

Schnelle Photodynamik von organischen Pigmenten und azobenzolbasierten Photoschaltern

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich
Biochemie, Chemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe – Universität
in Frankfurt am Main

von
Lisa Lorenz
aus Bad Windsheim

Frankfurt 2009
(D30)

Vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der
Johann Wolfgang Goethe – Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. Dieter Steinhilber

1. Gutachter: Prof. Dr. Josef Wachtveitl

2. Gutachter: Prof. Dr. Karin Hauser

Datum der Disputation:

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen und Methoden	3
2.1	Das Anreg-Abtastexperiment	4
2.1.1	Der Ti:Saphir-Laser	4
2.1.2	Erzeugung von Anregungsimpulsen	5
2.1.3	Weißlichterzeugung	10
2.2	Datenerfassung und -verarbeitung	12
2.2.1	Auswertung der Messdaten	13
2.2.2	Darstellung der Messdaten	14
2.2.3	Probenbereich	15
2.3	Statische Charakterisierung und Belichtung	16
2.3.1	UV-Vis Absorptionsspektroskopie und kontinuierliche Belichtung	16
2.3.2	FTIR-Spektroskopie	16
2.3.3	Zirkulardichroismus	17
3	Photodynamik eines organischen Pigments	23
3.1	Einleitung und Motivation	24
3.2	Experimenteller Teil	26
3.2.1	Probenform	26
3.2.2	Messprozedur	26
3.3	Ergebnisse für die fluoreszierenden Pigmente	27
3.3.1	Statische Absorptions- und Fluoreszenzmessungen	27
3.3.2	Zeitaufgelöste Messungen von P.Y. 101 im sichtbaren Spektralbereich	27
3.3.3	P.Y. 101 in PVC-Folie	31
3.3.4	Zeitaufgelöste Messungen von HMNA im sichtbaren Spektralbereich	34
3.4	Ergebnisse für die nichtfluoreszierenden Pigmente NA und NAOMe	37
3.4.1	Statische Charakterisierung	37
3.4.2	Zeitaufgelöste Messungen von NA	37
3.4.3	Zeitaufgelöste Messungen von NAOMe	39
3.5	Interpretation und Diskussion	42
3.5.1	Fluoreszierende Derivate	42
3.5.2	Nicht-fluoreszierende Derivate	47
3.6	Zusammenfassung	49
4	Isomerisierung von Azobenzolderivaten	51
4.1	Einleitung	52
4.2	Azobenzolisomerisierung	53
4.2.1	Photochemie und Kinetik	54
4.2.2	Mechanismus der Isomerisierung	56

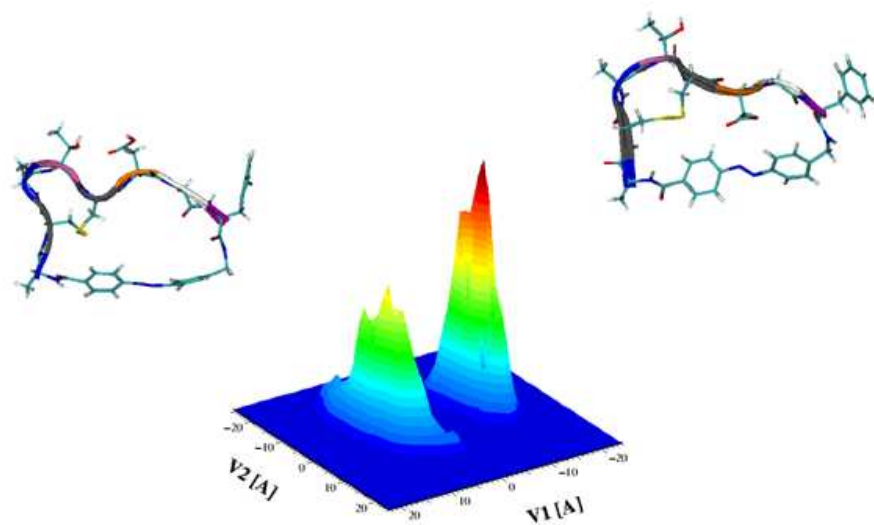
4.2.3	Einfluss von Substituenten	58
4.3	Experimente an Azobenzolderivaten	60
4.3.1	Experimenteller Teil	60
4.3.2	Untersuchte Azobenzolderivate	60
4.3.3	Ergebnisse	62
4.3.4	Interpretation und Diskussion	96
4.3.5	Zusammenfassung	98
5	Photoschaltbare Peptide	101
5.1	Einleitung	102
5.1.1	Kollagen: Struktur und Faltung	102
5.1.2	Charakteristika der Kollagenfaltung	105
5.2	Experimenteller Teil	108
5.2.1	Statische Charakterisierung	108
5.2.2	Zeitaufgelöste Messungen	118
5.3	Evaluation der thermodynamischen Größen	123
5.3.1	Auswertung der CD-Messungen	123
5.3.2	Auswertung der FTIR-Messungen	126
5.4	Zusammenfassung	128
6	Zusammenfassung	131

Abkürzungsverzeichnis

BBO	β -Barium Borat
CaF ₂	Kalziumfluorid
CI	Conical Intersection
CPA	Chirped Pulse Amplification
DAS	Decay Associated Spectrum
DCM	Dichlormethan
DMSO	Dimethylsulfoxid
EG	Ethylenglykol
ESA	Excited State Absorption
ESIPT	Excited-State Intramolecular Proton Transfer
Gly	Glycin
GSB	Ground State Bleach
GVD	Group Velocity Dispersion
HBT	2-(2'-Hydroxyphenyl)benzothiazole
HMNA	Hydroxy-Methyl-Naphthalazin
Hyp	Hydroxyprolin
LFER	Linear Free Energy Relation
Mcp	Mercaptoprolin
MRE	Molar Residue Ellipticity
NA	Naphthalazin
NAOMe	Methoxy-Naphthalazin
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium Granat
NOPA	Non-collinear Optical Parametric Amplifier
PDB	Protein Data Base
Pro	Prolin
PSS	Photo Stationary State
P.Y. 101	Pigment Yellow 101
SE	Stimulated Emission
SPM	Self Phase Modulation
YAG	Yttrium-Aluminium-Granat
YLF	Yttrium-Lithium-Fluorid

Kapitel 1

Einleitung: Photodynamik und Photoschalter¹



¹Die Abbildung wurde mit freundlicher Genehmigung aus [76] entnommen.

Die Untersuchung mikroskopischer Prozesse kann auf unterschiedliche Weise geschehen und je nach Experiment werden andere Erkenntnisse über ein System gewonnen. Die Beobachtung von dynamischen Vorgängen stellt eine gewisse Herausforderung an den Experimentator dar, da die Zeitauflösung der Apparatur dem System angepasst sein muss und das zu untersuchende Ereignis muss durch einen möglichst definierten Anfangs- und Endzustand charakterisiert sein. Die erste Einschränkung scheint mit dem Beginn der Attosekundenspektroskopie obsolet, allerdings kann eine solch hohe Zeitauflösung nur mit sehr speziellen spektroskopischen Methoden erreicht werden. Die Charakterisierung der Anfangsbedingungen stellt ein Problem dar, welches für nahezu jede Probe neu gelöst werden muss. Hierzu gehört auch die Definition des Startpunktes einer Reaktion. Das Wort 'Startpunkt' ist hier so zu verstehen, dass die Zeit zum Starten der Reaktion unterhalb der gewünschten Zeitauflösung liegen muss.

Für eine Zeitauflösung in der Größenordnung von Femtosekunden eignet sich die lichtgesteuerte Induktion der interessierenden Reaktion mittels kurzer Laserimpulse. Voraussetzung für diese Technik ist allerdings, dass das zu untersuchende System auf den Laserimpuls reagiert. Bei einigen Proben ist dies von vornherein gegeben, nämlich bei all denjenigen, deren Funktion auf der adäquaten Reaktion mit Licht beruht, wie zum Beispiel bei Retinal- oder Flavinproteinen und bei vielen anderen. In Kapitel 3 wird die Untersuchung der Photodynamik eines organischen Pigments vorgestellt. An diesem Beispiel werden grundlegende Konzepte der Photodynamik erläutert und es wird gezeigt, wie eine kleine funktionelle Gruppe die Wechselwirkung des Pigments mit Licht maßgeblich beeinflusst und über wichtige photophysikalische und photochemische Eigenschaften entscheidet.

Will man allerdings die schnelle Dynamik von Systemen untersuchen, die naturgemäß nicht auf Licht reagieren, so muss die Reaktion entweder auf anderem, passendem Weg gestartet werden, oder die Probe artifiziell dem Experiment angepasst werden.

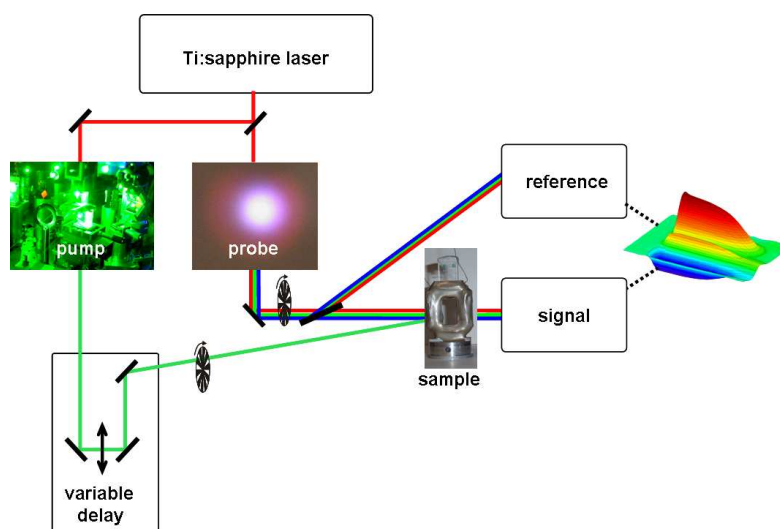
Ein Beispiel für die erstgenannte Variante ist der Einsatz von sog. 'Caged Compounds'. Es handelt sich hierbei um geschützte Funktionalitäten, die durch definiertes Entschützen eine Reaktion in Gang setzen. Mittels solcher Chemikalien können unter anderem schnell und lichtinduziert Cofaktoren freigesetzt oder pH-Sprünge erreicht werden. Als Nachteil sei die Irreversibilität dieser Prozesse genannt: Ein freigesetzter Reaktionspartner kann nicht wieder eingefangen werden.

Um eine lichtindifferente Probe photoschaltbar zu machen, ist ein geeigneter Mediator notwendig. Dieser muss der Probe und dem zu untersuchenden Prozess sorgfältig angepasst werden. Ein Teil dieser Arbeit befasst sich deswegen mit der Charakterisierung der Dynamik verschiedener Azobenzolderivate (siehe Kapitel 4). Azobenzol ist ein häufig verwendeter Photoschalter und die Frage, inwiefern geeignete Substitutionen die physikalischen Eigenschaften und die Dynamik beeinflussen, soll hier untersucht werden.

Durch den Einbau eines Photoschalters in eine Probe können sowohl funktionelle als auch strukturelle Studien ermöglicht werden. Von großem Interesse ist z.B. die Wechselwirkung von Proteinen mit Liganden. Hier kann durch lichtgesteuerte Konformationsänderungen eine Interaktion nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip unterbrochen oder gestartet werden. Auf dem Gebiet der Peptidfaltung konnte durch den Einbau von azobenzolbasierten Schaltern die Ausbildung von α -Helices und β -Faltblattstrukturen mit hoher Zeitauflösung untersucht werden. In Kapitel 5 wird gezeigt, wie dieses Konzept erweitert wurde, so dass die Entfaltung einer Tertiärstruktur in Echtzeit spektroskopisch zugänglich wird.

Kapitel 2

Grundlagen und Methoden



2.1 Das Anreg-Abtastexperiment

Anreg-Abtastexperimente sind mittlerweile geläufige Methoden zur Untersuchung von Prozessen mit einer Zeitauflösung im Femtosekundenbereich. Heute können komplette Spektrometer praktisch "messfertig" gekauft werden. Das Prinzip dieser Methode basiert auf der Anregung einer Probe durch einen kurzen Laserimpuls. Anschließend wird der Zustand der Probe zu verschiedenen Verzögerungszeiten abgefragt. Das hier verwendete und vorgestellte System basiert auf einem Titan:Saphir-Laser, der bei einer Zentralwellenlänge von 775 nm emittiert. Die Wellenlängenkonversion, sowie die Detektion und die Signalverarbeitung wurden in der Arbeitsgruppe zum Teil entwickelt und aufgebaut [60].

Der schematische Aufbau des Anreg-Abtastexperiments ist in Abbildung 2.1 gezeigt. Das Herzstück dieser Anlage ist der Femtosekundenlaser. Das emittierte Licht wird mittels eines Strahlteilers auf zwei Zweige aufgeteilt. Der eine Teil wird zur Erzeugung des Abtastlichts verwendet und durchläuft dazu noch genau ein konvertierendes Element, nämlich einen speziellen Kristall aus Saphir oder Kalziumfluorid, in welchem durch Fokussierung ein Weißlichtspektrum erzeugt wird, welches spektral breit ist. Der andere Teil durchläuft in der Regel eine ganze Kaskade optischer Elemente, die zur Erzeugung eines intensiven, kurzen und spektral schmalen Anregimpulses notwendig sind. Die Zeitauflösung des Experiments wird durch den Laufwegunterschied erreicht. Beide Strahlen werden in der Probe räumlich überlagert, allerdings wird der Anregimpuls über eine variable Verzögerungsstrecke zeitlich gegenüber dem Abtastimpuls versetzt. Ist der Weg des Anreglichtes zwei Mikrometer kürzer als der des Abtastlichts, wird die Probe etwa sechs Femtosekunden vor dem Messlichtimpuls angeregt.¹

Man erhält also die Information, wie sich die Absorption der Probe sechs Femtosekunden nach Auftreffen des Anregimpulses gegenüber der nicht angeregten Probe verändert hat. Durch längere Verzögerungsstrecken kann so ein Zeitfenster abgefragt werden, welches bei dem hier verwendeten Aufbau auf etwa 1,5 Nanosekunden beschränkt ist. Die zugehörige Wegdifferenz entspricht dann etwa 45 Zentimetern. Bei der hier angewandten referenzierten Methode wird das Abtastlicht geteilt, so dass eine Hälfte die Probe passiert, und die andere direkt in ein Spektrometer geleitet wird. Das Weißlicht wird sowohl im Referenz- als auch im Probenspektrometer auf 42 Photodioden abgebildet. Die spektrale Auflösung beträgt etwa 8 nm. So kann mit einem Experiment ein Wellenlängenintervall von ungefähr 340 nm parallel abgefragt werden.

Die Integration von zwei Choppern ermöglicht eine ständige Referenzierung, durch das abwechselnde Abblocken des Anreg- bzw. Abtastlichts, so dass drei Messungen unterschieden werden können: i) Anreg- und Abtastlicht passieren die Chopper, ii) nur das Anreglicht wird durchgelassen und iii) das Anreglicht wird geblockt, das Abtastlicht wird durchgelassen. Die daraus resultierende Datenverarbeitung wird in Kapitel 2.2 erläutert.

2.1.1 Der Ti:Saphir-Laser

Bei dem hier verwendeten gepulsten Titan-Saphir-Laser handelt es sich um einen Clark-MXR CPA 2001. Titan-Saphir bezeichnet lediglich den Kristall, der als aktives Medium im regenerativen Verstärker zum Einsatz kommt und steht für Ti^{3+} -dotiertes Aluminiumoxid (Al_2O_3). Die resultierende Wellenlänge sowie die Pulsdauer sind allerdings das Ergebnis einer Reihe komplexer Prozesse die genau aufeinander abgestimmt sein müssen. Das Gesamtsystem setzt sich aus dem Diodenlaser, einem Erbium-Glasfaseroszillator, einem Pulsstrecke, einem frequenzverdoppelten Neodym-YAG-Pumplaser, dem regenerativen Titan-Saphir Verstärker und einem Pulskompressor zusammen.

Der Erbium-Glasfaseroszillator wird von einem Diodenlaser (InGaAs-dotierter III-V-Halbleiter) gepumpt, der bei einer Wellenlänge von 980 nm emittiert. Dabei stellt der Erbium dotierte Teil der Faser

¹Die Zeitdifferenz Δt ergibt sich als Quotient aus Lichtgeschwindigkeit ($c=3 \cdot 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$) und Wegdifferenz Δs :

$$\Delta t = \frac{c}{\Delta s}$$

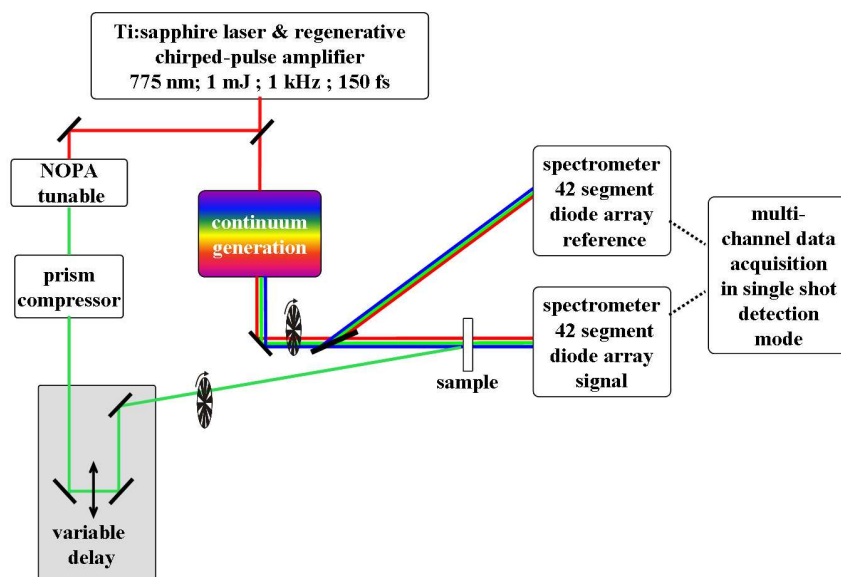


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des Anreg-Abtastexperiments. Der Laser emittiert Impulse bei einer Wellenlänge von 775 nm. Die Pulsenergie beträgt etwa 1 mJ bei einer Repetitionsrate von 1 kHz und 150 fs Pulslänge.

das aktive Lasermedium dar, während der undotierte Teil die auftretende Gruppengeschwindigkeitsdispersion wieder ausgleicht. Durch diese Technik wird eine hohe Stabilität gewährleistet, allerdings ist das System auf eine Wellenlänge fixiert. Aus dem Oszillator resultieren zeitlich kurze Impulse (100 fs) bei einer Wellenlänge von 1550 nm. Diese werden anschließend auf 775 nm frequenzverdoppelt. Um die Zerstörung folgender Optiken zu vermeiden, werden die Impulse aus dem Oszillator zunächst in einem Pulsstreckter auf etwa 200 ps verlängert und anschließend in den regenerativen Verstärker eingekoppelt.

Das Verstärkermedium ist der bereits erwähnte Titan-Saphir-Kristall. Dieser wird von einem frequenzverdoppelten Nd:YAG-Laser ($\lambda = 532$ nm) angeregt. Der Ti:Saphir-Laser beruht auf dem Prinzip der "chirped pulse amplification".² Der Impuls aus dem Oszillator wird eingekoppelt und nimmt die im Kristall deponierte Energie auf. Nach mehreren Umläufen wird der Impuls, der nun eine um etwa sechs Größenordnungen höhere Energie besitzt, über eine Kombination aus einer Pockelszelle und einem polarisationsabhängigen Strahlteiler ausgekoppelt.

Nach der Kompression der Impulse aus dem Verstärker in einem Gitterkompressor, emittiert das fs-Lasersystem Impulse bei einer festen Wellenlänge von 775 nm. Die Pulsenergie beträgt etwa $800 \mu\text{J}$ (800 mW) bei einer Repetitionsrate von 1 kHz und 150 fs Pulslänge.

2.1.2 Erzeugung von Anregungsimpulsen

Es gibt mehrere Varianten um Anregungsimpulse einer gewünschten Wellenlänge zu erzeugen. Durch eine Verdopplung oder Verdreifachung der Frequenz der Laserfundamentalen erhält man Impulse bei 387,5 nm, bzw. bei 258,3 nm. Wesentlich flexibler ist der nichtkollineare optisch parametrische Verstärker (NOPA). Dieser ist in einem Wellenlängenbereich von etwa 460 nm bis in den nahinfraroten Spektralbereich abstimmbare [93]. Eine weitere Möglichkeit sind Summen- und Differenzfrequenzmischen. Hierbei werden im NOPA erzeugte Impulse mit der Laserfundamentalen durch Mischprozesse

²Bei der Verstärkung gechirpter Impulse nutzt man den Chirp aus, um den Puls zunächst zu strecken. Dadurch treten geringere Intensitäten auf, die die Optiken schonen. Anschließend wird der Puls wieder komprimiert.

in geeigneten nichtlinearen Kristallen zu einer bestimmten Wellenlänge konvertiert. Summenfrequenzmischen in einem BBO-Kristall eröffnet so z.B. den spektralen Bereich zwischen 290 nm und 450 nm. Allen Methoden zur Erzeugung von Anregungsimpulsen, ausgehend von der Laserfundamentalen, liegen nichtlineare optische Prozesse zu Grunde, die erst bei hohen elektrischen Feldstärken ausreichend effizient werden.

Polarisation und elektrische Feldstärke

Bei der Wechselwirkung hoher elektrischer, polarisierter Felder mit Materie kommt es zu induzierten Feldern und Polarisierung, die ihrerseits auf das eingestrahlte Licht rückwirken [11]. Die elektrische Feldstärke als Funktion der Zeit $\vec{E}(t)$, in Abhängigkeit von der Frequenz ω kann geschrieben werden als

$$\vec{E}(t) = E \cdot e^{-i\omega t} + c \quad (2.1)$$

und induziert in einem Medium eine Polarisierung $\vec{P}(t)$, die sich ausgehend vom linearen Term $\vec{P}(t) = \chi^1 \vec{E}(t)$ in einer Reihe entwickeln lässt (Gl. 2.2).

$$\vec{P}(t) = \chi^1 \vec{E}(t) + \chi^2 \vec{E}^2(t) + \chi^3 \vec{E}^3(t) + \dots \quad (2.2)$$

Die χ -Terme werden als lineare Suszeptibilität (χ^1) bzw. nichtlineare Suszeptibilität zweiter (χ^2) und dritter (χ^3) Ordnung bezeichnet. Alle im Folgenden beschriebenen nichtlinearen Prozesse zur Erzeugung von Anregungsimpulsen durch parametrische Konversion basieren auf der Induktion polarisierter Felder in nichtlinearen Medien.

Die Energiekonversion einer Laserfrequenz ω_0 ist grundsätzlich an die Energieerhaltung Gl. (2.3) und die Impulserhaltung Gl. (2.4) gebunden.

$$\omega_0 = \sum_{i=1}^n \omega_i + \Delta E \quad (2.3)$$

Ein Photon der Energie ω_0 kann also in mehrere niederfrequente Photonen ω_i aufgespalten werden. Energieverluste, z.B. durch interne Konversion, sind im Term ΔE enthalten.

$$\vec{k}_0 = \sum_{i=1}^n \vec{k}_i \quad (2.4)$$

Die Summe der resultierenden Impulse \vec{k}_i muss dem initialen Laserimpuls \vec{k}_0 entsprechen.

