	Bathorhodopsin
BSI	Blue Shifted Intermediate
Meta	Metarhodopsin
Glu	Glutamat
Thr	Threonin
Lys	Lysin