Betrachtet man die Wechselwirkung zweier elektrischer Felder mit den Frequenzen ω_1 bzw. ω_2 in einem Medium, welches durch eine nichtlineare Suszeptibilität zweiter Ordnung gekennzeichnet ist, so führt dies zu einer nichtlinearen Polarisierung zweiter Ordnung. Mit einem elektrischen Feld

$$\vec{E}(t) = E_1 e^{-i\omega_1 t} + E_2 e^{-i\omega_2 t} + c \quad (2.5)$$

führt die Polarisierung zweiter Ordnung ($\vec{P}^2(t) = \chi^2 \vec{E}(t)^2$) zu Gl. (2.6):

$$\begin{aligned} \vec{P}^2(t) = & \chi^2 [E_1^2 e^{-2i\omega_1 t} + E_2^2 e^{-2i\omega_2 t} + 2E_1 E_2 e^{-i(\omega_1 + \omega_2)t} \\ & + 2E_1 E_2^* e^{-i(\omega_1 - \omega_2)t} + c] + 2\chi^2 [E_1 E_1^* + E_2 E_2^*] \end{aligned} \quad (2.6)$$

Gl. (2.6) enthält die Terme für die Frequenzverdopplung (SHG), das Summenfrequenzmischen (SFG), das Differenzfrequenzmischen (DFG) und die optische Rektifikation (OR)³:

³Die optische Rektifikation ist ein nichtlineares Phänomen zweiter Ordnung. Sie tritt durch den Term $\omega - \omega = 0$ auf und entspricht der Induktion eines statischen elektrischen Feldes im nichtlinearen Kristall.

$$\begin{aligned}
 P(2\omega_1) &= \chi^2 E_1^2 && \text{SHG} \\
 P(2\omega_2) &= \chi^2 E_2^2 && \text{SHG} \\
 P(\omega_1 + \omega_2) &= 2\chi^2 E_1 E_2 && \text{SFG} \\
 P(\omega_1 - \omega_2) &= 2\chi^2 E_1 E_2^* && \text{DFG} \\
 P(0) &= 2\chi^2 (E_1 E_1^* + E_2 E_2^*) && \text{OR}
 \end{aligned}$$

Die genannten Prozesse basieren also auf drei Frequenzen, die in einem nichtlinearen Medium miteinander wechselwirken. Die Selektion des gewünschten Prozesses geschieht praktisch durch Wahl des nichtlinearen Kristalls, des Winkels, der Polarisation und Abblocken der nicht benötigten Frequenzen.

Frequenzvervielfachung der Laserfundamentale

Die Verdopplung der Laserfundamentale in einem BBO-Kristall kommt bei allen hier beschriebenen Verfahren zur Erzeugung von Anregimpulsen vor. Die entstehenden Impulse haben eine Wellenlänge von 387,5 nm und können direkt zur Anregung der Probe verwendet werden. Die Polarisation des Lasers ist horizontal, die Polarisation der Frequenzverdoppelten Impulse ist vertikal.

Voraussetzung für diesen Prozess ist, dass die nichtlineare Suszeptibilität χ^2 des Konversionsmaterials nicht null ist.

Die Verdreifachung der Laserfrequenz (Abbildung 2.2) findet durch Summenfrequenzmischen der Laserfundamentale mit der verdoppelten Frequenz statt. Die Polarisation der beiden Strahlen muss gleich sein, so dass einer der beiden Strahlen um 90° gedreht werden muss. Dies erfolgt mittels eines Lambda-halbe Plättchens. In einem geeigneten BBO-Kristall werden dann die beiden Impulse räumlich und zeitlich überlagert.

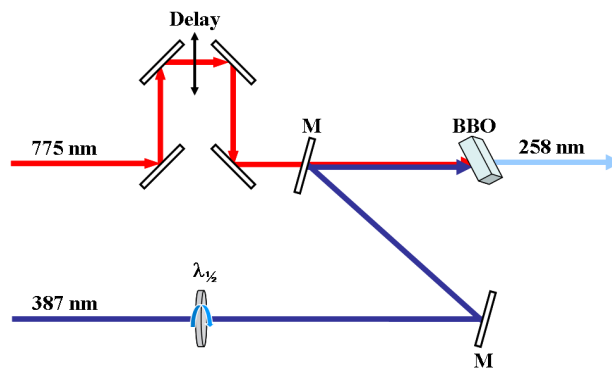


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der Frequenzverdreifachung.

Es resultieren Photonen mit der dreifachen Frequenz der Fundamentale, was einer Wellenlänge von 258 nm entspricht. Der verwendete BBO-Kristall hatte einen Schnittwinkel θ von $32,5^\circ$ ($\phi=0^\circ$), was eine Neigung des Kristalls erfordert, da der Mischprozess der beiden eingehenden Frequenzen unter einem Winkel von 46° abläuft.⁴

Die Frequenzverdreifachung ist ein Beispiel für das Summenfrequenzmischen (siehe unten). Details zur Erzeugung der zweiten und dritten Harmonischen, sowie zu den zu Grunde liegenden nichtlinearen Effekten und ihrer theoretischen Beschreibung finden sich in [62].

⁴Der erforderliche Winkel lässt sich mittels des SNLO-Programms von Smith [1] bestimmen. Der Winkel des Pumpstrahls Ψ welcher experimentell angepasst werden kann, steht über $\Psi \approx \frac{\Omega}{1 + \frac{\lambda_{idler}}{\lambda_{signal}}}$ mit dem Winkel Ω in Beziehung (vgl. Abbildung 2.4) [93].

Der Nichtkollineare optisch parametrische Verstärker

Die Erzeugung abstimbarer Laserimpulse erfolgt durch nichtkollineare parametrische Konversion. Dazu wird die Laserfundamentale mittels Strahlteiler in zwei Zweige aufgeteilt. Auf einer Seite wird durch Frequenzverdopplung das sog. Pumplicht generiert, auf der anderen Seite durch Fokussierung in Saphir ein Seed-Kontinuum. Schematisch ist der Aufbau in Abbildung 2.3 gezeigt. Aus der Anpassung dieser beiden Strahlen erhält man in einem aktiven Medium wie einem BBO-Kristall, Signalphotonen die in einem Spektralbereich von etwa 460 nm bis ins Nahinfrarote abstimbar sind.

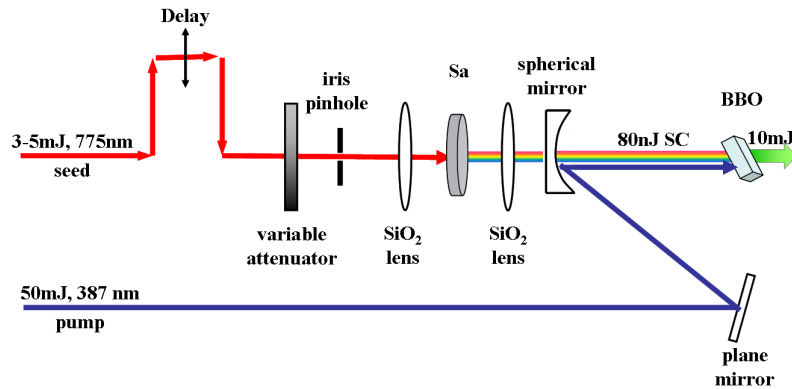


Abbildung 2.3: Schema des nichtkollinearen optisch parametrischen Verstärkers.

Die Phasenanpassung Gl. (2.4) kann für NOPA-Prozesse mit $i = 2$ und der entsprechenden Bezeichnung der beteiligten Strahlen nach Gl. (2.7) formuliert werden:

$$\Delta\vec{k} = \vec{k}_{pump} - \vec{k}_{signal} - \vec{k}_{idler} = 0 \quad (2.7)$$

Diese Bedingung wird durch passende Ausrichtung des doppelbrechenden Kristalls realisiert.

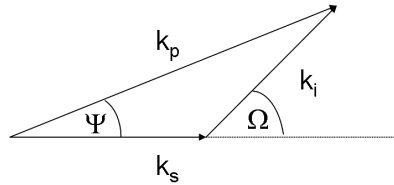


Abbildung 2.4: Definition der Winkel zwischen Pumpphotonen und Seedphotonen bei nichtkollinearer Anordnung.

Man kann nun zeigen [93], dass die Gruppengeschwindigkeiten von Signal- (\vec{v}_s^g) und Idlerwelle (\vec{v}_i^g) bei Erfüllung der Phasenanpassung nach $\vec{v}_s = \cos(\Omega) \cdot \vec{v}_i$ verknüpft sind. Die Projektion der Gruppengeschwindigkeit des Idlers auf den Wellenvektor des Signals entspricht der Gruppengeschwindigkeit des Signals.

Die spektrale Abstimbarkeit wird durch eine Verzögerungsstrecke im Pumpstrahlengang erreicht. Im spektral breiten Seedstrahl laufen aufgrund von Dispersion die Photonen unterschiedlicher Wellenlängen zeitlich leicht verzögert. Überlagert man nun den Pumpstrahl mit den frühen roten Frequenzen, resultieren verstärkte Signalimpulse im Roten. Verzögert man den Pumpstrahl, so wird der blaue Spektralbereich verstärkt. Diese breite Abstimbarkeit, die allein durch Anpassung der Verzögerungsstrecke, ohne Verkippung des nichtlinearen Kristalls, realisiert werden kann, begründet die Attraktivität

des NOPA-Prinzips zur Erzeugung von Anregungsimpulsen.

Das Spektrum eines NOPA-Impulses bei 480 nm ist in Abbildung 2.6 gezeigt. Für eine hohe Zeitauflösung muss dieser noch zeitlich komprimiert werden. Dies wurde mittels eines Prismenkompressors (siehe unten, Kapitel 2.1.2) umgesetzt. Ausführliche Beschreibungen des NOPA-Prinzips finden sich in [32, 93].

Summenfrequenzmischen

Beim Summenfrequenzmischen werden Photonen die im NOPA erzeugt wurden, mit der Laserfundamentalen in einem nichtlinearen Kristall überlagert. Nach der Formel

$$\frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} = \frac{1}{\lambda_{mix}} \quad (2.8)$$

errechnet sich die Wellenlänge der resultierenden Photonen λ_{mix} . Die Energie und die zeitliche Ausdehnung der resultierenden Pulse sind abhängig von der Wahl des nichtlinearen Kristalls und im Wesentlichen durch die Dicke und den Schnittwinkel beeinflussbar. Grundsätzlich sollte der Kristallwinkel der zu generierenden Wellenlänge angepasst werden, um ein zu starkes Verkippen zu vermeiden. Dickere Kristalle liefern zeitlich längere Pulse, aber auch höhere Pulsenergien als dünnere Kristalle [52].

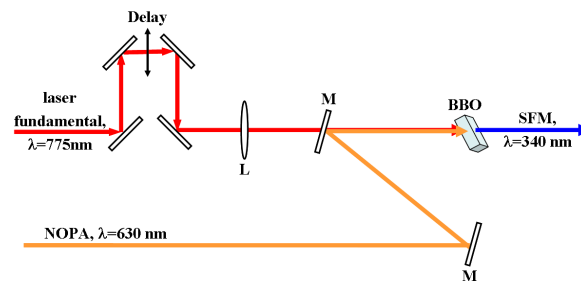


Abbildung 2.5: Schema des Summenfrequenz-Mischprozesses.

Die Methode findet vor allem dann Anwendung, wenn Anreglicht benötigt wird, das kurzwelliger ist als der durch den NOPA abgedeckte Bereich, also zwischen 300 nm und 450 nm. Die Abstimbarkeit des NOPA im sichtbaren Spektralbereich (460 nm bis 700 nm) führt zu Anregungslicht zwischen 290 nm und 350 nm. Der Bereich zwischen 350 nm und 450 nm kann durch Summenfrequenzmischung der Laserfundamentalen mit NIR-Impulsen aus dem NOPA erreicht werden. Durch den Mischprozess erhält man spektral schmale Pulse die zeitlich relativ lang sind. Eine Kompression dieser Pulse wurde nicht vorgenommen, da die Pulsenergien von etwa 40 nJ pro Puls zu gering waren. Für diese Arbeit wurde Anregungslicht mit einer Wellenlänge von 340 nm mittels Summenfrequenzmischen in einem BBO-Kristall erzeugt. Das Spektrum des resultierenden Pulses ist in Abbildung 2.6 gezeigt, die Pulsenergie lag im Bereich von 40 nJ.

Pulsverkürzung mittels Prismenkompressor

Die im NOPA erzeugten Impulse sind gechirpt. Durch Dispersion in Luft und optischen Materialien, laufen die enthaltenen Frequenzen leicht auseinander und verbreitern so den Puls. Man spricht von positivem Chirp, wenn die langwelligen Komponenten im Puls zeitlich vor den kurzwelligen laufen. Diesem Phänomen kann mittels Kompressoren, die eine negative Gruppengeschwindigkeitsdispersion

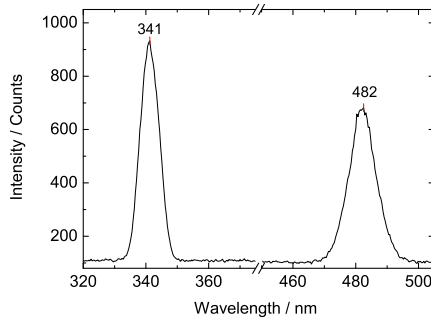


Abbildung 2.6: Spektren der verwendeten Anregungsimpulse bei 340 nm, erzeugt durch Summenfrequenzzischen und bei 480 nm erzeugt im NOPA.

(GVD) aufweisen, entgegengewirkt werden. Dabei haben sich vor allem Gitter- [106] und Prismenkompressoren [7, 29, 45] etabliert. Der schematische Aufbau eines Prismenkompressors ist in Abbildung 2.7 gezeigt. An einem Prisma werden die im Puls enthaltenen Frequenzen zunächst aufgespalten und durchlaufen nun unterschiedliche optische Weglängen durch weitere Prismen. In einem letzten Prisma werden die Frequenzen wieder vereinigt, so dass sie dort gleichzeitig austreten. Der Puls wird dadurch verkürzt. In Abbildung 2.7 sind insgesamt vier Prismen dargestellt. Der eigentliche Aufbau wurde mit zwei Prismen realisiert. Über zwei Spiegel, die 90° zueinander angeordnet sind, wird der Strahl hinter dem zweiten Prisma in seiner Höhe versetzt und durchläuft beide Prismen erneut, was der gezeigten vier-Prismen-Anordnung entspricht.

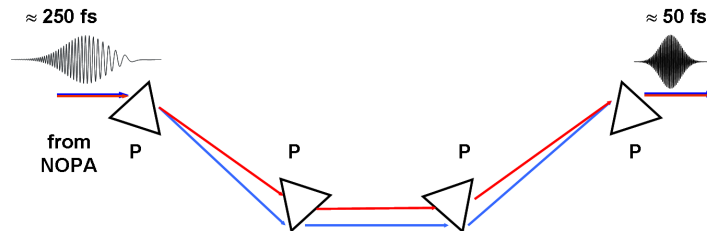


Abbildung 2.7: Der von links kommende Impuls wird durch den Prismenkompressor mit entgegengesetzter GVD komprimiert.

2.1.3 Weißlichterzeugung

Das Weißlichtkontinuum kann durch Fokussierung eines hochenergetischen ultrakurzen Laserimpulses in ein transparentes Medium generiert werden. Der Spektralbereich des Kontinuums ist abhängig vom Material und vom Laserimpuls und kann sich von Ultraviolett bis Infrarot erstrecken. Der Prozess wurde in den verschiedensten Materialien, in Gasen, Flüssigkeiten und Festkörpern beobachtet und von Alfano und Shapiro erstmals beschrieben [2].

Im Rahmen dieser Arbeit ist wurde das Weißlichtkontinuum in Kalziumfluorid oder Saphir erzeugt und als Abtast- sowie als Seedlicht verwendet. Verschiedene Prozesse werden als Ursachen für die Weißlichterzeugung diskutiert. Selbstphasenmodulation (SPM) assoziiert mit Selbstfokussierung werden als wichtigste Prozesse für die spektrale Verbreiterung angesehen, desweiteren spielen wahrscheinlich Phänomene wie Vier-Wellen-Mischprozesse, SPM aufgrund von Ionisierung und durch "self-steepening" ver-

stärkte SPM eine Rolle [75].

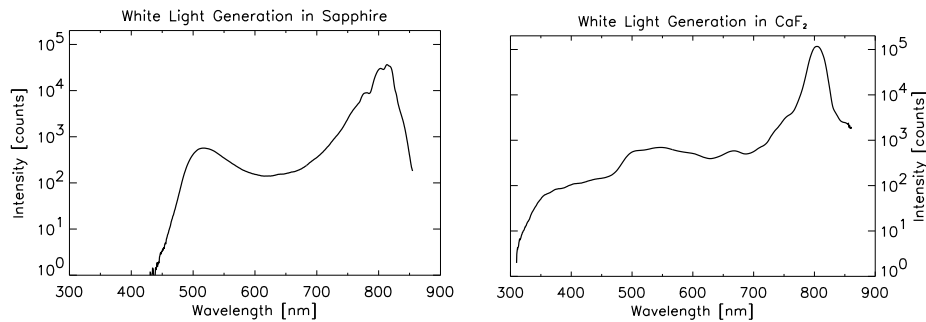


Abbildung 2.8: Vergleich der Weißlichtspektren von Saphir und CaF₂ (entnommen aus [100]).

Die Qualität des Spektrums aus den beiden Materialien Kalziumfluorid und Saphir ist sehr unterschiedlich, wie Abbildung 2.8 zeigt. Prinzipiell ist das Weißlichtspektrum von Kalziumfluorid spektral etwas breiter und erstreckt sich weiter in den blauen Spektralbereich. Da das Material aber empfindlicher ist, muss das Fenster während der Messung bewegt werden. Dies kann durch Rotation oder durch vertikale und horizontale Verschiebung geschehen. Die Planparallelität muss extrem hoch sein, da schon geringe Abweichungen des Fokus im Material zu Schwankungen im Spektrum führen. Die Lebensdauer des Materials beträgt einige Tage. Saphirweißlicht ist wesentlich langzeitstabiler und die Kristalle müssen nicht bewegt werden, was das Rauschen stark verringert. Die Lebensdauer liegt im Bereich von vielen Monaten.

2.2 Datenerfassung und -verarbeitung

Mit dem beschriebenen Aufbau ist die simultane Erfassung von 96 Kanälen möglich. Dabei werden 42 Kanäle als Probenkanäle verwendet und ebenso viele als Referenzkanäle. Mit den übrigen können zum Beispiel Photodioden abgefragt werden. Zur referenzierten Messung wird das Abtastlicht mittels eines Strahlteilers in zwei Äste aufgespalten. Der Referenzstrahl passiert nicht die Probe sondern wird direkt auf den Referenzdetektor fokussiert. Der andere Teil wird als Probenstrahl zunächst durch die Probe und dann auf den Probendetektor geleitet. Die auf die Detektorelemente auftreffenden Photonen werden in eine Ladung übersetzt die der Anzahl der auftreffenden Photonen direkt proportional ist. Die beiden unverarbeiteten Signale von Probe und Referenz werden mit $N(\lambda)_{sig,uncorr}$ und $N(\lambda)_{ref,uncorr}$ bezeichnet. Diese werden zunächst um den Dunkelstrom⁵ (dark) korrigiert (Gl. (2.9)) und ergeben so das Proben- ($N(\lambda)_{sig}$) und Referenzsignal ($N(\lambda)_{ref}$):

$$\begin{aligned} N(\lambda)_{sig} &= N(\lambda)_{sig,uncorr} - N(\lambda)_{sig,dark} \\ N(\lambda)_{ref} &= N(\lambda)_{ref,uncorr} - N(\lambda)_{ref,dark} \end{aligned} \quad (2.9)$$

Die Absorption kann nicht direkt aus dem Verhältnis von $N(\lambda)_{sig}$ und $N(\lambda)_{ref}$ berechnet werden, da die beiden Größen vom Aufteilungsverhältnis abhängen, welches nicht für alle Frequenzen identisch ist. Außerdem sind die Effekte bis zu fünf Größenordnungen kleiner als die Extinktion der Probe. Zur Fehlerminimierung wird deswegen nicht die absolute Absorption sondern die Absorptionsänderung $\Delta A(\lambda)$ gemessen, Gl. (2.10). Dabei wird das Verhältnis von angeregter Probe $N(\lambda)_{sig,exc}$ zu unangeregter Probe $N(\lambda)_{sig,nonexc}$ bestimmt und die entsprechende Referenzmessung, für die ebenfalls einmal angeregt $N(\lambda)_{ref,exc}$ und einmal nicht angeregt $N(\lambda)_{ref,nonexc}$ wird, subtrahiert.

$$\Delta A(\lambda) = -\log_{10} \left(\frac{N(\lambda)_{sig,exc} \cdot N(\lambda)_{ref,nonexc}}{N(\lambda)_{ref,exc} \cdot N(\lambda)_{sig,nonexc}} \right) \quad (2.10)$$

Die Integration von zwei Choppern in den Aufbau ermöglicht eine Auflösung von Absorptionsänderungen in der Größenordnung von $\Delta A < 1 \cdot 10^{-4}$ und der Kompensation von Stabilitätsschwankungen. Diese Erweiterung der referenzierten Messmethode geht auf die Arbeit von M. Lenz [60] zurück. Das Verhältnis von $N(\lambda)_{sig}$ und $N(\lambda)_{ref}$ wird bei jedem dritten Laserimpuls für die unangeregte Probe neu bestimmt, indem der Pumpstrahl geblockt (block) wird. Die Signale bei geblocktem Anregungslicht für Probe $N(\lambda)_{sig,block}$ und Referenz $N(\lambda)_{ref,block}$ werden analog zu Gl. (2.9) erhalten:

$$\begin{aligned} N(\lambda)_{sig,block} &= N(\lambda)_{sig,block,uncorr} - N(\lambda)_{sig,dark} \\ N(\lambda)_{ref,block} &= N(\lambda)_{ref,block,uncorr} - N(\lambda)_{ref,dark} \end{aligned} \quad (2.11)$$

Blockiert man in gleicher Weise den Abtaststrahl anstelle des Pumpstrahls, so kann der Streulichtanteil gemessen und die Signale um diesen korrigiert werden.

Die Datenerfassung setzt sich also insgesamt aus drei Messungen zusammen, die jeweils im Proben-, wie auch im Referenzspektrometer erfasst werden:

1. Nur Abtastlicht passiert die Probe, das Pumplicht wird abgeblockt ($N(\lambda)_{sig,block}$, $N(\lambda)_{ref,block}$).
2. Die Probe wird angeregt und abgetastet ($N(\lambda)_{sig}$, $N(\lambda)_{ref}$).
3. Zur Erfassung des Streulichtanteils (scat) wird das Pumplicht durchgelassen, während das Abtastlicht geblockt wird ($N(\lambda)_{sig,scat}$, $N(\lambda)_{ref,scat}$).

⁵Als Dunkelstrom wird das detektierte Signal bei abgeblocktem Licht bezeichnet.

Die Absorptionsänderung der Probe ergibt sich dann nach Gl. (2.12).

$$\Delta A(\lambda) = -\log_{10} \left[\left(\frac{N(\lambda)_{sig} - N(\lambda)_{sig,scat}}{N(\lambda)_{ref} - N(\lambda)_{ref,scat}} \right) \cdot \frac{N(\lambda)_{ref,block}}{N(\lambda)_{sig,block}} \right] \quad (2.12)$$

Die nach Gl. (2.12) erhaltene Absorptionsänderung wird bei verschiedenen Verzögerungszeiten t gemessen, die durch das Verlängern der Wegstrecke des Pumpstrahls realisiert werden. Die maximale Verzögerungszeit ist durch die Länge der Verzögerungsstrecke gegeben und beträgt bei dem verwendeten Aufbau 1,5 ns, was einer Weglänge von 45 cm entspricht. Um die Messzeit und die Datenmenge zu reduzieren, wird nur der Zeitbereich linear abgetastet, in dem sich schnelle Dynamiken abspielen. Das folgende Zeitfenster wird in exponentiellen Schritten abgetastet. Wenn nicht anders angegeben, besteht eine Transiente aus einhundert Messpunkten, von denen die ersten fünfzig linear zwischen minus einer und einer Pikosekunde, die folgenden fünfzig exponentiell zwischen einer Pikosekunde und eineinhalb Nanosekunden verteilt sind.

Zur Optimierung des Signal-Rausch-Verhältnisses wird eine bestimmte Anzahl von Laserschüssen (1000 im Falle der vorgestellten Experimente) gemittelt.

2.2.1 Auswertung der Messdaten

Korrekturen

Die nach Gl. (2.12) erhaltenen Messpunkte bei verschiedenen Verzögerungszeiten setzen sich zu den sogenannten 'Transienten' zusammen, zeigen also die transiente Absorptionsänderung ΔA der Probe als Funktion der Zeit t bei einer bestimmten Wellenlänge λ ($\Delta A(\lambda, t)$). Diese werden auf 42 Kanälen gemessen, die eine spektrale Auflösung von etwa 8 nm haben und somit ein Fenster von circa 340 nm in einer einzigen Messung zugänglich machen. Um aus diesen Daten auf die Dynamik eines Systems rückschließen zu können bedarf es einiger Korrekturen, die zusammen mit der verwendeten graphischen Nutzeroberfläche detailliert in [39] beschrieben wurden.

1. *Mittelung von Messungen*

Abhängig vom Signal-Rausch-Verhältnis sind einige wenige bis sehr viele Wiederholungen der Messung von $\Delta A(\lambda, t)$ notwendig, um das Rauschen durch Mittelung zu verringern.

2. *Korrektur des zeitlichen Nullpunkts*

Aufgrund der Dispersion, folgt der Zeitnullpunkt als Funktion der Wellenlänge einer Funktion, die von den verschiedenen Medien abhängt, die das Licht passiert. Bei dieser Korrektur wird der Zeitnullpunkt der einzelnen Kanäle von Hand korrigiert und die erhaltene Dispersionskurve anschließend angepasst [51].

3. *Beseitigung des kohärenten Artefakts (Lösungsmittelkorrektur)*

Das Lösungsmittel zeigt meistens kurzlebige Signale, die auf den kurzwelligen Kanälen stärker ausgeprägt sind, als auf den langwelligen. Nach Kovalenko et al. [65] können diese Beiträge vom eigentlichen Probensignal subtrahiert werden.

Datenanalyse

Die aus den Anreg-Abtastexperimenten erhaltenen Transienten wurden alle mittels globaler Datenanpassung ausgewertet. Dabei wird davon ausgegangen, dass keine Mehrfachanregung stattfindet und dass sich die Dynamik durch eine Summe exponentieller Zerfälle, gefaltet mit der Apparatefunktion, beschreiben lässt. Ersteres lässt sich durch geringe Anregungsenergien und die Bewegung der Probe realisieren. Die mathematische Beschreibung der Messdaten erfolgt unter oben genannter Annahme, nach Gl. (2.13).

$$\Delta A(\lambda, t) = \sum_{i=1}^n a_{i,\lambda}(\tau_i) \cdot \exp\left(\frac{t_{cc,\lambda}^2}{4\tau_i^2} - \frac{t - t_{0,\lambda}}{\tau_i}\right) \cdot \frac{1 + \operatorname{erf}\left(\frac{t - t_{0,\lambda}}{t_{cc,\lambda}} - \frac{t_{cc,\lambda}}{2\tau_i}\right)}{2} \quad (2.13)$$

Dabei entspricht der Laufparameter n der Anzahl an exponentiellen Zerfällen, die jeweils durch eine Amplitude $a_{i,\lambda}(\tau_i)$ und eine Zerfallszeit τ_i charakterisiert sind. Die Kreuzkorrelationsbreite sowie die Verzögerungszeit t_i , die um den wellenlängenabhängigen Nullpunkt $t_{0,\lambda}$ korrigiert wird, werden in den Exponentialfunktionen berücksichtigt, die mit der Fehlerfunktion erf ⁶ gefaltet werden.

Gl. (2.13) wird an alle Transienten der verschiedenen Messkanäle (Wellenlängen) gleichzeitig angepasst. Eine transiente Absorptionsänderung wird also durch eine Summe exponentieller Zerfälle mit ihren jeweiligen Amplituden angepasst. Die Aufzeichnung der Amplituden einer Zeitkonstante τ_i , als Funktion der Wellenlänge, wird als Zerfallsassoziertes Spektrum (DAS von "Decay Associated Spectrum") bezeichnet und gibt Aufschluss darüber, welche Zerfallszeiten auf welchen Kanälen dominieren. Die globale Fitanalyse wird so durchgeführt, dass die Anzahl der benötigten Zerfälle abgeschätzt wird. Grundsätzlich werden die Daten mit zunehmender Anzahl an exponentiellen Zerfällen besser reproduziert, allerdings wird die Anpassung dadurch nicht unbedingt physikalisch sinnvoller. Eine Überbestimmung des Systems ist i.d.R. durch Zerfallsassozierte Spektren mit sehr großen Amplituden gekennzeichnet, die für zwei Zerfallszeiten spiegelsymmetrisch sind, sowie durch eine sich kaum verringende Fehlerquadratsumme.

Ein allgemeingültiges Verfahren zur Wahl der Anzahl der Zerfallszeiten gibt es nicht, allerdings Hilfsmittel, wie z.B. die Singularwertzerlegung [94], die richtungweisend sein können. Zu beachten ist, dass einige Effekte, die die eigentliche Dynamik überlagern, wie z.B. das spektrale Schieben von Absorptionsbanden nicht durch einen exponentiellen Zerfall angepasst werden können. Dennoch stellt die globale Datenanpassung ein wesentliches Hilfsmittel bei der Entwicklung von Reaktionsmodellen dar.

2.2.2 Darstellung der Messdaten

Gemessen wird die Absorptionsänderung in der Probe als Funktion der Zeit. Diese Auftragung der Messpunkte bei einer Wellenlänge wird als Transiente bezeichnet und meist in der in Abbildung 2.9, unten gezeigten Form dargestellt, bei der der Zeitbereich zwischen minus einer und einer Pikosekunde linear aufgetragen wird, der Bereich danach logarithmisch.

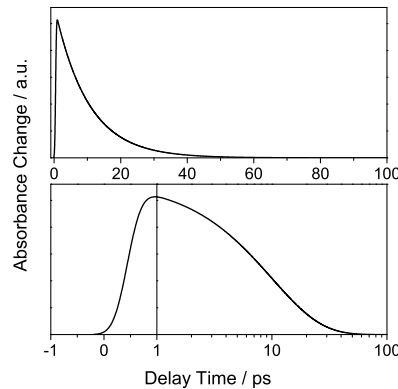


Abbildung 2.9: Darstellung einer Transiente mit linearer (oben) und linear-logarithmischer Zeitachse (unten).

⁶Die Fehlerfunktion trägt dem Anstieg der Transienten Rechnung: $\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_{-\infty}^x \exp(-t^2) dt$

Bei einer Messung werden simultan 42 Kanäle aufgezeichnet, die jeweils einer Wellenlänge im Abstand von etwa 8 nm entsprechen. Will man die gesamte Information in einem Spektrum darstellen, so eignet sich am besten eine sog. 2d- bzw. 3d-Graphik. Bei der 2d-Graphik wird die Wellenlänge (y-Achse) als Funktion der Zeit (x-Achse) aufgetragen. Die Absorptionsänderung wird in diese Ebene projiziert und farbcodiert. Bei der 3d-Graphik wird zusätzlich auf der z-Achse die Intensität angegeben und zusätzlich farbcodiert. Für alle hier gezeigten Messungen gilt der in Abbildung 2.10 dargestellte Farbcode, bei dem das Minimum violett, das Maximum dunkelrot und keine Absorptionsänderung hellgrün gefärbt ist. An dieser Stelle sei erwähnt, dass diese Codierung nicht äquidistant vorgenommen wird und somit eine 2d/3d-Graphik nicht anhand der Farben in absolute Absorptionsänderungen transformiert werden kann. Um die Absorptionsänderung des gesamten Spektralbereichs zu bestimmten Verzögerungszeiten τ_D zu zeigen, kann entlang der x-Achse geschnitten werden. Man erhält sog. transiente Spektren.



Abbildung 2.10: Farbcode für 2d- und 3d-Graphiken. Grundsätzlich werden die Farben so angepasst, dass das Minimum der Absorptionsänderung violett dargestellt ist, das Maximum dunkelrot und keine Absorptionsänderung hellgrün.

2.2.3 Probenbereich

Temperierbare Küvette

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Küvettenhalterung konstruiert, mittels derer Messungen bei verschiedenen Temperaturen im Bereich von Raumtemperatur bis etwa 100°C möglich sind. Dazu wurde eine Aluminiumhalterung mit Widerstandsdraht ($d=0,25$ mm, $R=10$ Ohm) umwickelt. Um eine möglichst gute Temperaturübertragung auf die Halterung zu gewährleisten wurde der Draht mit Thermokleber ummantelt. Die auch für andere Messungen verwendeten Küvetten mit einem Millimeter Schichtdicke können in die Halterung eingebracht werden. Durch Montage der Küvettenhalterung auf eine Spiegelhalterung konnte das bereits vorgestellte Messprinzip mit Bewegung der Küvette in x- und y-Richtung beibehalten werden. Durch Einstellen einer festen Spannung wird nach thermischer Äquilibration eine konstante Temperatur im Inneren der Küvette erreicht.

Statische Belichtung während der Messung

Mit der unten beschriebenen Kombination (Kapitel 2.3.1) aus einer Quecksilber-Xenon-Lampe und Glasfiltern, war es möglich ein photostationäres Gleichgewicht der schaltbaren Proben für die zeitaufgelösten Messungen einzustellen und konstant zu halten. Die Proben wurden etwa dreißig Minuten lang vor Beginn der Messung belichtet, sowie während des gesamten Messzeitraums.

2.3 Statische Charakterisierung und Belichtung

Die statische Charakterisierung der Proben gehört zur Routine und soll hier nur kurz erwähnt werden. Je nach System und angewandeter zeitaufgelöster Methode wurden statische Absorptionsmessungen im UV/Vis-Bereich bzw. im mittleren IR durchgeführt. Zur Untersuchung von Tertiärstrukturmotiven wurden zusätzlich auch Zirkulardichroismus (CD)- Messungen durchgeführt.

2.3.1 UV-Vis Absorptionsspektroskopie und kontinuierliche Belichtung

Alle in dieser Arbeit vorgestellten Absorptionsmessungen wurden wahlweise mit einem JASCO (V 670, Zweistrahlenspektrometer mit Peltier JASCO-ETC-717) oder Analytic-Jena Spektrometer (Specord S 100, Einstrahlenspektrometer) vorgenommen.

Für die statische Belichtung von Proben wurde eine Quecksilber-Xenon-Lampe des Typs LC-8 von Hamamatsu verwendet, deren Spektrum in Abbildung 2.11 (A) gezeigt ist. Um das Spektrum auf den gewünschten spektralen Bereich zu reduzieren wurde Glasfilter der Firma Schott verwendet, die in einem Wasserbad gekühlt wurden. Im Rahmen dieser Arbeit waren vor allem die Wellenlängenbereiche der Absorptionsbanden von Azobenzol von Interesse, die in Abbildung 2.11 (D) gezeigt sind. Dafür wurden die Filterkombinationen UG1+WG320, sowie BG3+GG420 verwendet. Das Lampenspektrum hinter diesen Filterkombinationen ist in B, bzw. C abgebildet.

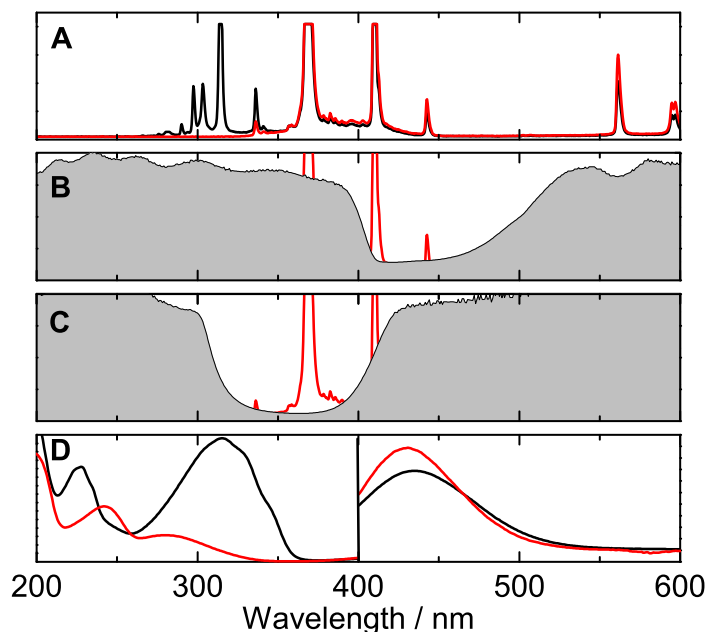


Abbildung 2.11: A: Lampenspektrum mit (rot) und ohne Wasserbad (schwarz); B: Lampenspektrum hinter der Filterkombination GG420+BG3; C: mit Filterkombination WG320+UG1; D: Azobenzolabsorption des trans- (schwarz) und cis-Isomers (rot).

2.3.2 FTIR-Spektroskopie

Das verwendete FTIR-Spektrometer war ein Vector 22 der Firma Bruker. Es ist mit einem motorisierten Probenschlitten ausgestattet, welcher das Verfahren von Probe und Referenz in den Strahlengang

ermöglicht, ohne dass das Spektrometer geöffnet werden muss. Die Probenhalterungen sind thermostatisierbar. Ein Belichtungsmodul wurde so installiert, dass die Probe in der Referenzposition belichtet werden kann. Zur Messung wird die Probe dann aus der Referenzposition herausgefahren und in den Strahlengang gebracht. Während der Messung erfolgt keine Belichtung der Probe.

Automatisierter Temperaturlauf

Bei einem automatisierten Temperaturlauf wird die Probe in einem wählbaren Temperaturbereich mit definierter Schrittweite erwärmt. Ein interner Fühler fragt die Temperatur am Probenhalter ab, die um einige Grad von der Wasserbadtemperatur abweichen kann. Mit diesem System wird auch die Temperaturstabilität geprüft. Die Temperatur vor bzw. nach der Messung muss in einem bestimmten Toleranzintervall liegen, ansonsten wird die Messung wiederholt. Der Ablauf ist im Folgenden skizziert.

- Start- (T_{Start}), Maximal- (T_{Max}) und Endtemperatur (T_{Ende}) werden gewählt, ebenso die Schrittweite ΔT , die Anzahl der Wiederholungen des Temperaturlaufs und das Toleranzintervall ($\Delta\Delta T$).
- Das Wasserbad wird zunächst auf die gewählte Starttemperatur gebracht.
- Ist diese erreicht, wird die Temperatur am Probenhalter ausgelesen und in eine Textdatei geschrieben.
- Ein Referenzspektrum $R(T)$ des leeren Probenraums wird aufgezeichnet.
- Anschließend wird die Probe in die Messposition gefahren und das Spektrum $S(T)$ gemessen.
- Die Temperatur wird erneut abgefragt. Ist $|T_{vorher} - T_{nachher}| > \Delta\Delta T$, wird die Messung wiederholt.
- Ist $|T_{vorher} - T_{nachher}| \leq \Delta\Delta T$, wird $T_{nachher}$ ebenfalls herausgeschrieben und die nächste Temperatur $T + \Delta T$ wird eingestellt.
- Ist (T_{Max}) erreicht, so wird die Probe entweder langsam wieder abgekühlt unter Aufzeichnung der entsprechenden Spektren (dies ist der Fall wenn $T_{Start} = T_{Ende}$) oder ohne weitere Messungen wieder abgekühlt.

2.3.3 Zirkulardichroismus

Zirkulardichroismus (CD) beruht auf der unterschiedlichen Absorption von links- bzw. rechtspolarisiertem Licht durch chirale Proben. Linear polarisiertes Licht, welches aus einer rechts- und einer linkszirkular polarisierten Komponente zusammengesetzt ist, wird nach dem Durchgang durch eine optisch aktive Probe zu elliptisch polarisiertem Licht, wenn sich die Absorptionskoeffizienten von links- (ϵ_l) bzw. rechtspolarisiertem Licht (ϵ_r) unterscheiden. Der Unterschied $\Delta\epsilon$ wird spektrometerintern in die Elliptizität θ umgerechnet. Der Winkel θ wird in Milligrad (mdeg) als Funktion der Wellenlängen bzw. bei Temperaturscans als Funktion der Temperatur bei einer festen Wellenlänge aufgezeichnet. Normalerweise wird nicht θ sondern die MRE (molar residue ellipticity) $[\theta]$ angegeben. Die Umrechnung ist in Gl. (2.14) gezeigt.

$$[\theta] = \frac{\Theta \cdot m}{10 \cdot c \cdot l \cdot n_r} \quad (2.14)$$

Hierbei ist m die molare Masse (in g/mol), c die Konzentration (in g/l), l die Schichtdicke der Probe in cm und n_r die Anzahl von Aminosäureresten der Probenmoleküle.

Die Methode ist empfindlich für optisch aktive Proben und wird zur Untersuchung von Peptiden und Proteinen herangezogen, da Sekundärstrukturelemente wie die α -Helix, das β -Faltblatt, die Kollagen-Tripelhelix und andere, charakteristische Signale bei Zirkulardichroismusmessungen aufweisen. Die

gemessenen Elliptizitäten erlauben so Rückschlüsse auf die Konformation der untersuchten Proben. Wird das CD-Signal als Funktion der Temperatur bei einer festen Wellenlänge gemessen, so erhält man charakteristische Schmelzkurven, aus denen neben der Schmelztemperatur auch probenspezifische thermodynamische Größen wie die Freie Energie, die Enthalpie oder die Entropie abgeleitet werden können.

Die Messungen wurden mit einem J-810 der Firma JASCO durchgeführt. Die Temperierung der Probe erfolgte mittels eines Peltier-Elements. Die typischen Messparameter sind in Tabelle 2.1 angegeben.

Probe	Probenkonzentration Schichtdicke Füllvolumen	50-250 μM 0,2 mm 40 - 60 μL
Einstellungen	Scanrate Auflösung Aufheizzeit Temperaturbereich	100 nm/Min. 0,1 nm 1°C/Min. 3-90°C

Tabelle 2.1: Zusammenfassung der Messparameter für CD-Experimente

Auswertung der CD-Daten von Kollagenproben

Im Rahmen dieser Arbeit wurden lediglich an der Azokollagenprobe Zirkulardichroismusmessungen vorgenommen. Typisch für die tripelhelikale Struktur ist ein Maximum bei 225 nm. Mit zunehmender Temperatur verringert sich dieses Maximum und zeigt damit das Schmelzen der Tripelhelix an. Unter der Annahme, dass zu Beginn der Messung ausschließlich gefaltete Probe vorliegt und am Ende ausschließlich ungefaltete Probe, ergibt sich der Anteil F an gefaltetem Kollagen bei einer Temperatur T aus Gl. (2.15).

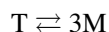
$$F = \frac{[\Theta]_T - [\Theta]_{\text{unfolded}}}{[\Theta]_{\text{folded}} - [\Theta]_{\text{unfolded}}} \quad (2.15)$$

Die Auswertung der Schmelzkurven zur Abschätzung thermodynamischer Größen wird in Kapitel 5.3.1 an den gemessenen Daten vorgenommen. Hier sollen zwei Methoden vorgestellt werden, die herangezogen werden können, um aus den temperaturabhängigen CD-Messungen thermodynamische Größen, die charakteristisch für die jeweilige Probe sind, zu erhalten. Die erste Methode wird als "Arrhenius-analoge" Auswertung bezeichnet und basiert auf der Auftragung des natürlichen Logarithmus der Gleichgewichtskonstante über der inversen Temperatur. Eine andere Methode, mittels derer Schmelzkurven ausgewertet werden können, ist die gleichzeitige Anpassung der Schmelzkurve und ihrer ersten Ableitung.

i) Arrhenius-analoge Auswertung anhand des Verhältnisses von gefaltetem zu ungefaltetem Peptid

Eine gängige Methode zur Auswertung von CD-Schmelzkurven ist eine Arrhenius-analoge Auftragung des Anteils an entfaltetem (bzw. gefaltetem) Protein über der reziproken Temperatur [16,24,33,82,111]. Dieser Methode liegen die folgenden Annahmen zu Grunde:

- Die Tripelhelix geht beim Entfalten in drei Einzelhelices über



- Das CD-Signal bei 225 nm ist direkt proportional zum Anteil an gefaltetem Kollagen. Ungefaltetes Kollagen liefert keinen Beitrag zu diesem Signal.
- Die Konzentration c_0 ist die anfänglich eingewogene Probenmenge (m) im entsprechenden Volumen (V), und entspricht der Monomerkonzentration $c_M = [M]$. Für die Konzentration während des Schmelzens $c(T)$ gilt, dass die Konzentrationen von Monomer $[M]$ und Trimer $[T]$ stets die Gesamtkonzentration bilden, also keine anderen Spezies oder Degradationsprodukte auftreten.

$$c(T) = [T] \cdot 3 + [M] = c_0 \quad (2.16)$$

Ausgehend von der CD-Schmelzkurve, die bei einer charakteristischen Wellenlänge⁷ aufgezeichnet wurde, wird der Anteil F an gefaltetem zu ungefaltetem Protein nach Gl. (2.15) bestimmt (Abbildung 2.12). Befinden sich die Konzentrationen von Trimer $[T]$ und Monomer $[M]$ im thermodynamischen Gleichgewicht, so bildet ihr Verhältnis die Gleichgewichtskonstante K_{eq} (Gl. 2.17). Das Intensitätsmaximum wird mit dem Zustand "vollständig tripelhelikal" gleichgesetzt. Geht das Signal für den vollständig entfalteten Zustand auf Null zurück, kann der Anteil an gefaltetem Kollagen (F) nach Gl. (2.15) aus $\frac{\Theta_T}{\Theta_{Max}}$ berechnet werden und kann Werte zwischen null und eins annehmen, so dass ausgehend von der Schmelzkurve, die Gleichgewichtskonstante K_{eq} für jedes Verhältnis, nach Gleichung 2.17 bestimmt ist.

$$K_{eq} = \frac{[T]}{[M]^3} = \frac{F}{3 \cdot c_0^2 \cdot (1 - F)^3} \quad (2.17)$$

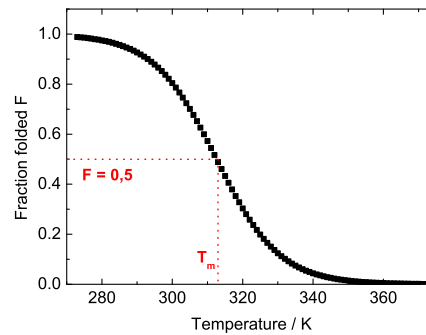


Abbildung 2.12: Auftragung des Anteils an gefaltetem Kollagen nach Gl. (2.15) als Funktion der Temperatur. Die Schmelztemperatur (T_m) wird für $F=0,5$ abgelesen.

Die Schmelztemperatur T_m wird am Punkt $F=0,5$ abgelesen [16, 24]. Die Ermittlung der Freien Energie ΔG° , der Entropie ΔS° und der Enthalpie ΔH° erfolgt ausgehend von Gl. (2.18).

$$\Delta G^\circ = -R \cdot T \cdot \ln(K_{eq}) = \Delta H^\circ - T \cdot \Delta S^\circ \quad (2.18)$$

Bei der Temperatur $T = T_m$ ist die Hälfte der Probe entfaltet ($F = 0,5$) und die Gleichgewichtskonstante K_{eq} ist an diesem Punkt nach Gl. (2.17) $K_{eq} = \frac{1}{0,75 \cdot c_0^2}$. Setzt man diesen Ausdruck in Gleichung 2.18 ein, so erhält man einen Ausdruck für die Entropie ΔS° bei der Schmelztemperatur (Gl. 2.19 bzw. Gl. 2.20).

$$T_m = \frac{\Delta H^\circ}{\Delta S^\circ + R \cdot \ln(0,75 \cdot c_0^2)} \quad (2.19)$$

⁷Für die tripelhelikale Struktur ist dies der gemessene Winkel Θ bei 225 nm.

$$\Delta S^\circ = \frac{\Delta H^\circ - T_m \cdot R \cdot \ln(0,75 \cdot c_0^2)}{T_m} \quad (2.20)$$

Setzt man ΔS° (Gl. 2.20) in dieser Form in Gl. (2.18) ein, so kann die Enthalpie ΔH° direkt mit der Gleichgewichtskonstante korreliert werden:

$$K_{eq} = \exp \left[\frac{\Delta H^\circ}{R} \cdot \frac{1}{T} \cdot \left(\frac{T}{T_m} - 1 \right) - \ln(0,75 \cdot c_0^2) \right] \quad (2.21)$$

Logarithmiert man Gl. (2.21), so ergibt sich ein linearer Zusammenhang (Gl. 2.22) zwischen $\ln(K)$ und $\left(\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T}\right)$. Allerdings weichen die Werte an den Rändern des Messbereichs vom linearen Verhalten ab, so dass nur Werte in der Nähe der Schmelztemperatur berücksichtigt werden sollten. Die Auftragung, sowie die lineare Regression sind in Abbildung 2.13 gezeigt. Hier sieht man die Schwachstelle dieser Methode deutlich: Das Ergebnis der linearen Regression hängt davon ab, welcher Temperaturbereich berücksichtigt wurde.

$$\ln(K_{eq}) = \frac{\Delta H^\circ}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T} \right) - \ln(0,75 \cdot c_0^2) \quad (2.22)$$

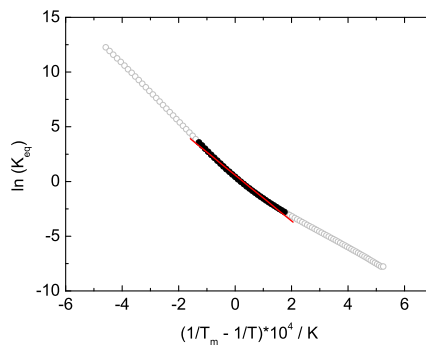


Abbildung 2.13: Auftragung von $\ln(K)$ als Funktion der Temperatur. Die Kurve ist nur in der Nähe des Schmelzpunktes (T_m) (schwarze Kreise) linear. Für die lineare Anpassung (rote Linie) wurden daher nur wenige Datenpunkte um T_m verwendet.

Aus der Steigung m der angepassten Gerade (2.23) geht ΔH° mit $\Delta H^\circ = m \cdot R$ direkt hervor. ΔS° wird dann aus Gl. (2.20) ermittelt. ΔG° kann dann mittels Gl. (2.18) berechnet werden.

$$Y = m \cdot X + t \quad (2.23)$$

ii) Auswertung durch gleichzeitige Anpassung der CD-Schmelzkurve und ihrer ersten Ableitung

Dieses Verfahren wurde von C. Krejtschi [53] entwickelt und berücksichtigt auch die linearen Verläufe an den Rändern der Schmelzkurve. Damit wird dem Schwachpunkt der oben genannten Methode Rechnung getragen und die Schmelzkurve im gesamten Messbereich für die Auswertung berücksichtigt. Die Schmelzkurve kann zusammengesetzt aus den linearen Bereichen an den Rändern und dem sigmoidalen Verlauf beschrieben (Gl. 2.24), und mit thermodynamischen Parametern korreliert werden. Ein gleichzeitiges Anpassen der ersten Ableitung der Schmelzkurve (Gl. 2.28) reduziert die Unbekannten und verbessert so das Ergebnis des Fits. Realisiert wurde die Auswertung mit dem Softwarepaket IGOR-PRO 6.03A, welches das gleichzeitige Fitten der CD-Daten und der ersten Ableitung erlaubt.

Das aus der Schmelzkurve resultierende Signal Θ wird durch Gl. (2.24) beschrieben. Hier sind Y_1 und Y_2 , sowie m_1 und m_2 die Achsenabschnitte beziehungsweise Steigungen, der beiden Geraden, mittels derer die linearen Verläufe am Anfang und am Ende der Schmelzkurve angepasst werden. K_{eq} ist die Gleichgewichtskonstante (siehe oben).

$$\Theta(T) = (Y_1 + m_1 \cdot T) + (Y_2 + m_2 \cdot T) \cdot \frac{K_{eq}}{1 + K_{eq}} \quad (2.24)$$

Die Gibbs-Helmholtz-Gleichung stellt einen Zusammenhang zwischen der Freien Energie ΔG° , sowie der Enthalpieänderung ΔH_m° und der Änderung der Wärmekapazität ΔC_m an der Schmelztemperatur T_m dar (Gl. 2.25) [43].

$$\Delta G^\circ = \Delta H_m^\circ + \Delta C \cdot (T - T_m) - T \cdot \left(\frac{\Delta H_m^\circ}{T_m} + \Delta C \cdot \ln \left(\frac{T}{T_m} \right) \right) \quad (2.25)$$

Setzt man ΔG° aus Gl. (2.25) in Gl. (2.18) ein und löst nach der Gleichgewichtskonstante K_{eq} auf, so lässt sich der Gleichgewichtszustand nach Gl. (2.26) beschreiben.

$$K_{eq} = \exp \left[-\frac{1}{R} \cdot \left(\left(\frac{\Delta H_m^\circ}{T_m} + \Delta C - \ln(T_m) \right) + (\Delta C \cdot T_m + \Delta H_m^\circ) \cdot \frac{1}{T} + \Delta C \cdot \ln(T) \right) \right] \quad (2.26)$$

Die Ableitung dieser Funktion (2.27) wird genutzt, um die Ableitung der experimentellen Daten $\frac{d\Theta(T)}{dT}$ mit den thermodynamischen Größen zu korrelieren (Gl. 2.28).

$$\frac{dK_{eq}}{dT} = \frac{\Delta C}{R \cdot T} \cdot K_{eq} + \frac{-\Delta C \cdot T_m + \Delta H_m^\circ}{R \cdot T^2} \cdot K_{eq} \quad (2.27)$$

$$\frac{d\Theta(T)}{dT} = m_1 + \frac{m_2 \cdot (K_{eq} + K_{eq}^2) + (Y_2 + m_2 \cdot T) \cdot \frac{dK_{eq}}{dT}}{(1 + K_{eq})^2} \quad (2.28)$$

Aus der gleichzeitigen Anpassung der experimentellen Daten und ihrer ersten Ableitung (die zugehörigen Graphen sind in Abbildung 2.14 gezeigt) gehen dann die Größen Y_1, m_1, Y_2 und m_2 hervor, sowie die Schmelztemperatur T_m , die Gleichgewichtskonstante K_{eq} und ihre erste Ableitung $\frac{dK_{eq}}{dT}$. Aus diesen Größen werden dann $\Delta G^\circ, \Delta H^\circ$ und ΔC_m° ermittelt. Die Entropie kann aus Gl. (2.29) berechnet werden.

$$\Delta S^\circ = \frac{\Delta H^\circ}{T_m} \quad (2.29)$$

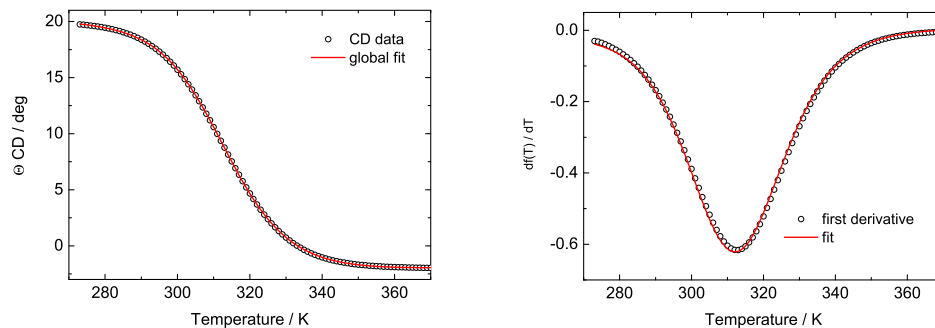
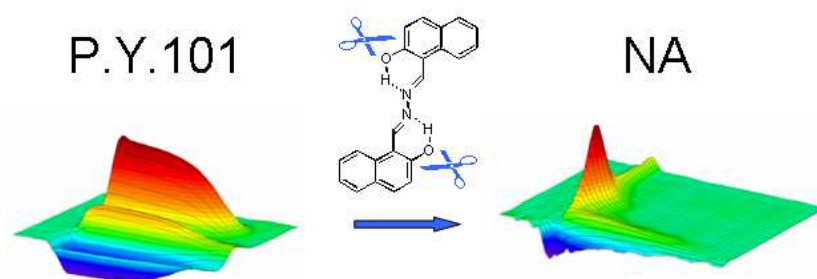


Abbildung 2.14: Links: CD-Daten (Kreise), sowie das Ergebnis der globalen Anpassung (rote Linie) nach Gl. (2.24). Rechts: Erste Ableitung der CD-Daten, sowie das Ergebnis des globalen Fits nach Gl. (2.28).

Kapitel 3

Photodynamik eines organischen Pigments



3.1 Einleitung und Motivation

Organische Pigmente sind in ihrer Farbintensität und Farbechtheit in vielen Fällen nicht konkurrenzfähig zu anorganischen Pigmenten. Somit fanden nur wenige Vertreter Einzug in die industrielle Produktion. Des Weiteren erwiesen sich einige organische Farbstoffe als kanzerogen und wurden somit nicht weiter verwendet.

Eine Ausnahme ist der Bisazomethinfarbstoff, welcher unter der Bezeichnung "Pigment Yellow 101 (P.Y. 101)" im Farbindex klassifiziert ist. Dieses leuchtend gelbe Pigment wird industriell produziert und zum Beispiel in Farbstiften, für Plakatfarben und anderes verwendet. Es ist photostabil und wurde als ungiftig eingestuft. Bei BASF wird das Pigment unter der Bezeichnung "Lumogen Gelb S 0790" geführt und in den technischen Informationen als "brillantes Tageslichtfluoreszenzpigment für Rissprüfungsmittel, fluoreszierende Markierungen, Künstlerfarben, Buntstifte und Wachskreiden" beschrieben. Die vielleicht originellste dort beschriebene Anwendung ist die Pigmentierung von "Spritzbrühe" in der Agrarwirtschaft. Mittels einer UV-Lampe kann dann die gleichmäßige Verteilung von Pflanzenschutzmitteln kontrolliert werden.

Eine detaillierte Untersuchung der Dynamik von P.Y. 101 wurde allerdings erst durchgeführt, nachdem Derivate der Struktur synthetisiert wurden, die sich in ihrem Fluoreszenzverhalten deutlich von der Stammverbindung unterschieden. Ein Weglassen der Hydroxyfunktionalität an den Naphthylgruppen führte nämlich zum vollständigen Verlust der Fluoreszenz im Festkörper.

Von Interesse war zunächst vor allem die Fragestellung, inwiefern die Fluoreszenzquantenausbeute eines Pigments mit seiner Kristallstruktur zusammenhängt. Eine vergleichbare Studie wurde von Langhals et al. an Diketopyrrolopyrolen durchgeführt [57]. In der zitierten Arbeit wurden Derivate untersucht, deren Festkörperfluoreszenz stark vom Substitutionsmuster und der Kristallstruktur abhing. Einer der Farbstoffe kristallisierte in zwei verschiedenen Modifikationen, unter Ausbildung gelber bzw. orangefarbener Kristalle. Die Fluoreszenzquantenausbeute der gelben Kristalle war deutlich höher als die der orangefarbenen. Die Analyse der Kristallstrukturen erlaubte folgende Schlussfolgerung: Im Falle der gelben Kristalle sind die Chromophore stark gegeneinander verschoben, so dass eine Chromophor-Chromophor-Wechselwirkung erst mit der übernächsten Schicht möglich ist, welche 6,18 Å entfernt ist. Bei den orangefarbenen Kristallen liegen die Chromophore nur 3,81 Å voneinander entfernt. Dies begünstigt eine Ankopplung des Elektronensystems an Gitterschwingungen des Kristalls und führt zu einer effizienten strahlungslosen Energiekonversion.

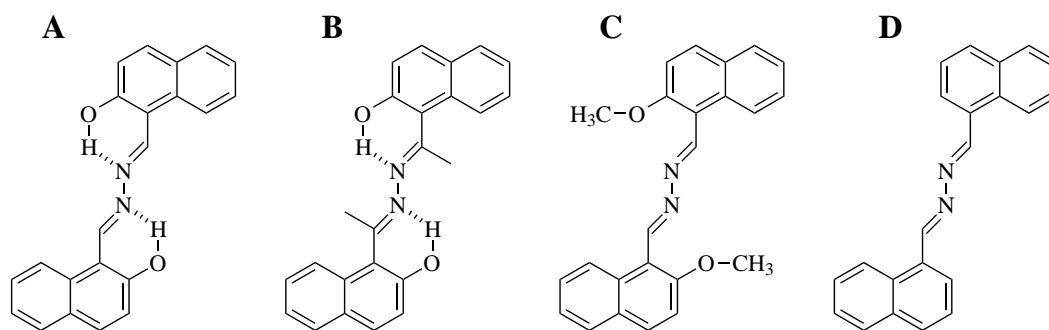


Abbildung 3.1: Strukturformeln von P.Y. 101 (A), HMNA (B), NAOMe (C) und NA (D)

Die genaue Untersuchung von P.Y. 101 wurde durch folgenden Befund motiviert:

Von den vier abgebildeten Strukturen (Abbildung 3.1) fluoreszieren nur zwei im kristallinen Zustand und zwar die beiden Derivate, welche mit einer Hydroxygruppe substituiert sind (P.Y. 101 und HMNA). Die beiden anderen Strukturen (NA und NAOMe) weisen keine Festkörperfluoreszenz auf. Die

	P.Y. 101	HMNA	NA	NAOMe
Festkörperfluoreszenz	ja	ja	nein	nein
Fluoreszenz in Lösung	ja	ja	nein	nein
Punktgruppe	P2 ₁ /n	C2/c	P2 ₁ /n	P2 ₁ /n
Moleküle pro Elementarzelle	2	4	2	2
Abstand der Chromophorebenen in Å	6,114	3,863	6,085	7,007

Tabelle 3.1: Eigenschaften von P.Y. 101 und seinen Derivaten.

Röntgenstrukturanalyse zeigte ein, im Hinblick auf die Studie von Langhals et al., überraschendes Ergebnis, welches in Tabelle 3.1 zusammengefasst ist. Man sieht hier, dass die Molekülabstände der nichtfluoreszierenden und fluoreszierenden Derivate sehr ähnlich sind, bzw. dass der kleinste Chromophorabstand bei einem der fluoreszierenden Derivate gefunden wird. Diese Erkenntnisse motivierten die im Folgenden vorgestellten experimentellen Untersuchungen sowie die in der Arbeitsgruppe um A. Dreuw durchgeführten theoretischen Arbeiten, mit dem Ziel das Fluoreszenzverhalten des organischen Pigments P.Y. 101 und seiner Derivate zu verstehen.

3.2 Experimenteller Teil

3.2.1 Probenform

P.Y. 101 und drei seiner Derivate wurden mittels statischer und zeitaufgelöster Messungen untersucht. Die Konzentration wurde der jeweiligen Messmethode angepasst. Allgemein ist zu sagen, dass die Proben eine mäßige Löslichkeit in vielen organischen Lösungsmitteln aufweisen. Die erforderlichen Konzentrationen von etwa 5 mM pro Liter konnten in Dichlormethan (DCM) hergestellt werden. Dieses Lösungsmittel wurde für alle hier gezeigten Messungen verwendet.

Alle Farbstoffe wurden aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. M.U. Schmidt erhalten und ohne weitere Aufarbeitung eingesetzt. Die Lösungsmittel waren von analytischem Reinheitsgrad und wurden ebenfalls so eingesetzt, wie sie erhalten wurden.

Neben den gelösten Proben wurden auch Messungen an P.Y. 101 in mikrokristallinem Zustand durchgeführt. Diese wurden durch Einbettung der pulverisierten Verbindung in eine Polyvinylchlorid (PVC)-Matrix hergestellt, was die Herstellung einer leuchtend gelben Folie ermöglicht, die in Abbildung 3.2 gezeigt ist. Als Referenzsystem wurde eine pigmentfreie Folie gleicher Stärke herangezogen. Die Folien wurden von der Firma BASF zur Verfügung gestellt.

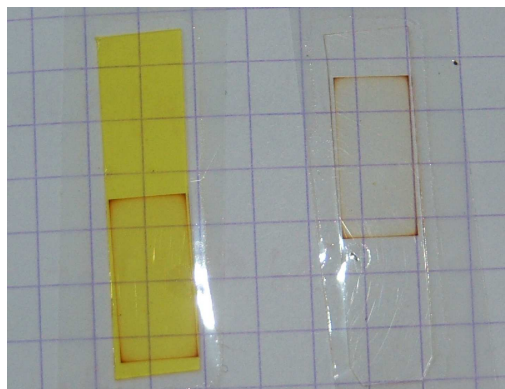


Abbildung 3.2: Fotografie der Folien, links sind Mikrokristalle von P.Y. 101 in die PVC-Matrix eingebettet. Rechts ist die unmodifizierte Folie zu sehen, die als Referenz verwendet wurde. Im Messbereich sieht man vor allem an den Ecken, wo die Probe am längsten belichtet wird, eine Photodegradation der Folie.

3.2.2 Messprozedur

Bei den Anreg-Abtast-Experimenten wurden die Proben mit Licht einer Wellenlänge von 387 nm angeregt. Diese Wellenlänge wurde durch Frequenzverdopplung der Laserfundamentalen in einem BBO-Kristall erzeugt. Die Anregungsenergie betrug 80 nJ. Die Abtastung wurde mittels breitbandigem (CaF₂)-Weißlicht durchgeführt.

Kontrollexperimente mit einer Anregungsenergie von etwa 50 nJ wurden bei einer Anregungswellenlänge von 460 nm gemacht. Die Pulse dieser Wellenlänge wurden wie in Kapitel 2.1.2 beschrieben, in einem NOPA erzeugt. Das breitbandige Abtastlicht wurde in Saphir generiert.

Im Folgenden werden die experimentellen Ergebnisse der Pigmentmessungen gezeigt. Hierbei wurden die Pigmente in zwei Gruppen eingeteilt. Zunächst werden die fluoreszierenden Vertreter, P.Y. 101 und HMNA vorgestellt, anschließend die nichtfluoreszierenden Moleküle NA und NAOMe.

3.3 Ergebnisse für die fluoreszierenden Pigmente

3.3.1 Statische Absorptions- und Fluoreszenzmessungen

Die Spektren aus den statischen Absorptions- und Fluoreszenzmessungen sind in Abbildung 3.3 gezeigt. Auffällig ist, dass bei P.Y. 101 eine ausgeprägte Schwingungsfeinstruktur erkennbar ist, die bei HMNA nicht auftritt. Das Absorptionsmaximum von P.Y. 101 liegt bei 411 nm. Diese Frequenz kann dem $S_0 \rightarrow S_1$ -Übergang zugeordnet werden. Die Absorptionsbande bei 340 nm entspricht mit hoher Wahrscheinlichkeit dem $S_0 \rightarrow S_3$ -Übergang [83]. Eine Analyse der langwelligen Bande, die mit drei Gauß-Funktionen angepasst werden kann, zeigt, dass die Schwingungsfeinstruktur gut mit der berechneten Streckschwingung des Bisazomethingerüsts, die bei $\tilde{\nu} = 1487 \text{ cm}^{-1}$ liegt, übereinstimmt.

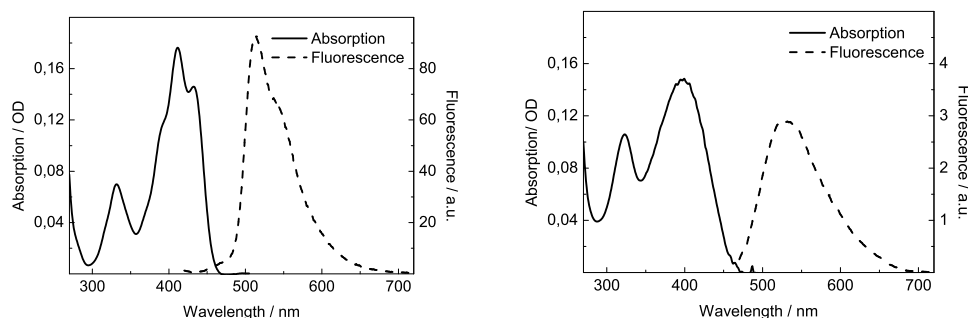


Abbildung 3.3: Absorption (durchgezogene Linie) und Fluoreszenz (gestrichelte Linie) von P.Y. 101 (links) und HMNA (rechts) jeweils in Dichlormethan.

Das Fluoreszenzspektrum zeigt eine sehr ähnliche Schwingungsfeinstruktur. Das entsprechende Fluoreszenzmaximum liegt bei 512 nm. Damit ergibt sich ein Stokesshift von 4800 cm^{-1} .

HMNA zeigt wie schon erwähnt, keine ausgeprägte Substruktur. Das Absorptionsmaximum liegt bei 400 nm, das Fluoreszenzmaximum bei 550 nm. Somit ergibt sich ein Stokesshift von 6820 cm^{-1} in Dichlormethan.

Die Quantenausbeuten von P.Y. 101 und HMNA wurden mittels Referenzverfahren im Vergleich zu Coumarin 152 bestimmt [44]. Sie liegen bei etwa 10% im Falle von P.Y. 101 und bei etwa 0,1% bei HMNA in DCM-Lösung. Die Quantenausbeute von P.Y. 101 in mikrokristallinem Zustand ist 45% [56].

3.3.2 Zeitaufgelöste Messungen von P.Y. 101 im sichtbaren Spektralbereich

Nach Anregung mit 387 nm sieht man in der 2d-Abbildung (Abbildung 3.4) das instantane Ausbleichen des Grundzustands als blaue Bande im Spektralbereich von 370 nm bis 430 nm. Die Absorption des angeregten Zustands zieht sich weit in den roten Spektralbereich hinein und ist um 580 nm maximal. Ihr zeitliches Auftreten ist mit dem Grundzustandsbleichen korreliert. Um 460 nm tritt die Absorption des angeregten Zustands (ESA) zeitlich etwas verzögert und mit geringerer Intensität auf. Zwischen den beiden rot gefärbten Bereichen findet man eine schwach negative Signatur, die bei 510 nm am ausgeprägtesten ist und die der stimulierten Emission zugeordnet werden kann. Es wird deutlich, dass im Bereich zwischen 430 und 530 nm verschiedene Prozesse spektral überlagern. Die Betrachtung einzelner Transienten liefert hier mehr Aufschluss über die Dynamik des Systems.

Die linke Seite von Abbildung 3.5 zeigt die zeitabhängige Absorptionsänderung im Bereich des Grundzustandsbleichens (411 nm) und im Bereich der Absorption des angeregten Zustands (579 nm). In bei-

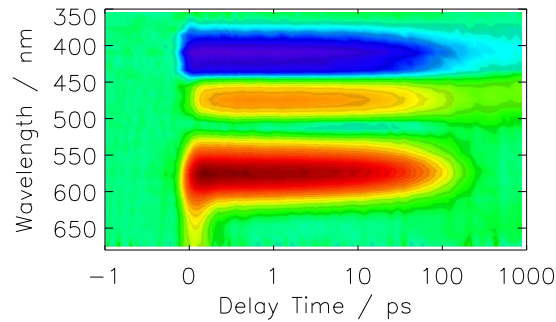


Abbildung 3.4: 2d-Graphik von P.Y. 101 nach Anregung mit $\lambda_{exc}=387$ nm.

den Fällen tritt die Absorptionsänderung instantan auf und man findet identische Abklingzeiten von $\tau_D=0,2$ ps und $\tau_D=65$ ps. Während das Signal im Wellenlängenbereich $\lambda > 500$ nm verschwindet, bleibt zwischen 350 nm und 500 nm ein Restsignal über den Beobachtungszeitraum hinaus erhalten.

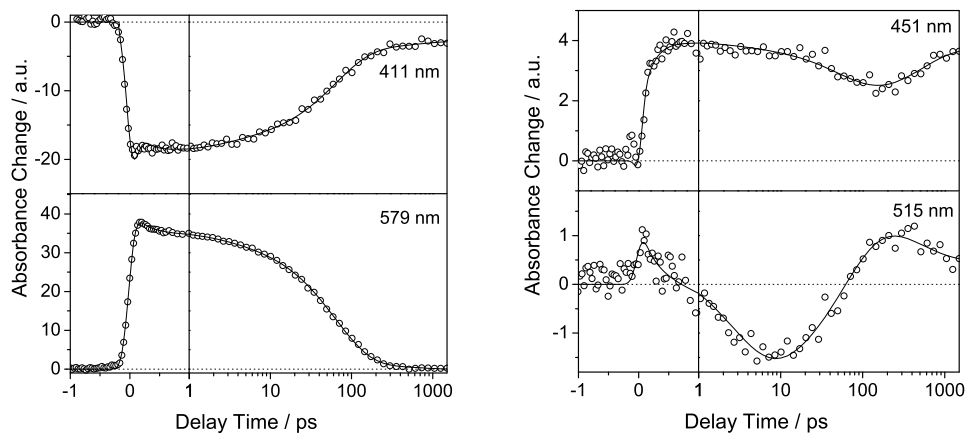


Abbildung 3.5: Einzelne Transienten von P.Y. 101 bei verschiedenen Wellenlängen.

Die Betrachtung der Absorptionsänderungen in den Bereichen, in denen sich Prozesse überlagern zeigen eine weitaus komplexere Dynamik, wie die Transienten bei 451 nm und 515 nm in Abbildung 3.5 (rechts) verdeutlichen. Bei 451 nm sieht man ebenfalls einen schnellen Anstieg, der aber vor dem Erreichen des Maximums leicht abflacht, so dass dieses erst nach etwa einer Pikosekunde auftritt. Es folgt ein langsames Abfallen und nach etwa 100 ps ein erneuter Anstieg. Ähnlich komplex ist die Dynamik bei 515 nm. Hier wird eine zunächst positive Absorptionsänderung nach etwa 0,7 ps von der stimulierten Emission überdeckt, die zu einer negativen Absorptionsänderung führt. Nach etwa 60 ps dominiert dann wieder die ESA, was zu einem erneuten Vorzeichenwechsel führt. Diese erreicht ein lokales Ma-

ximum nach etwa 250 ps und klingt anschließend wieder ab.

Setzt man ein einfaches Reaktionsmodell voraus, bei dem das System nach Absorption eines Photons durch Emission eines längerwelligen Photons zurück in den Grundzustand gelangt, müssen die Absorption des angeregten Zustands und die stimulierte Emission korreliert sein. Die Komplexität des Signals bei $\lambda_{probe}=515$ nm impliziert folglich, dass hier ein spektraler Shift einer der beiden Komponenten das Abklingen der Prozesse überlagert.

Zur Analyse der Daten wird eine globale Fitmethode herangezogen. Mittels eines Levenberg-Marquardt-Algorithmus werden alle Kanäle mit einer festgelegten Anzahl exponentieller Zerfälle gefittet. In diesem Fall waren für eine gute Anpassung der Transienten sechs Exponentialfunktionen notwendig. Meist resultiert durch das kohärente Artefakt und Ungenauigkeiten bei der Anpassung des Zeitnullpunkts eine sehr schnelle Zerfallszeit, die unterhalb der Zeitauflösung der Apparatur liegt. Diese weist in der Regel eine große Amplitude auf und wird nicht interpretiert. Um bestehende Absorptionsänderungen am Ende des Beobachtungszeitraums anzupassen wählt man eine festgesetzte Konstante (hier eine Mikrosekunde). Deren Amplitudenspektrum korreliert mit dem transienten Spektrum bei 1,5 ns. Die zerfallsassoziierten Spektren (DAS), also die Auftragung der Fitamplitude als Funktion der Wellenlänge für jede exponentielle Zerfallszeit, ist in Abbildung 3.6 gezeigt. Zur leichteren Interpretation sind das Absorptions- und Fluoreszenzspektrum aufgetragen (Abb. 3.6, oben).

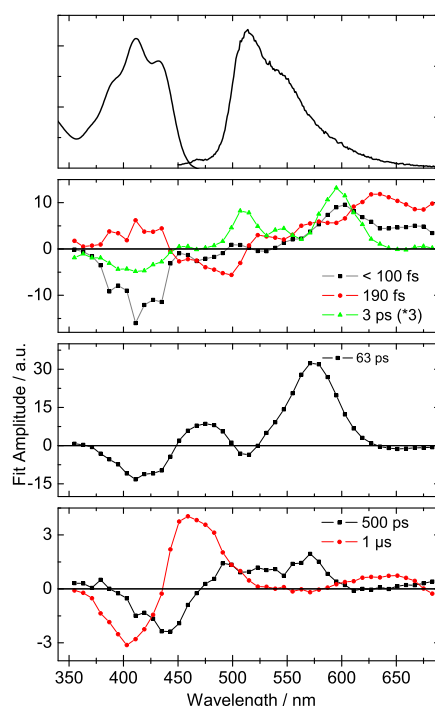


Abbildung 3.6: Oben: Absorptions- und Fluoreszenzspektrum von P.Y. 101 in DCM. Darunter: Zerfallsassoziierten Spektren.

Die sub-100 fs-Zeit ($\tau_1 < 100$ fs) zeigt eine spektrale Signatur, wie sie typisch für die Prozesse zu frühen Zeiten ist: Im Bereich der Grundzustandsabsorption ist ein deutliches Bleichsignal zu erkennen, zu höheren Wellenlängen hin sieht man die breitbandige Absorption des angeregten Zustands.

Mit der Zerfallszeit $\tau_2 = 0,2$ ps verschwindet der rote Ausläufer der ESA für $\lambda > 640$ nm, wie Abbil-

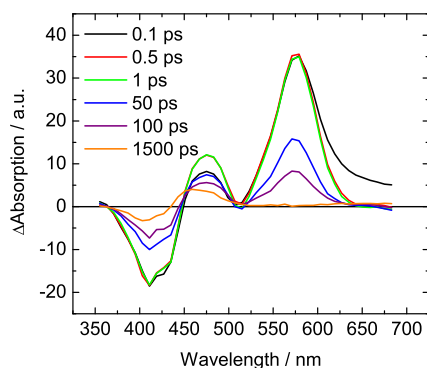


Abbildung 3.7: Transiente Spektren von P.Y. 101 zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

Abbildung 3.7 verdeutlicht, in der die transiente Absorption über den gesamten Spektralbereich zu verschiedenen Verzögerungszeiten dargestellt ist. Außerdem wird mit dieser Zeit eine Absorptionzunahme zwischen 450 nm und 515 nm vollzogen.

Die Amplituden zu $\tau_3 = 3$ ps sind wesentlich geringer, so dass dieses Spektrum zur besseren Vergleichbarkeit skaliert wurde. Auffällig ist der Bereich positiver Amplituden ($\lambda > 450$ nm), der zwei Maxima bei $\lambda = 510$ nm und $\lambda = 600$ nm aufweist. Unterhalb von 450 nm sind die Amplituden negativ, was auf einen Beitrag zur Repopulation des Grundzustands hindeutet, dieser ist allerdings sehr gering und ist in den transienten Spektren nicht zu erkennen.

Der größte Anteil des angeregten Zustands zerfällt mit $\tau_4 = 63$ ps. Mit dieser Zeit wird der Grundzustand deutlich durch stimulierte Emission repopuliert. Negative Amplituden bei $\lambda < 450$ nm weisen auf die Rückkehr angeregter Moleküle in den Grundzustand hin. Die leicht negativen Amplituden zwischen 500 nm und 520 nm, sowie bei $\lambda > 640$ nm sind die Signatur der stimulierten Emission, die deutlich in die zeitgleich auftretende ESA einschneidet, welche bei $\lambda = 480$ nm und $\lambda = 575$ nm zwei Maxima aufweist.

Ähnlich wie die Zerfallszeit von 3 ps, beschreibt auch $\tau_5 = 500$ ps Prozesse, die nur einen geringen Anteil am Zerfall des angeregten Zustands haben. Dennoch ist diese Zerfallszeit entscheidend, um die transiente Absorptionsänderung bei den oben gezeigten Kanälen (Abbildung 3.5, rechte Seite) zu verstehen. Der Bereich negativer Amplituden ($380 \text{ nm} < \lambda < 480 \text{ nm}$) korreliert nicht mit der Hauptabsorptionsbande des Grundzustands, sondern ist leicht ins Rote verschoben, passend zur Schulter bei 440 nm. Vergleicht man die transienten Spektren bei den Verzögerungszeiten $t = 100$ ps und $t = 1,5$ ns, so erkennt man die Verschiebung des Maximums von 475 nm auf etwa 460 nm, während die ESA für $\lambda > 515$ nm vollständig abklingt.

Das DAS des Residuums (DAS zu $\tau = 1 \mu\text{s}$) ist nahezu deckungsgleich mit dem Spektrum zur Verzögerungszeit $t = 1,5$ ns. Es zeigt einen Bereich positiver Absorption zwischen 440 nm und 530 nm, der die spektrale Signatur eines Intermediats wiedergibt, sowie die spiegelbildliche Signatur von nicht repopuliertem Grundzustand. Außerdem ist eine schwache positive Amplitude zwischen 580 nm und 675 nm zu erkennen, die ebenfalls der Signatur eines Intermediats entsprechen kann.

3.3.3 P.Y. 101 in PVC-Folie

Diese Messungen ergänzen die Messungen in Lösung und sind im Hinblick auf die einleitende Fragestellung, inwiefern die Kristallstruktur die Fluoreszenz beeinflusst, sehr interessant. P.Y. 101 liegt in einer Matrix aus Polyvinylchlorid (PVC) in mikrokristallinem Zustand vor. Die Folie ist etwa 400 μm dick.

Zeitaufgelöste Messungen an P.Y. 101 in mikrokristallinem Zustand

Die zeitaufgelösten Messungen im sichtbaren Spektralbereich wurden analog zu den Messungen in Lösung aufgenommen. Zur Anregung wurden Impulse bei 387 nm verwendet, die durch Frequenzverdopplung der Laserfundamentale in einem BBO-Kristall erzeugt wurden. Die Pulsenergie betrug etwa 400 nJ, die Kreuzkorrelation etwa 300 fs. Das Abtastlicht wurde durch Fokussierung der Laserfundamentale in Saphir erzeugt und deckt den Bereich von etwa 450 nm bis 700 nm ab. Analog zu den Messungen in Lösung wurde die Folie in x-y-Richtung bewegt. Eine reine PVC-Folie gleicher Dicke wurde als Referenzsystem verwendet. Abbildung 3.2 zeigt die zur Messung verwendeten Proben. Man sieht deutlich, wie die Folien vor allem in den Ecken, wo die Probe am längsten belichtet wird, bräunlich verfärbt sind. Offensichtlich degradiert hier die PVC-Matrix. Der Farbstoff selbst war unter den experimentellen Bedingungen photostabil.

Wie Abbildung 3.8 zeigt, ist die Lage der Absorptions- und Fluoreszenzbanden gegenüber P.Y. 101 in Dichlormethan nicht verschoben.

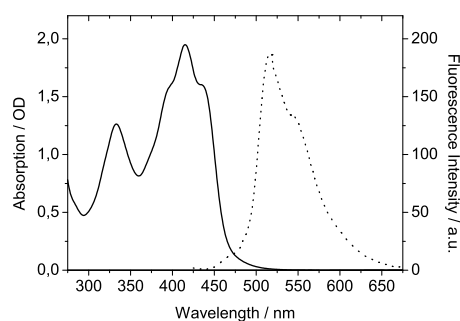


Abbildung 3.8: Absorptions- und Fluoreszenzspektrum von P.Y. 101 in PVC.

Abbildung 3.9 gibt einen Überblick über die transienten Absorptionsänderungen nach Anregung von P.Y. 101 in PVC mit $\lambda_{exc} = 387$ nm. Es zeigen sich die gleichen Charakteristika wie bei der Messung in Lösung, allerdings ist der angeregte Zustand in der Folie wesentlich langlebiger. Im kurzwelligen Spektralbereich, bis 460 nm erkennt man deutlich das Ausbleichen des Grundzustands, welches erst zu langen Verzögerungszeiten an Intensität verliert. Die Absorption des angeregten Zustands lässt sich in drei Bereiche einteilen. Zwischen 460 nm und 500 nm erreicht sie ein Intensitätsmaximum innerhalb der ersten Pikosekunde und klingt dann langsam ab. Ganz Ähnliches sieht man in der ESA zwischen 530 nm und 650 nm. Am Rand des spektralen Messbereichs, zwischen 700 nm und 750 nm tritt ebenfalls innerhalb der ersten Pikosekunde eine ESA auf, die schwach ist im Vergleich zu den anderen Bereichen und schnell wieder verschwindet. Die beiden Bereiche intensiver ESA sind durch eine negative Absorptionsänderung, die auf stimulierte Emission zurückzuführen ist, voneinander getrennt.

In Abbildung 3.10 sind links Transienten aus den Bereichen intensiver Absorptionsänderung dargestellt. Man erkennt, dass instantan mit der Anregung der Grundzustand ausgebleicht wird ($\lambda = 443$ nm). Die sehr kurze Dynamik innerhalb der ersten 300 fs ist teilweise noch von Effekten in der PVC-Matrix

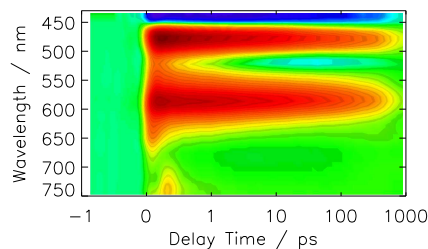


Abbildung 3.9: 2d-Graphik von P.Y. 101 in PVC nach Anregung bei 387 nm.

überlagert, welche sich nicht vollständig subtrahieren lassen. Während der ersten 1,5 ps ändert sich die Absorption auf diesem Kanal kaum, erst danach findet ein mehrphasischer Zerfall statt, der die Rückkehr angeregter Moleküle in den Grundzustand anzeigt. Innerhalb der Messdauer des Experiments wird der Grundzustand nicht vollständig repopuliert.

Nahezu spiegelbildlich dazu ist die Transiente bei $\lambda=483$ nm. Allerdings beginnt der langsame Zerfall der ESA auf diesem Kanal instantan. Im zweiten Bereich intensiver ESA ($\lambda =595$ nm) ist dieser wie schon beim Grundzustandsbleichen sehr flach.

Im rechten Teil von Abbildung 3.10 sind Transienten aus den weniger intensiven Bereichen gezeigt. Oben bei $\lambda =523$ nm erkennt man deutlich den negativen Beitrag der stimulierten Emission, welcher sich nach etwa 3 ps durchsetzt. Ihr Abklingen lässt nach etwa 500 ps erneut die ESA dominieren, so dass die Absorptionsänderung am Ende des Zeitfensters wieder positiv ist.

Unten sind noch zwei Transienten aus den Bereichen schwacher ESA gezeigt. Der Zerfall dieser Signale ist mehrphasisch mit mindestens einer schnellen und einer langsameren Zerfallszeit, sowie einer langlebigen Komponente.

Zur Anpassung der Daten wurden fünf exponentielle Zerfälle angenommen. Die DAS sind in Abbildung 3.11 (links) gezeigt. Sehr frühe und schnelle Prozesse sind mit der ersten Zerfallszeit verknüpft, die unterhalb der Zeitauflösung der Apparatur liegt und deren DAS nicht dargestellt ist. Mit $\tau_1=0,4$ ps wird die ESA zwischen 630 nm und 700 nm etwas schmaler und verliert an Intensität. Die Amplituden geben keinen Hinweis auf einen Beitrag zur Repopulierung des Grundzustands.

Die Zerfallszeit $\tau_2=9,1$ ps ist ebenfalls mit einer Verringerung der ESA-Intensität verbunden, die eine Rückkehr angeregter Moleküle in den Grundzustand anzeigt, wie negative Amplituden bei $\lambda <450$ nm belegen. Das DAS der langsamen Zerfallszeit ($\tau_3 =370$ ps) weist große Ähnlichkeit zum DAS zu $\tau_4 =63$ ps von P.Y. 101 in Lösung auf. Die beiden intensiven ESA-Banden verlieren einen Großteil ihrer Intensität, während der Prozess der stimulierten Emission die Rückkehr angeregter Moleküle in den Grundzustand anzeigt.

Am Ende des Beobachtungszeitraums bleibt über den gesamten Spektralbereich eine Absorptionsänderung bestehen. Zur Anpassung dieser langlebigen Komponente wurde eine Zerfallszeit mit einer Lebensdauer von einer Mikrosekunde eingeführt. Das zugehörige DAS ist mit dem transienten Spektrum bei $t =1$ ns, welches in Abbildung 3.11 (rechts) dargestellt ist, identisch.

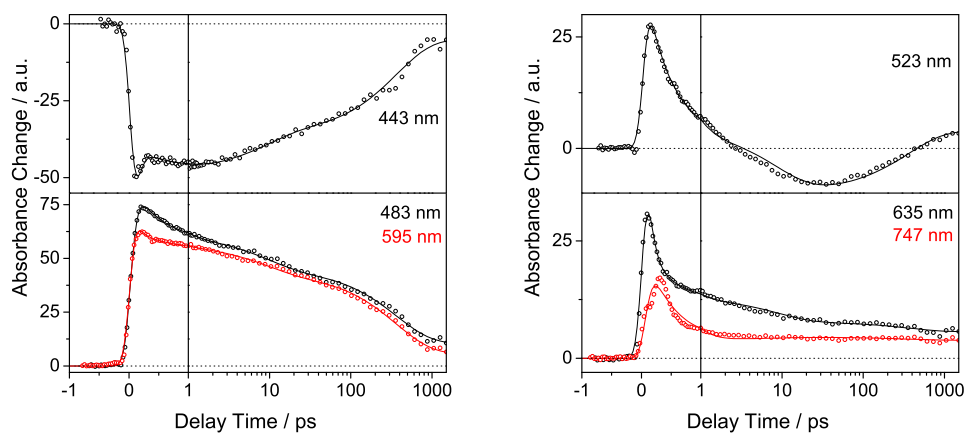


Abbildung 3.10: Links: Transienten in den Bereichen intensivster Absorptionsänderung bei Anregung mit $\lambda_{exc} = 387$ nm. Intensives Grundzustandsbleichen bei 443 nm, sowie die Bereiche maximaler Absorption des angeregten Zustands bei 483 nm bzw. 595 nm. Rechts: Bereiche überlagernder Prozesse. Die stimulierte Emission bewirkt eine negative Absorptionsänderung bei 523 nm. Am langwelligen Ende des Messbereichs bei 635 nm bzw. 747 nm dominieren schnelle Prozesse den Abbau der Absorption des angeregten Zustands.

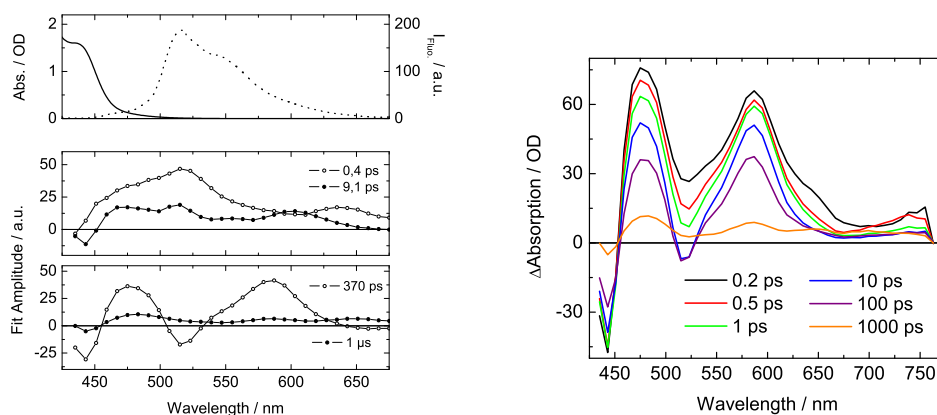


Abbildung 3.11: Links: DAS von P.Y. 101 in PVC (Mitte und unten). Oben ist der mit der zeitaufgelösten Messung spektral identische Bereich des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums gezeigt. Rechts: Transiente Spektren verschiedenen Verzögerungszeiten.

3.3.4 Zeitaufgelöste Messungen von HMNA im sichtbaren Spektralbereich

Im Gegensatz zu P.Y. 101 weist HMNA eine zusätzliche Methylgruppe an den Methinkohlenstoffatomen auf. Diese verändert die elektronischen Eigenschaften und stellt unter Umständen eine sterische Barriere dar, die die Geometrien von Grundzustand und angeregten Zuständen beeinflussen kann. Die im Gegensatz zu P.Y. 101 verschobenen Absorptions- und Fluoreszenzmaxima verdeutlichen dies bereits (siehe Kapitel 3.3.1). Inwiefern sich dieser Substituent auf die Dynamik auswirkt, wurde mittels zeitaufgelöster Messungen untersucht.

Wenngleich sich die beiden 2d-Graphiken (Abbildungen 3.4 und 3.12) der beiden Proben in Lösung, auf den ersten Blick deutlich unterscheiden, so findet man doch bei beiden Molekülen ähnliche kinetische Prozesse im angeregten Zustand. Auch hier ist die Absorption des Grundzustands am blauen Rand des Spektrums als intensives Bleichsignal zu sehen. Die Absorption des angeregten Zustands ist zwischen 450 und 550 nm deutlich erkennbar. Der Beitrag durch stimulierte Emission ist im Vergleich zu P.Y. 101 kurzlebiger. Er ist zwischen 580 nm und 670 nm als blauer Bereich in Abbildung 3.12 zu erkennen. Wie schon bei P.Y. 101 diskutiert, so verschwindet auch in diesem System der größte Teil der Absorption des angeregten Zustands innerhalb des Beobachtungszeitraums, während um 450 nm ein Restbeitrag positiver Absorption erhalten bleibt, wie auch das entsprechende Bleichsignal des nicht repopulierten Grundzustands.

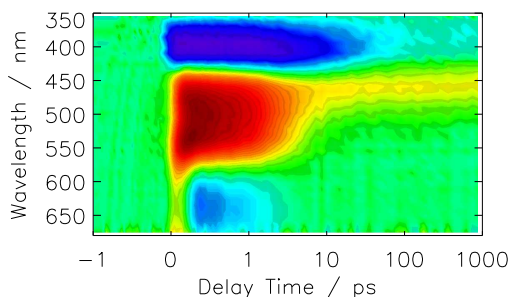


Abbildung 3.12: 2d-Graphik von HMNA in DCM nach Anregung mit $\lambda_{exc}=387$ nm.

Einzelne Transienten aus den charakteristischen Bereichen geben Aufschluss über das genaue zeitliche Verhalten des Systems. Abbildung 3.13 (links) zeigt den zeitlichen Verlauf im Bereich des Grundzustandsbleichens ($\lambda_{probe}=403$ nm) und der Absorption des angeregten Zustands ($\lambda_{probe}=475$ nm). Während die ESA bei 475 nm schnell bis auf einen kleinen Restbeitrag zerfällt, ist die Zerfalldynamik im Bereich des Grundzustandsbleichens (bei $\lambda_{probe}=403$ nm) deutlich langsamer. Bis zu einigen Pikosekunden bleibt das Signal nahezu konstant, bevor es dann langsam abfällt. Auch in diesem Bereich bleibt ein Beitrag einer langlebigen Komponente bestehen.

Die Komplexität des molekularen Reaktionsmechanismus zeigt sich besser in Bereichen sich überlagernder Prozesse, wie Abbildung 3.13 (rechts) verdeutlicht. Bei $\lambda_{probe}=427$ nm erkennt man das instantane Ausbleichen des Grundzustands, welches innerhalb der ersten 0.3 ps mit einer positiven Absorptionsänderung konkurriert, die zu einer Art Einschnitt führt. Eine maximale negative Absorptionsänderung tritt nach etwa 2,5 ps auf und klingt dann ab. Nach etwa 40 ps wird das Bleichsignal von einer positiven Absorptionsänderung kompensiert, die bis zum Ende des Beobachtungszeitraums sogar

noch leicht ansteigt.

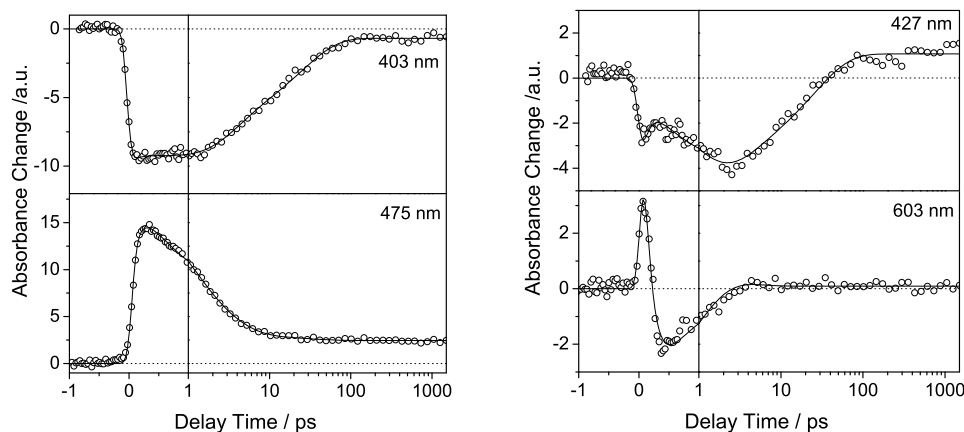


Abbildung 3.13: Transienten von HMNA in DCM bei verschiedenen Abtastwellenlängen.

Das Ergebnis der globalen Fitanalyse ist in Abbildung 3.14 (links) graphisch dargestellt. Im Gegensatz zum P.Y. 101-Datensatz genügen hier fünf Zerfallszeiten zur Anpassung der Daten. Die schnelle Zerfallszeit ($\tau_1 < 130 \text{ fs}$) zeigt ebenfalls die typischen Prozesse zu frühen Zeiten, wie das Ausbleichen des Grundzustands und eine breite, vor allem im roten Spektralbereich sehr intensive ESA. Das DAS zu dieser Zerfallszeit ist nicht dargestellt.

Mit der Zerfallszeit $\tau_2 = 0,9 \text{ ps}$ ändert sich die Signatur der ESA im Bereich von 430 nm bis 590 nm. Die zu frühen Verzögerungszeiten beobachtete ESA weist in diesem Bereich eine Struktur mit zwei Maxima bei 480 nm und 540 nm auf (vgl. Abbildung 3.14, rechts), die langsam schmaler und unstrukturierter wird. Das Maximum liegt jetzt etwa bei 505 nm. Bei Wellenlängen $\lambda > 575 \text{ nm}$ sind die Amplituden negativ, wie es für stimulierte Emission typisch ist. Auffällig ist, dass diese Zerfallszeit keinen Beitrag zur Repopulierung des Grundzustands zeigt.

Erst mit $\tau_3 = 2,7 \text{ ps}$ zerfällt ein Großteil der ESA ($440 \text{ nm} < \lambda < 610 \text{ nm}$) und bevölkert den Ausgangszustand, wie die negativen Amplituden bei $\lambda < 440 \text{ nm}$ zeigen.

Ähnlich wie schon bei P.Y. 101 zu $\tau_5 = 500 \text{ ps}$, weist auch hier das DAS zu $\tau_4 = 25 \text{ ps}$ ein Minimum bei 410 nm auf, welches gegenüber dem Absorptionsmaximum leicht ins Rote verschoben ist. Oberhalb von 460 nm sind die Amplituden positiv und ein Vergleich mit den Spektren bei den Verzögerungszeiten $t = 10 \text{ ps}$ bzw. $t = 100 \text{ ps}$ zeigt eine Blauverschiebung der ESA in diesem Zeitfenster.

Am Ende des Beobachtungszeitraums verbleibt auch hier ein Signal. Das DAS entspricht spektral dem Spektrum bei $t = 1,5 \text{ ns}$ und weist große Ähnlichkeit zu der langlebigen Komponente von P.Y. 101 auf.

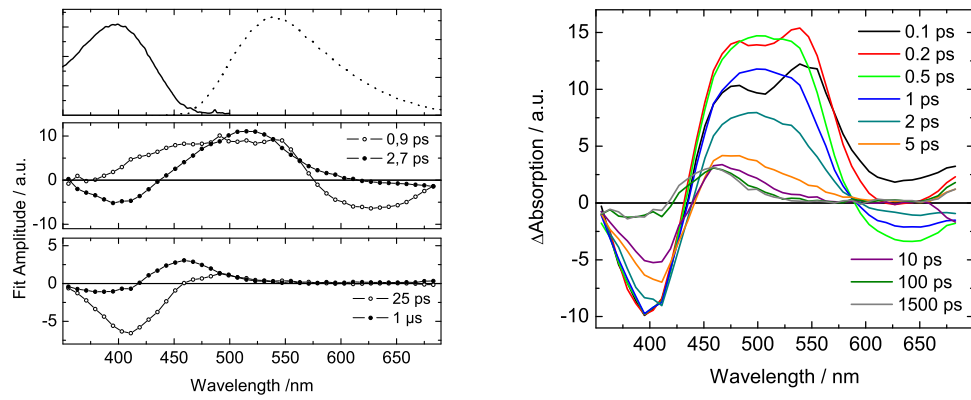


Abbildung 3.14: Links: Zerfallsassoziierte Spektren von HMNA in DCM. Rechts: Transiente Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

3.4 Ergebnisse für die nichtfluoreszierenden Pigmente NA und NAOMe

Für NAOMe trifft die Bezeichnung "nichtfluoreszierend" nicht zwingend zu, da Emission mit geringer Fluoreszenzquantenausbeute bei normalen statischen Messungen in Lösung detektiert wurde. Diese ist aber sehr klein im Vergleich zu den Derivaten mit Hydroxygruppe. Im Festkörper fluoresziert das Derivat gar nicht, sodass NAOMe (nicht zuletzt auch wegen der beobachteten kinetischen Prozesse) zusammen mit NA behandelt wird.

3.4.1 Statische Charakterisierung

Die Absorptionsspektren von NA und NAOMe weisen jeweils eine unstrukturierte Absorptionsbande im nahen UV bzw. sichtbaren Spektralbereich auf (Abbildung 3.15). Im Falle von NA liegt das Maximum bei 350 nm, bei NAOMe bei 390 nm. Die Schulter bei 330 nm im Absorptionsspektrum von NAOMe kann einem energiereicheren elektronischen Übergang zugeordnet werden.

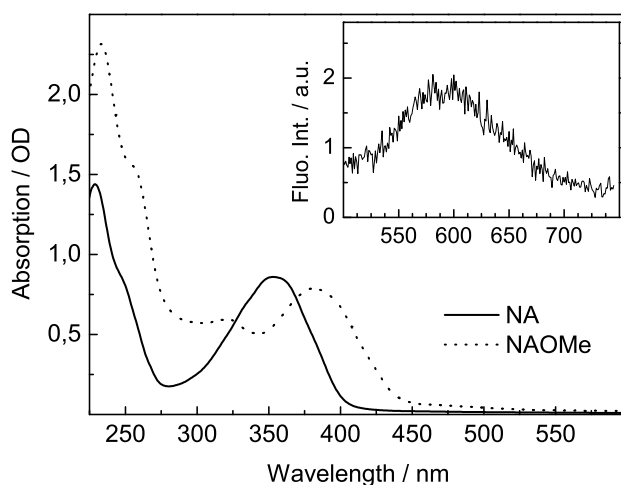


Abbildung 3.15: Absorptionsspektren von NA (durchgezogene Linie) und NAOMe (gepunktete Linie). Das Fluoreszenzspektrum von NAOMe ist eingefügt.

Bei Fluoreszenzmessungen von NA in DCM wurde keine Emissionsbande detektiert. Bei NAOMe findet man hingegen eine schwache Fluoreszenzbande (siehe eingefügte Graphik in Abbildung 3.15), die unstrukturiert ist und ein Maximum bei 600 nm aufweist. Die Quantenausbeute ist sehr gering. Der Stokesshift von etwa 9000 cm^{-1} ist allerdings beträchtlich.

3.4.2 Zeitaufgelöste Messungen von NA

Abbildung 3.16 gibt einen Überblick über die transiente Absorptionsänderung von NA in DCM nach Anregung mit 387 nm.

Das Ausbleichen des Grundzustands ist zwischen 350 nm und 400 nm deutlich zu sehen und verschwindet nahezu vollständig in den ersten 10 ps. Die ESA ist zu kurzen Verzögerungszeiten hin im gesamten Spektralbereich von 400 nm bis 650 nm zu sehen und ist besonders ausgeprägt im Bereich um 480 nm. Nur zwischen 400 nm und 450 nm ist auch nach einer Pikosekunde noch schwaches ESA-Signal zu erkennen.

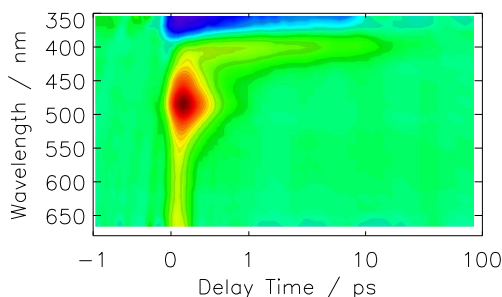


Abbildung 3.16: 2d-Graphik von NA in DCM nach Anregung mit $\lambda_{exc}=387$ nm.

Bei der Betrachtung einzelner Transienten treten die unterschiedlichen Bereiche deutlicher hervor. Bei $\lambda_{probe}=371$ nm (Abbildung 3.17, links) sieht man das instantane Ausbleichen des Grundzustands, welcher innerhalb der ersten Pikosekunde zu einem großen Teil repopuliert wird. Die vollständige Wiederverbevolkerung dauert mehrere 10 ps und geschieht mit einer langsameren Zerfallszeit.

Mit $\lambda_{probe}=483$ nm ist eine Transiente aus dem Bereich intensiver und kurzlebiger ESA gezeigt, der sofort mit der Anregung auftritt und innerhalb einer Pikosekunde nahezu vollständig zerfällt.

Etwas komplexer sind die beiden rechts in Abbildung 3.17 gezeigten Transienten bei $\lambda_{probe}=387$ nm und $\lambda_{probe}=403$ nm. Erstere weist zunächst die Charakteristik von ausbleichendem Grundzustand auf, die negative Absorptionsänderung wird aber schnell von der ESA überlagert. Diese steigt etwa zwei Pikosekunden lang an, bevor sie wieder zerfällt. Nach einigen 10 ps ist keine Absorptionsänderung mehr sichtbar.

Bei $\lambda_{probe}=403$ nm wird ausschließlich ESA beobachtet, allerdings zerfällt diese nur sehr langsam und nicht monoexponentiell wie es bei Transienten, die weiter im roten Spektralbereich gemessen wurden, der Fall ist.

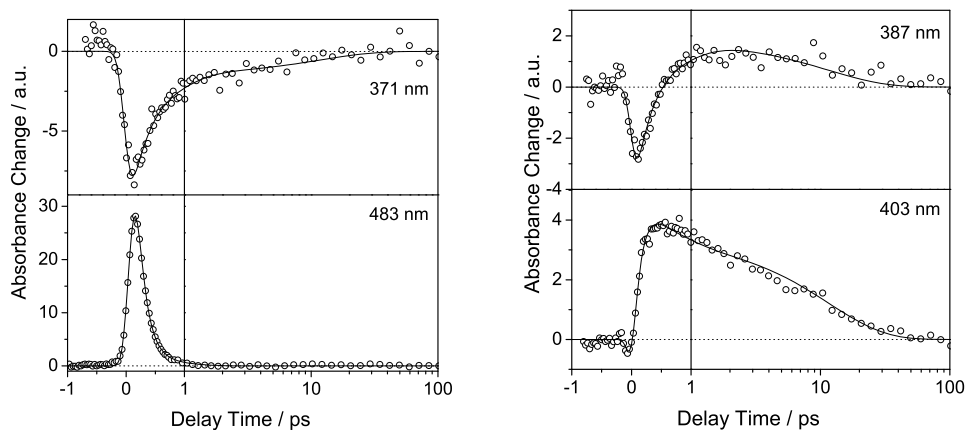


Abbildung 3.17: Einzelne Transienten von NA bei ausgewählten Wellenlängen.

Für eine globale Anpassung der Daten waren drei Zeitkonstanten nötig. Die zugehörigen DAS sind in Abbildung 3.18 (links) gezeigt. Mit der Zerfallszeit $\tau_1 = 140$ fs verschwindet der Großteil der ESA im Bereich von 430 nm bis 660 nm. Wie ein Vergleich mit den transienten Spektren zu den Verzögerungszeiten $t = 0,2$ ps und $t = 0,5$ ps zeigt (Abbildung 3.18, rechts), wird die ESA in diesem Zeitfenster deutlich schmaler und verliert an Intensität. Die ESA weist zu diesem Zeitpunkt noch zwei Maxima auf, bei 405 nm und 485 nm. Letzteres verschwindet innerhalb einer Pikosekunde vollständig. Die Zerfallszeit beträgt etwa 0,5 ps und trägt zur Repopulation des Grundzustands bei.

Die Absorptionsänderungen, die nach einer Pikosekunde noch bestehen, verschwinden mit einer zugehörigen Zerfallszeit von $\tau_3 = 12$ ps. Diese weist negative Amplituden zwischen 350 nm und 380 nm auf, sowie positive Amplituden zwischen 380 nm und 450 nm.

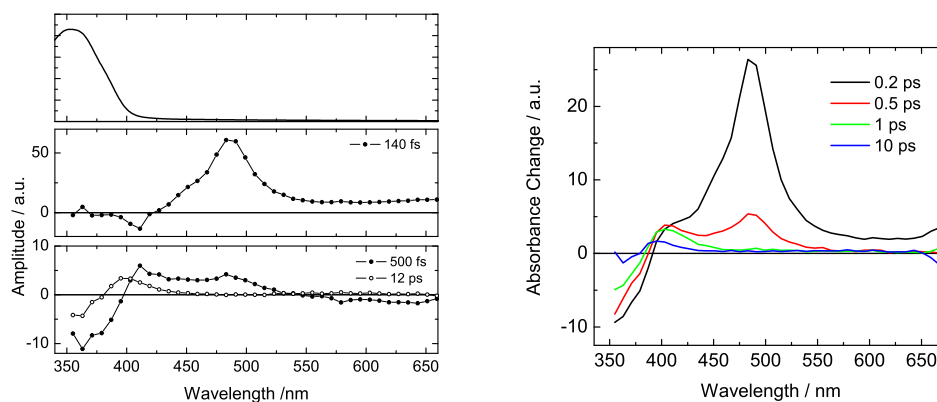


Abbildung 3.18: Links: DAS von NA in DCM (Mitte und unten). Oben ist das Absorptionsspektrum im entsprechenden Spektralbereich gezeigt. Rechts: Transiente Spektren von NA zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

3.4.3 Zeitaufgelöste Messungen von NAOMe

Die 2d-Graphiken von NA (Abbildung 3.16) und NAOMe (Abbildung 3.19) weisen große Ähnlichkeit auf. Der auffälligste Unterschied zwischen beiden ist die stärkere Bleichbande im Falle von NAOMe, dem Derivat, welches bei größeren Wellenlängen absorbiert. Diese ist auch etwas langlebiger, verschwindet aber ebenfalls vollständig im Beobachtungszeitraum.

Auch bei dieser Verbindung ist eine kurzlebige ESA im Bereich von 430 nm bis 650 nm zu sehen, die um 510 nm am stärksten ausgeprägt ist und nur im Bereich um 450 nm länger als eine Pikosekunde auftritt.

Wie die Transienten in Abbildung 3.20 (links) zeigen, wird der Grundzustand instantan mit der Anregung ausgebleicht. Innerhalb von 100 ps wird der Ausgangszustand wieder erreicht, allerdings ist die Wiederbesetzung nicht monoexponentiell.

Die ESA im roten Spektralbereich, hier durch die Transiente bei 483 nm repräsentiert, verschwindet innerhalb der ersten Pikosekunde nahezu vollständig. Ein Vergleich mit den transienten Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten (Abbildung 3.21, links) zeigt, dass diese kurzlebige ESA im gesamten Spektralbereich zwischen 460 nm und 680 nm auftritt.

Bei $\lambda_{probe} = 419$ nm (Abbildung 3.20, rechts) wird die negative Absorptionsänderung schnell abgebaut, allerdings wird der anfängliche Anstieg zwischen der ersten und zweiten Pikosekunde durch einen überlagernden Prozess abgeschwächt und umgekehrt, so dass nach etwa 10 ps ein Minimum erreicht wird. Erst danach geht die Kurve auf Null zurück.

Auch bei $\lambda_{probe} = 427$ nm wird der schnelle Zerfall der ESA nach wenigen hundert Femtosekunden durch

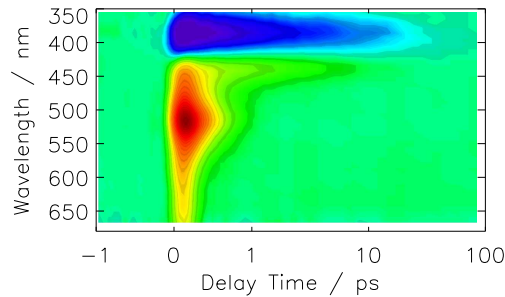


Abbildung 3.19: 2d-Graphik von NAOMe in DCM nach Anregung mit $\lambda_{exc}=387$ nm.

eine langsamere Komponente überlagert und der vollständige Zerfall dauert mehrere 10 ps.

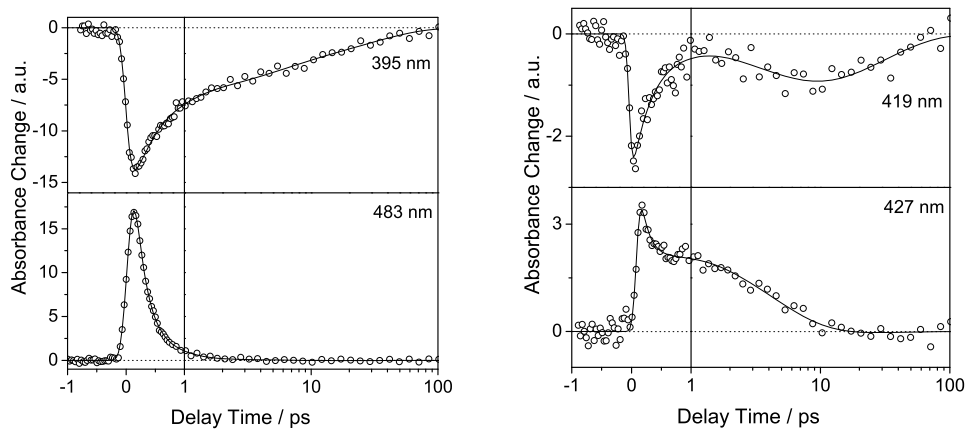


Abbildung 3.20: Einzelne Transienten von NAOMe in DCM nach Anregung mit $\lambda_{exc}=387$ nm.

Für eine gute Anpassung der Daten waren insgesamt vier Zerfallszeiten notwendig. Die zugehörigen DAS sind in Abbildung 3.21 (links) gezeigt.

Mit $\tau_1=170$ fs wird in erster Linie die ESA im Bereich zwischen 420 nm und 660 nm abgebaut. Das DAS zeigt keine negativen Amplituden, so dass mit dieser Zeit offensichtlich noch keine Repopulation des Grundzustands erfolgt.

Erst das DAS zu $\tau_2=0,4$ ps zeigt im Bereich der Absorption des Grundzustands negative Amplituden. Mit dieser Zerfallszeit verschwindet zudem die bei 0,5 ps noch zu beobachtende ESA, die ein Maximum bei 515 nm aufweist. Zwischen 580 nm und 680 nm treten schwache negative Amplituden auf, die möglicherweise die Signatur der stimulierten Emission sind. Wie bereits gezeigt, fluoresziert das Derivat sehr schwach und weit rotverschoben, was zu einer schnellen Zerfallszeit und einer negativen Absorptionsänderung in diesem Spektralbereich führen kann. Das Fluoreszenzspektrum ist in Abbil-

dung 3.21 (oben) gezeigt.

Die nach einer Pikosekunde noch bestehende schwache ESA zerfällt biphasisch mit den Zerfallszeiten $\tau_3 = 4,2$ ps und $\tau_4 = 30$ ps. Beide Zeitkonstanten tragen deutlich zur Wiederbevölkerung des Grundzustands bei.

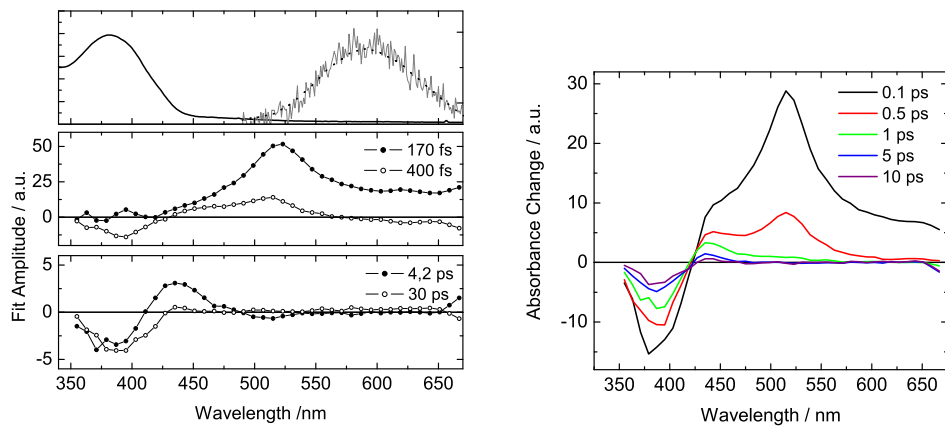


Abbildung 3.21: Links: DAS von NAOMe in DCM (Mitte und unten). Die ersten beiden DAS weisen deutlich höhere Amplituden auf, als die beiden unten gezeigten. Oben sind zusätzlich das Absorptions- und das Fluoreszenzspektrum (grau, die gepunktete Linie entspricht den geglätteten Daten) gezeigt. Rechts: Transiente Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

3.5 Interpretation und Diskussion

3.5.1 Fluoreszierende Derivate

Das Projekt ist durch das unterschiedliche Fluoreszenzverhalten von P.Y. 101 im Gegensatz zum unsubstituierten und nicht fluoreszierenden Naphthalazin (NA) motiviert. Da P.Y. 101 sowohl in kristalliner wie auch in gelöster Form fluoresziert, wohingegen NA in beiden Zuständen nicht fluoresziert und die Abstände im Kristall nahezu gleich groß sind, kann der Kristallabstand das unterschiedliche Fluoreszenzverhalten dieser beiden Derivate, wie bereits in der Einleitung erläutert, nicht begründen.

Messungen der Absorption und der Fluoreszenz

Aus der Lage der Absorptions- und Emissionsbanden können Rückschlüsse auf die elektronischen Übergänge und die Lage angeregter Niveaus relativ zueinander gemacht werden. Die Maxima der beobachteten Übergänge sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst. Der Stokesshift kann als Maß dafür herangezogen werden, wie groß die geometrische Änderung der Molekülstruktur von Grundzustand und niedrigstem elektronisch angeregten Zustand ist. Diese Information kann hilfreich sein, bei der Zuordnung beteiligter Molekülgeometrien. So haben zum Beispiel Untersuchungen von 2-(2'-Hydroxyphenyl)benzothiazol (HBT) von Lochbrunner et al. [21, 64] einen Stokesshift von etwa 7500 cm^{-1} zwischen dem Maximum der Absorption und der Emission in Cyclohexan ergeben. Dieser wurde so interpretiert, dass die Enolform von HBT im Grundzustand thermodynamisch stabiler ist und folglich angeregt wird, im angeregten Zustand findet aber ein ultraschneller intramolekularer Protonentransfer (ESIPT) statt, welcher dazu führt, dass hier die keto-Konformation eingenommen wird, die durch Emission in den Grundzustand relaxiert.

Bei den für P.Y. 101 und HMNA gefundenen Stokesverschiebungen ist eine definitive Zuordnung der beteiligten Konformere nicht ohne weitere Anhaltspunkte möglich. Im Falle von P.Y. 101 ist die Verschiebung deutlich kleiner als für HBT, was auf die Fluoreszenz aus der enol-Konformation hindeutet, die Verschiebung von etwa 6800 cm^{-1} bei HMNA könnte hingegen auf Emission aus der keto-Konformation resultieren.

Derivat	Abs. max			Em. max	Stokesshift
P.Y. 101	260 nm	332 nm	411 nm	512 nm	4800 cm^{-1}
HMNA	$\sim 255\text{ nm}^{1)}$	322 nm	395 nm	539 nm	6760 cm^{-1}
NA	250 nm		353 nm		
NAOMe	$\sim 260\text{ nm}^{1)}$	320 nm	382 nm	592 nm	9290 cm^{-1}

Tabelle 3.2: Absorption- und Emissionsmaxima, sowie Stokesshift von P.Y. 101 und seinen Derivaten.

¹⁾ Schulter, nicht aufgelöst

Zeitaufgelöste Messungen

Die zeitaufgelösten Messungen führen idealerweise zu einem Modell, welches die gemessenen Zerfallszeiten mit einem Energieschema korreliert.

Durch Absorption von Photonen bei 387 nm wird P.Y. 101 instantan vom Grundzustand in einen angeregten Zustand versetzt. Die Born-Oppenheimer-Näherung [8] zugrunde legend, erfolgt der elektronische Übergang senkrecht, bei gleich bleibenden Kernkoordinaten, in die sog. Franck-Condon-Region. Innerhalb weniger hundert Femtosekunden folgen die Kerne dieser Störung in Richtung einer energieärmeren Geometrie. Die ermittelte Zerfallszeit $\tau_2=0,2\text{ ps}$ entspricht einer solchen Bewegung. Die

Zerfallszeit $\tau_4 = 63$ ps ist aufgrund ihres DAS eindeutig mit der stimulierten Emission korreliert und kann somit als Rückgang in den Grundzustand unter Abgabe eines Photons interpretiert werden. Dies entspricht einer Dynamik wie man sie für ein System mit nur zwei beteiligten Energieniveaus (Grundzustand und erstem angeregtem Zustand) erwartet (siehe Abbildung 3.22). Die zusätzlichen Zerfallszeiten sowie die Signatur einer langlebigen Spezies erfordern allerdings eine Erweiterung dieses einfachen Schemas.

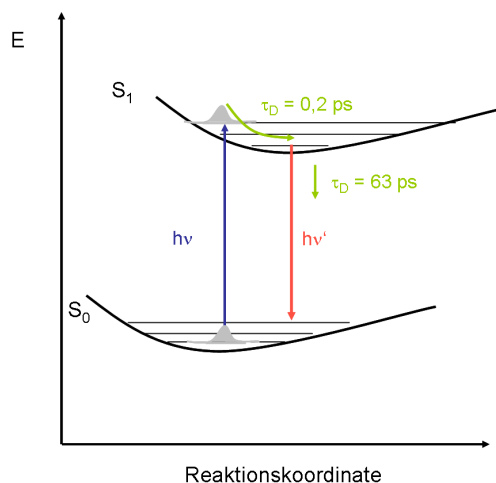


Abbildung 3.22: Einfaches Zweizustandsmodell

Um ein Modell zu entwickeln, welches den Befunden aus der zeitaufgelösten Messung gerecht wird, können einerseits weitere experimentelle Ergebnisse herangezogen werden, andererseits können auch quantenchemische Rechnungen Einblicke in die beteiligten Molekülgeometrien und Energieniveaus geben. Solche Rechnungen wurden im Arbeitskreis von A. Dreuw durchgeführt und sind in den Referenzen [23, 66, 83] detailliert beschrieben.

Konformere von P.Y. 101

Die beobachteten kinetischen Prozesse weisen auf die Beteiligung verschiedener Konformere von P.Y. 101 hin. Ausgehend davon, dass das trans-Diol das stabilste Konformer ist, wurden folgende konformationelle Änderungen bei der Interpretation der zeitaufgelösten Daten in Betracht gezogen:

- *Keto-enol-Tautomerie*
Die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen dem Hydroxy-H-Atom und dem Stickstoff des Bisazomethingerüsts ermöglicht einen schnellen Protonentransfer, der zu einer "keto"-Konformation (Abbildung 3.23) führt [64] und im Wesentlichen durch veränderte Bindungslängen der O-H-Bindung bzw. des N-H-Abstands definiert ist. Eine zusätzliche Aufhebung der Planarität kann eine solche Konformation stabilisieren.
- *Trans-cis-Isomerie*
Durch Rotation um die N-N-Bindung kann die stabile trans-Konformation in eine cis-Geometrie überführt werden, wie sie in Abbildung 3.24 dargestellt ist.
- *Endo-exo-Isomere*
Eine Drehung um die C-C-Bindung der Methin-Naphthylbindung führt zu endo- bzw. exo-Konformationen, wie in Abbildung 3.24 gezeigt ist.

Aufgrund des symmetrischen Aufbaus des Moleküls sind prinzipiell mono- wie auch di- Keto-/Enolformen möglich, sowie Kombinationen aus Tautomerie und Rotation. Dies führt zu einer Vielzahl möglicher

Geometrien.

Von Plötner und Dreuw [84] wurden insgesamt 16 Konformationen von P.Y. 101 auf der Basis von DFT- bzw. TDDFT-Rechnungen, auf ihre potentielle Beteiligung an der Dynamik, analysiert. Dabei konnten aufgrund energetischer Überlegungen zehn Konformere als unwahrscheinlich verworfen werden. Die übrigen sechs Konformere werden als trans-Diol, trans-(mono-)Keto, cis-Diol, cis-(mono-) Keto, sowie endo-Diol und endo- (mono) Keto bezeichnet.

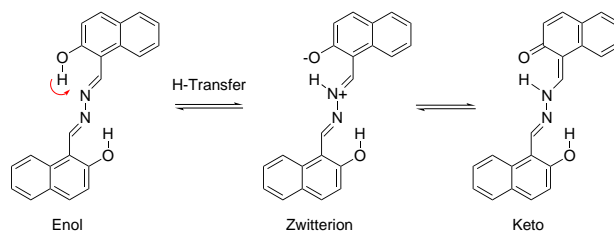


Abbildung 3.23: Konformationen von P.Y. 101

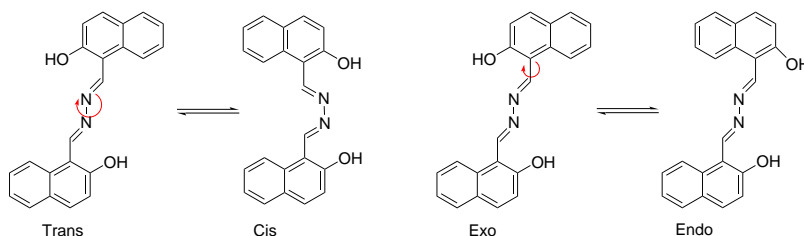


Abbildung 3.24: Konformationen von P.Y. 101. Links: trans-cis-Konformere, rechts: exo- und endo-Konformer.

Als Intermediat des Protonentransfers vom Hydroxy-Sauerstoff zum Bisazomethin-Stickstoff ist auch eine zwitterionische Spezies denkbar, wie sie in Abbildung 3.23 gezeigt ist. Die Lage des Gleichgewichts der Grenzstrukturen ist i.d.R. durch das Lösungsmittel beeinflussbar. In Dichlormethan (DCM), Cyclohexan (CH), Xylol (Xy) und Ethanol (EtOH) ist die Lage der Absorptionsmaxima nahezu identisch. Lediglich bei der Verwendung von Dimethylsulfoxid (DMSO) tritt eine neue Absorptionsbande zwischen 470 nm und 560 nm auf, die Maxima bei 490 nm und 520 nm aufweist (siehe Abbildung 3.25). Das Fluoreszenzspektrum nach Anregung bei 390 nm hat eine zusätzliche Fluoreszenzbande bei 550 nm, die flach ausläuft.

Diese Spezies wird in Dichlormethan bei statischen Messungen nicht beobachtet, könnte aber als kurzlebige Intermediat bei zeitaufgelösten Messungen eine Rolle spielen.

Aus den quantenchemischen Rechnungen gingen vier Konformere als für die Dynamik relevant hervor: Das trans-Diol als die stabilste Konformation, das entsprechende trans-keto-Isomer, welches durch Protonentransfer gebildet wird, sowie das cis-diol- und das cis-keto-Konformer. Eine wahrscheinliche Beteiligung dieser Konformere könnte in der folgenden Form stattfinden:

Die stabilste Geometrie im Grundzustand ist das trans-Diol, welches nach elektronischer Anregung bei 387 nm, verschiedene Konformationen einnehmen kann. Ein Hauptzerfallskanal ist die stimulierte Emission des angeregten trans-Diols. Ein schneller Protonentransfer führt zur Bildung des trans-keto-Konformers, welches durch Protonen-Rücktransfer mit dem trans-Diol im Gleichgewicht steht. Durch Torsion der keto-Konformation ist die Bildung des angeregten cis-keto-Konformers möglich. Auch hier kann ein keto-enol-Gleichgewicht angenommen werden. Durch Relaxation in den Grundzustand aus

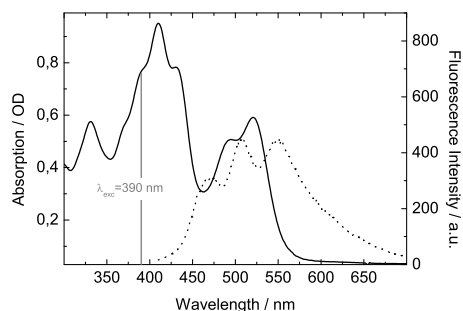


Abbildung 3.25: Absorptions- und Fluoreszenzspektrum von P.Y. 101 in DMSO.

einer cis-Geometrie heraus, entsteht ein verdrehtes Intermediat, welches außerhalb des Beobachtungszeitraums zurück in die trans-diol-Form relaxiert [84].

Dieses Modell ist geeignet, um die experimentellen Ergebnisse aus den zeitaufgelösten und statischen Messungen an P.Y. 101 in Dichlormethan zu interpretieren.

Vergleich der beiden fluoreszierenden Verbindungen

Prinzipiell sollten P.Y. 101 und HMNA vergleichbare Konformationen annehmen können. Die zusätzliche Methylgruppe von HMNA stellt allerdings eine sterische Barriere bei der Ausbildung von endo-Konformeren dar. Ein Vergleich von statischen Messungen, Zerfallszeiten, zerfallsassoziierten Spektren und langlebigen Komponenten wirft die folgenden Fragen auf:

1. *Woher resultiert die unterschiedliche Fluoreszenzquantenausbeute?*

Die Fluoreszenzquantenausbeuten unterscheiden sich deutlich. Während $\Phi_{fluo}(P.Y. 101) \sim 0,1$ ist, ist $\Phi_{fluo}(HMNA) \sim 0,001$.

2. *Wieso findet man unterschiedliche Zerfallszeiten?*

Die Zerfallszeiten der beiden Derivate sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst und zeigen eine deutliche Beschleunigung der Photoreaktionen bei HMNA.

3. *Welcher Prozess führt zur Bildung der langlebigen Komponente?*

Trotz unterschiedlicher Zerfallszeiten weisen beide Verbindungen nach 1,5 ns ein spektral nahezu identisches Intermediat auf.

Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_f kann nach Strickler und Berg [105] aus der Fluoreszenzlebensdauer τ_f und einer intrinsischen Lebensdauer τ_0 mit Gl. (3.1) abgeschätzt werden.

$$\Phi_f = \frac{\tau_f}{\tau_0} \quad (3.1)$$

Die intrinsische Lebensdauer kann aus den Absorptions- und Fluoreszenzspektren nach Gl. (3.2) ermittelt werden. Hierbei ist ϵ_{max} der Absorptionskoeffizient des Maximums der betrachteten Bande. Das Integral (Gl. 3.2) wird so ausgewertet, dass die Halbwertsbreite der Absorptionsbande die Grenzen des Integrals einer Auftragung von ϵ über $\tilde{\nu}$ bilden.

$$\frac{1}{\tau_0} = 2,880 \cdot 10^{-9} \cdot \epsilon_{max}^2 \cdot \int \epsilon d\tilde{\nu} \quad (3.2)$$

Setzt man die Fluoreszenzlebensdauern τ_f der beiden Verbindungen mit ihren Hauptzerfallskanälen gleich¹, welche die Signatur der stimulierten Emission tragen, so ergibt sich mit $\tau_{f,PY101}=65$ ps und

¹Dieses Verfahren stellt eine starke Vereinfachung dar, da die entsprechende Zerfallszeit keineswegs der reinen Fluoreszenzlebensdauer entspricht.

$\tau_{f,HMNA}=3$ ps und den intrinsischen Lebensdauern $\tau_{0,PY101} \sim 10$ ns und $\tau_{0,HMNA} \sim 9$ ns eine abgeschätzte Fluoreszenzquantenausbeute von $\Phi_{f,PY101} = 7 \cdot 10^{-3}$ und $\Phi_{f,HMNA} = 3 \cdot 10^{-4}$. Das Verhältnis entspricht der Tendenz der gemessenen Fluoreszenzquantenausbeuten. Die unterschiedliche gefundene Fluoreszenzlebensdauer der beiden Derivate korreliert also mit dem Verhältnis der Quantenausbeuten.

Die Zerfallszeiten der beiden Derivate sind in Tabelle 3.3 gegenübergestellt. Offensichtlich hat die Änderung der Molekülstruktur auch Einfluss auf die Dynamik. Bei beiden Systemen findet eine Geometrieänderung mit $\tau \approx 0,2$ ps statt. Auf dieser Zeitskala verschwindet der langwellige Anteil der Absorption des angeregten Zustands und die Besetzung eines Intermediats wird beobachtet. Die stimulierte Emission ist bei P.Y. 101 vor allem mit der Zerfallszeit $\tau_4=63$ ps korreliert, die bei HMNA mit $\tau_3=2,7$ ps deutlich kürzer ist. Auffällig ist der deutliche Unterschied in der 500 ps-Zeit bei P.Y. 101 verglichen mit $\tau_4 = 25$ ps bei HMNA. Die DAS weisen Gemeinsamkeiten, wie die spektral zum Absorptionsmaximum verschobenen negativen Amplituden, auf.

Derivat	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4	τ_5
P.Y. 101	< 100 fs	190 fs	3 ps	63 ps	500 ps
HMNA	<150 fs	0,9 ps	2,7 ps	25 ps	

Tabelle 3.3: Zeitkonstanten von P.Y. 101 und HMNA aus der globalen Anpassung der Daten

Die Bildung einer langlebigen Komponente wird bei beiden Derivaten beobachtet und die entsprechenden Spektren zur Verzögerungszeit $t = 1,5$ ns sind sehr ähnlich, wie die Überlagerung in Abbildung 3.26 zeigt. Der Bereich negativer Absorption ist jeweils mit der Absorption des Grundzustands korreliert. Die positive Absorptionsänderung passt im Falle von P.Y. 101 spektral zu der in DMSO beobachteten Absorptionsbande, die dem keto-Tautomer zugeordnet wurde. Auch im Falle von HMNA kann angenommen werden, dass das Intermediat auf die Bildung des keto-Tautomers zurückzuführen ist.

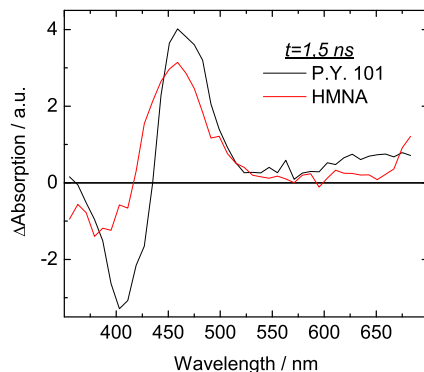


Abbildung 3.26: Transiente Spektren von P.Y. 101 und HMNA bei der Verzögerungszeit $t = 1,5$ ns.

3.5.2 Nicht-fluoreszierende Derivate

Die beiden Derivate NA und NAOMe wurden als "nichtfluoreszierend" eingestuft, wenngleich bei NAOMe eine geringe Fluoreszenzintensität in Dichlormethan detektierbar ist, die bei Messungen an der kristallinen Struktur nicht beschrieben wurde. Ein Vergleich der Dynamik der beiden Verbindungen unterstreicht allerdings deren Ähnlichkeit, vor allem im Vergleich zu den fluoreszierenden Derivaten. Aus den zeitaufgelösten Messungen wurden die folgenden Zerfallszeiten extrahiert:

Derivat	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
NA	140 fs	0,5 ps	12 ps	
NAOMe	170 fs	0,4 ps	4,2 ps	30 ps

Tabelle 3.4: Zeitkonstanten von NA und NAOMe aus der globalen Anpassung der Daten.

Vergleicht man die Amplituden, so kann man jeweils τ_1 und τ_2 den gleichen Prozessen zuordnen. Das DAS zu τ_1 kann mit einer Bewegung aus der Franck-Condon-Region korreliert werden, die zu einer Abnahme der Intensität und der spektralen Breite der ESA führt, aber keinen Beitrag zur Repopulation des Grundzustands liefert. Mit $\tau_2 \sim 0,5 \text{ ps}$ findet eine weitestgehende Auslöschung der ESA statt unter Wiederherstellung des Ausgangszustands. Im Falle von NAOMe wurden zwei weitere Zerfallszeiten angepasst, die beide sehr ähnliche DAS aufweisen, welche vergleichbar sind mit dem DAS von NA zu $\tau_3 = 12 \text{ ps}$. Dieses hat nur noch einen schmalen Bereich mit positiver Amplitude und trägt ebenfalls zur Repopulation des Grundzustands bei.

Eine schlüssige Interpretation dieser Daten konnten DFT-/TDDFT-Rechnungen liefern und wurden in entsprechenden Publikationen [23,66,83] vorgestellt und diskutiert. Die wichtigsten Ergebnisse werden im Folgenden vorgestellt.

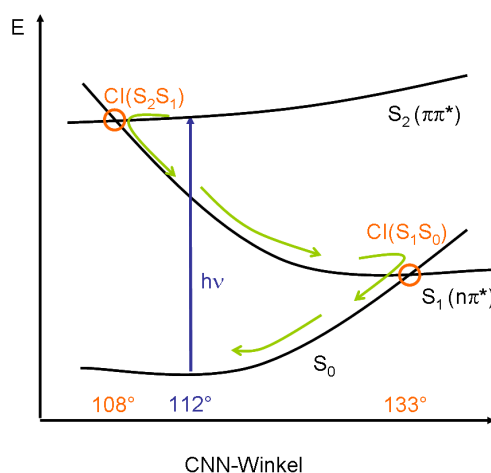


Abbildung 3.27: Schematische Wiedergabe des Modells für die strahlungsfreie Relaxation von angeregtem NA entlang des CNN-Winkels nach Dreuw et al. [23]. Die angegebenen Winkel für die konischen Durchschneidungen entsprechen den Ergebnissen der TDDFT-Rechnungen.

Ergebnisse der DFT-/TDDFT-Rechnungen

Betrachtet man das Absorptionsspektrum von NA, so findet man eine Bande im sichtbaren Spektralbereich bei 355 nm. Wie die quantenchemischen Rechnungen zeigten, handelt es sich hierbei um einen

$\pi\pi^*$ -Übergang. Es zeigte sich, dass NA aber über einen energetisch niedrigeren Zustand verfügt, der einem optisch verbotenen $n\pi^*$ -Übergang entspricht. Dessen Oszillatorstärke ist so gering, dass er im Absorptionsspektrum nicht auftaucht. Nach Anregung des optisch erlaubten Übergangs wird über diesen Zustand die Fluoreszenz effektiv gelöscht, da eine konische Durchschneidung von S_2 und S_1 ($CI(S_2S_1)$) zu einer schnellen Konversion führt. Eine Fluoreszenz aus dem S_1 -Zustand wird durch eine weitere konische Durchschneidung $CI(S_1S_0)$ verhindert, die eine schnelle strahlungsfreie Konversion in den Grundzustand bewirkt. Der Prozess der strahlungslosen Deaktivierung nach diesem Modell ist schematisch in Abbildung 3.27 gezeigt.

3.6 Zusammenfassung

Die Fluoreszenz von P.Y. 101 im Vergleich zum unsubstituierten Naphthalazin, welches nicht fluoresziert, stellte den Ausgangspunkt für die zeitaufgelösten Messungen dar. Dieses Verhalten konnte durch die Zusammenführung experimenteller Befunde und quantenchemischer Rechnungen aufgeklärt und verstanden werden.

Im Falle der nichtfluoreszierenden Derivate wird das effiziente Löschen der Fluoreszenz durch einen Zustand ermöglicht, der energetisch (bezogen auf die Grundzustandsgeometrie) unterhalb des $S(\pi\pi^*)$ -Zustands liegt, dessen Potentialkurve aber bei einem CNN-Winkel von 108° die $S(\pi\pi^*)$ -Kurve schneidet ($CI(S_2S_1)$). Eine weitere konische Durchschneidung dieser Potentialfläche mit dem Grundzustand ($CI(S_1S_0)$) bei einem CNN-Winkel von 133° , ermöglicht eine strahlungsfreie Relaxation aus dem angeregten Zustand zurück in den Grundzustand.

Im Falle von P.Y. 101 ist die Reihenfolge der angeregten Zustände, bedingt durch die stabilisierende Wasserstoffbrücke der planaren Konfiguration so, dass der optisch erlaubte Übergang in den tiefsten angeregten Zustand führt. Von diesem gibt es keinen schnellen, strahlungslosen Übergang in den Grundzustand, welcher vornehmlich durch stimulierte Emission bzw. Fluoreszenz repopuliert wird.

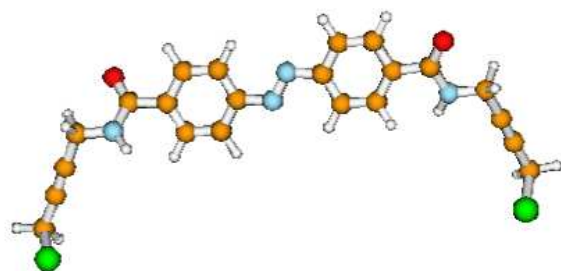
Das Auftreten von Fluoreszenz hat sich somit als eine intrinsische (d.h. molekulare) Eigenschaft der untersuchten Verbindungen erwiesen, die unabhängig von der Probenform (kristallin, mikrokristallin oder gelöst) ist und durch die Orbitalenergien der angeregten Zustände bedingt ist.

Die Dynamik von P.Y. 101 erwies sich allerdings als komplexer, als zunächst angenommen. Die zeitaufgelösten Messungen zeigten, dass die stimulierte Emission zwar den Hauptzerfallskanal darstellt, dass aber weitere Reaktionskanäle die Dynamik verkomplizieren. Vor allem die Formation des keto-Tautomers, welches durch einen Protonentransfer vom Enol-Sauerstoff zum Stickstoff des Bisazomethins möglich ist, stellt eine Nebenreaktion dar, die zur Bildung eines langlebigen Intermediats führt. Dieses ist thermisch nicht stabil und reagiert innerhalb von Mikrosekunden zurück zum Enol. Auch in mikrokristallinem Zustand, der durch Einbetten von P.Y. 101 in eine PVC-Folie hergestellt wurde, bleibt die Komplexität der Dynamik erhalten, ist allerdings im Vergleich zur Dynamik in Lösung verlangsamt, was durch die eingeschränkte Flexibilität oder die Mikroumgebung der Moleküle bedingt sein kann.

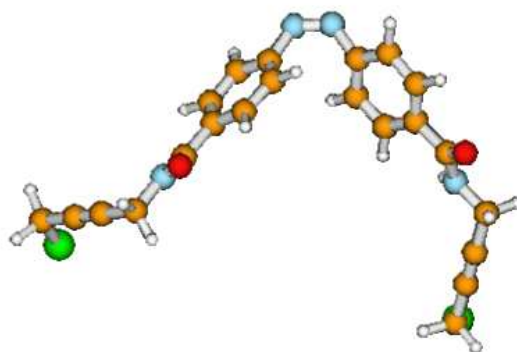
Das Anbringen zusätzlicher Methylgruppen am Bisazomethin-Kohlenstoff führt zu einer Verringerung der Fluoreszenzquantenausbeute, was mit einer verkürzten Lebensdauer der Enolkonformation im angeregten Zustand erklärt werden kann. Dennoch wird auch bei diesem Derivat eine intermediäre keto-Konformation gebildet.

Kapitel 4

Isomerisierung von Azobenzolderivaten



340 nm \rightleftharpoons 430 nm



4.1 Einleitung

Photoreaktionen stellen ein interessantes Gebiet innerhalb der Chemie dar, da sie ohne den Einsatz von Chemikalien ablaufen und somit Aufreinigungs- oder Trennungsstufen zum Teil eingespart werden können. Für den synthetisch arbeitenden Chemiker sind in erster Linie Ringöffnungs- bzw. Ringschlussreaktionen sowie Umlagerungen von Interesse. Im Bereich der physikalischen Chemie spielen vor allem Photolyse und Isomerisierungsreaktionen eine wichtige Rolle. Die Photolyse umfasst den Bruch einer kovalenten Bindung durch Bestrahlung. Dieses Konzept liegt den "Caged compounds" [68], also den geschützten Komponenten zugrunde, bei denen der eigentliche Reaktionspartner lichtinduziert freigesetzt wird und ein Prozess somit zeitlich abgestimmt werden kann. Diese Reaktionen sind allerdings nicht reversibel.

Die Gruppe der so genannten "Photoschalter" umfasst Verbindungen die reversibel zwischen zwei Zuständen hin und her geschaltet werden können. Dabei kommen z.B. Schalter zum Einsatz, die auf einer Ringschluss- und Ringöffnungsreaktion basieren, wie die Fulgimide [49, 50], Fulgide [42], und Mero-cyanin/ Spiropyran-Systeme [103], sowie Schalter die eine lichtinduzierte trans-cis- (E/Z)-¹ Isomerisierung um eine Doppelbindung, wie in Abbildung 4.1 gezeigt, vollziehen. Beispiele sind Stilbene, Hemithioindigo [104] oder Azobenzol. Diese sind in der Regel thermisch oder photochemisch reversibel. Zu den vielleicht am häufigsten und am vielseitigsten eingesetzten Photoschaltern gehört Azobenzol. Bei dieser Verbindung handelt es sich um ein relativ einfaches Molekül, bei dem zwei Benzolringe über eine di-Azobindung miteinander verbrückt sind. Das Molekül besteht aus nur 24 Atomen (C₁₂H₁₀N₂), mit einer Molekularmasse von 182 g/mol und ist tief orange gefärbt.

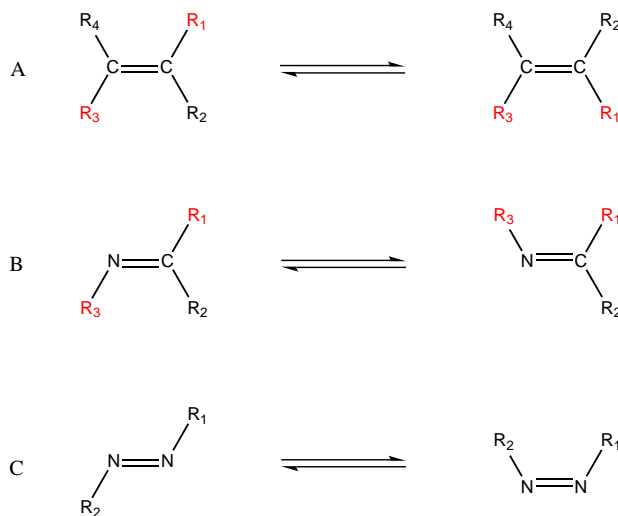


Abbildung 4.1: Trans-cis-Isomerisierung um eine C=C-, C=N- bzw. N=N-Doppelbindung.

¹Nach der neueren Nomenklatur werden trans und cis auch mit 'E' und 'Z' bezeichnet, wobei hier an den alten Bezeichnungen festgehalten wird.

4.2 Azobenzolisomerisierung

Azobenzol (AB) ist seit spätestens 1856 literaturbekannt und seither Gegenstand der Forschung [78]. Dass zwei Isomere existieren wurde bereits 1910 von Gortner [35] publiziert, allerdings war der Einfluss von Licht zu diesem Zeitpunkt noch nicht bekannt und sollte auch erst vierzig Jahre später beschrieben werden [26, 115]. In Abbildung 4.2 ist die trans-cis-Isomerisierung gezeigt, sowie die Absorptionsspektren von trans-Azobenzol und einem durch Belichtung bei 330 nm hergestelltem trans:cis-(30:70) Gemisch in Methanol. Durch Subtraktion des trans-Anteils und anschließender Skalierung erhält man das berechnete Spektrum von reinem cis-AB, welches als gestrichelte Linie zusätzlich eingezeichnet ist. Trans-AB hat zwei charakteristische Banden im nahen UV bzw. Sichtbaren: Die dem $\pi\pi^*$ -Übergang entsprechende Bande bei 315 nm, die sich durch einen hohen Absorptionskoeffizienten auszeichnet und die schwache Bande bei 430 nm die dem optisch verbotenen $n\pi^*$ -Übergang zugeordnet wird, welcher eine sehr geringe Oszillatorstärke hat und folglich einen kleinen Absorptionskoeffizienten (vgl. Tabelle 4.1). Beim cis-AB weist der $n\pi^*$ -Übergang eine deutlich höhere Oszillatorstärke auf, verändert seine spektrale Lage aber kaum. Der entsprechende $\pi\pi^*$ -Übergang ist weit in den UV-Bereich hinein verschoben und das Absorptionsmaximum liegt bei 240 nm.

Isomer	$\lambda_{max,\pi\pi^*}$ / nm	ϵ / $mol \cdot l^{-1} \cdot cm^{-1}$	$\lambda_{max,n\pi^*}$ / nm	ϵ / $mol \cdot l^{-1} \cdot cm^{-1}$
trans-AB	316	21000	445	550
cis-AB	279	4300	428	1200

Tabelle 4.1: Absorptionskoeffizienten von trans- und cis-Azobenzol in Acetonitril (entnommen aus [19])

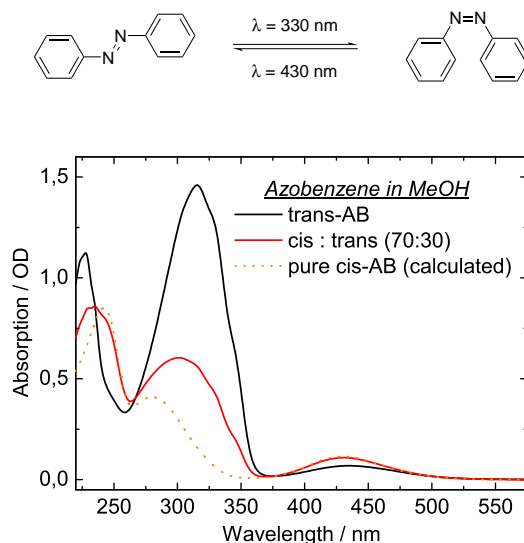


Abbildung 4.2: Trans-cis-Isomerisierung von Azobenzol. Durch Belichten des trans-Isomers (schwarz) bei 330 nm kann das cis-Isomer (maximal bis zum Erreichen des photostationären Zustands) akkumuliert werden (rot). Das Spektrum nach Subtraktion des trans-Anteils ist gepunktet dargestellt.

Der Energieunterschied zwischen den Konformeren im elektronischen Grundzustand beträgt etwa 0.6 eV und eine Energiebarriere von etwa 1 eV trennt die Isomere [18]. Dies führt dazu, dass die cis-Form bei

Raumtemperatur labil ist und mit der Zeit zurück isomerisiert. Die Halbwertszeit ist dabei abhängig von der Temperatur und vom Lösungsmittel und beträgt z.B. 94 Stunden in Tetrachlorkohlenstoff oder 198 Stunden in Aceton, jeweils bei 25°C [38]. Demgegenüber ist die lichtgesteuerte Isomerisierung, die in etwa einer Pikosekunde abläuft, ungefähr siebzehn Größenordnungen schneller.

4.2.1 Photochemie und Kinetik

Die Beschreibung der Dynamik der Azobenzolisomerisierung kommt nicht ohne die Definition einiger Begriffe aus, die verschiedene Prozesse und Zustände voneinander abtrennen.

Photostationäres Gleichgewicht (PSS)

Bei allen Derivaten ohne "exotische" Substituenten² ist die trans-Form die stabilere Konformation. Die lichtinduzierte Isomerisierung liefert in Abhängigkeit vom Lösungsmittel und den Substituenten einen Anteil cis-Isomer. Als photostationären Zustand bezeichnet man das kleinstmögliche Verhältnis von trans- zu cis-Isomer, welches durch kontinuierliche Belichtung bei einer bestimmten Wellenlänge erreicht und statisch festgestellt werden kann. Der Begriff ist nur dann sinnvoll, wenn die thermische Rückreaktion langsam ist. Im günstigsten Fall liegt das PSS nahe bei 100%, im Realfall allerdings immer darunter. Bei einigen "unglücklichen" Kombinationen kann aufgrund der thermischen Rückisomerisierung statisch überhaupt keine Bildung des cis-Isomers festgestellt werden. Bekannt hierfür sind Hydroxy-substituierte Derivate, wie z.B. 4-Hydroxyazobenzol in Acetonitril [47]. Bei Raumtemperatur zeigt das Spektrum der trans-Konformation bei Belichtung mit 366 nm keine Veränderung. Dass die Isomerisierung stattfindet, zeigten Experimente bei 230 K, wo ein PSS von etwa 90% cis-Anteil erreicht wurde, sowie die Isomerisierung bei Raumtemperatur in Benzol, wo sich ein PSS bei 85% cis-Anteil einstellte.

Quantenausbeute der Isomerisierung

Die Quantenausbeute der Isomerisierung Φ_I ist definiert als:

$$\Phi_I = \frac{\text{Anzahl der Photonen die zur Isomerisierung führen}}{\text{Anzahl eingestrahelter Photonen}}$$

Um die Quantenausbeute einer trans-cis-Isomerisierung experimentell zu bestimmen gibt es unterschiedliche Verfahren [88]. Für Azobenzol wurden die Quantenausbeuten für die trans \rightarrow cis- (Φ_C) sowie für die cis \rightarrow trans-Reaktion (Φ_T) bereits 1958 von Zimmerman et al. [115] bestimmt. Die Quantenausbeute ist abhängig von der Polarität des Lösungsmittels [99]. Die Ergebnisse zweier unterschiedlicher Bestimmungen sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst. Aus den Daten wird deutlich, dass die Quantenausbeute bei der cis-trans-Isomerisierung (Φ_T) deutlich größer ist, als bei trans-cis-Isomerisierung (Φ_C) und dass die Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs zu größeren Quantenausbeuten führt als die Belichtung in der $\pi\pi^*$ -Bande. Kennt man die Quantenausbeute einer Verbindung, so ist es möglich, mittels Referenzmessungen relativ einfach die Quantenausbeute vergleichbarer Systeme abzuschätzen [79].

Zusammenhang zwischen PSS und Φ_I

Die Beziehung 4.1 stellt einen häufig zur Bestimmung der Quantenausbeute herangezogenen Zusammenhang zwischen dem photostationären Zustand und der Quantenausbeute her.

$$\left(\frac{[trans]}{[cis]} \right)_{pss} = \frac{\Phi_C}{\Phi_T} \cdot \frac{\epsilon_{trans}}{\epsilon_{cis}} \quad (4.1)$$

²Die Synthese von Derivaten, in denen die cis-Konformation begünstigt ist, sollte möglich sein, allerdings wurden keine Literaturbeispiele gefunden.

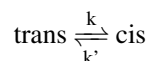
Angeregter Übergang	Lösungsmittel	T → C (Φ_C)	C → T (Φ_T)	Lit.
$\pi\pi^*$	n-Hexan	0,11	0,27	[9]
	Isooktan	0,11	0,42	[115]
$n\pi^*$	n-Hexan	0,25	0,56	[9]
	Isooktan	0,24	0,48	[115]

Tabelle 4.2: Quantenausbeuten der Isomerisierung von Azobenzol in unterschiedlichen Lösungsmitteln

Dabei ist $\left(\frac{[trans]}{[cis]}\right)_{PSS}$ das Verhältnis der Konzentrationen von trans und cis im photostationären Zustand, Φ_T bzw. Φ_C die Quantenausbeuten beider Isomerisierungsrichtungen und ϵ_{trans} bzw. ϵ_{cis} sind die molaren Extinktionskoeffizienten beider Spezies [9].

Kinetik der thermischen Isomerisierungsreaktion

Allgemein kann man für die Isomerisierung ein Geschwindigkeitsgesetz für Gleichgewichtsreaktionen aufstellen. Für die Reaktion



mit den Geschwindigkeitskonstanten k und k' für die Hin- bzw. Rückreaktion. Allerdings läuft nur die Isomerisierung von cis nach trans freiwillig ab.

Thermische Isomerisierung

Zur Untersuchung der Kinetik der thermischen Isomerisierung wird zunächst der photostationäre Zustand (PSS) mit der maximal möglichen Konzentration des cis-Isomers, durch Belichten bei einer Wellenlänge, hergestellt. Hin- und Rückreaktion, bzw. die Konzentrationen von trans- $[T]$ und cis- $[C]$ Isomer, befinden sich also im Gleichgewicht und es gilt:

$$[T]_{PSS} \cdot k = [C]_{PSS} \cdot k' \quad (4.2)$$

Der Zeitpunkt, zu dem die Belichtung gestoppt wird, wird als Zeitnullpunkt der thermischen Relaxation definiert. Betrachtet man nun die Einstellung des thermischen Gleichgewichts, kann man entweder die Zunahme des trans- oder die Abnahme des cis-Isomers als Funktion der Zeit aufzeichnen [38]. Grundsätzlich erwartet man bei dieser Art von Reaktion ein exponentielles Anwachsen der Konzentration des trans-Isomers nach Gl. (4.3).

$$\frac{d[T]_t}{dt} = [T]_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (4.3)$$

Eine Auftragung von $\ln([T]_t)$ über der Zeit (t) ergibt dann einen linearen Zusammenhang. Aus der Geradengleichung kann dann die Geschwindigkeitskonstante k ermittelt werden, die wiederum direkt mit der Halbwertszeit über

$$\tau_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2 - \ln [T]_0}{k} \quad (4.4)$$

zusammenhängt.

Temperaturabhängigkeit

Aus Gleichung 4.2 definiert man die Gleichgewichtskonstante K der Isomerisierung über

$$\frac{[C]_{PSS}}{[T]_{PSS}} = \frac{k}{k'} = K \quad (4.5)$$

Die Temperaturabhängigkeit wird durch die von Arrhenius formulierte Gesetzmäßigkeit (Gl. 4.6) beschrieben, wobei T die Temperatur ist, E_a die Aktivierungsenergie für die cis \rightarrow trans-Isomerisierung und R die Gaskonstante.

$$\frac{d \ln K}{d(\frac{1}{T})} = -\frac{E_a}{R} \quad (4.6)$$

4.2.2 Mechanismus der Isomerisierung

Bis heute wird der eigentliche Mechanismus, der schon Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts entdeckten Isomerisierung, auf der Grundlage vieler experimenteller Befunde und quantenchemischer Rechnungen, kontrovers diskutiert. Zwei der wichtigsten Befunde, die die Beschreibung dieses Prozesses so schwierig machen sind die Folgenden:

- Die Verletzung der Kasha-Regel
Die Regel von Kasha wurde für emittierende Systeme aufgestellt und besagt, dass die Emission einer gegebenen Multiplizität immer aus dem niedrigsten angeregten Energieniveau dieser Multiplizität stattfindet [46]. Dass die Quantenausbeute der Isomerisierung von Azobenzol davon abhängt, welcher Übergang angeregt wurde (wie Tabelle 4.2 zeigt), wird in Analogie häufig als eine 'Verletzung der Regel von Kasha' bezeichnet.
- Sterisch eingeschränkte Azobenzolderivate
Kronetherverbrückte Azobenzolderivate wurden synthetisiert und auf ihre Quantenausbeute hin untersucht [87]. Diese war unabhängig vom angeregten Übergang. Aus diesem Befund wurde abgeleitet, dass bei sterisch ungehinderten Derivaten der Mechanismus der Isomerisierung abhängig vom angeregten Übergang ist.

Die bereits in den 50er Jahren gewonnene Erkenntnis, dass die Quantenausbeute der Isomerisierung abhängig davon ist, ob der $n\pi^*$ - oder der $\pi\pi^*$ -Übergang von trans- bzw. cis-Azobenzol angeregt wurde, wird häufig als "Verletzung der Regel von Kasha" bezeichnet. Diese aus rein statischen Experimenten gewonnenen Ergebnisse wurden durch eine Vielzahl zeitaufgelöster Experimente ergänzt. Diese sollten zur Klärung des Isomerisierungsmechanismus beitragen, da bei diesen Experimenten direkt der angeregte Zustand abgefragt werden kann. Dabei spielen transiente Absorptionsmessungen im Sichtbaren [59, 74] und mittleren Infraroten [36] ebenso eine Rolle wie Fluoreszenzmessungen [67], Anisotropieexperimente [17], Ramanstreuexperimente [30] und zeitaufgelöste Photoelektronenspektroskopie [97]. Eine eindeutige Klärung des Isomerisierungsmechanismus auf der Grundlage der gewonnenen Ergebnisse steht allerdings bis heute aus.

Ebenso konnten die unterschiedlichsten Ansätze aus dem Bereich der theoretischen Chemie noch keine endgültige Lösung des Problems aufzeigen. Vor allem frühere Arbeiten gingen bei der Beschreibung der Dynamik von zwei Grenzfällen des Isomerisierungsmechanismus aus, die erklären sollten, auf welchem Weg die beiden Benzolringe ihre Lage zueinander verändern und wieso diese geometrische Änderung abhängig von der Anregungsenergie ist. Die unterschiedlichen Modelle werden im Folgenden vorgestellt.

Modellvorstellungen des Isomerisierungsmechanismus

Die geometrischen Veränderungen bei der Isomerisierung sind in Abbildung 4.3 gezeigt. Dabei stehen zwei Szenarien im Vordergrund der Diskussion:

i) Inversion

Als Reaktionskoordinate wird hier der CNN-Winkel betrachtet. Hält man die zweite Hälfte des Moleküls fest und verändert nur einen CNN-Winkel, so schwingt der Benzolring in einer Ebene in seine neue Position durch. Da die cis-Konformation nicht planar ist, werden simultan natürlich auch andere Geometrieänderungen stattfinden.

ii) Rotation

Bei diesem Modell wird um die N-N-Doppelbindung gedreht. Die Ebenen der Benzolringe stehen hier zwischendurch senkrecht zueinander.

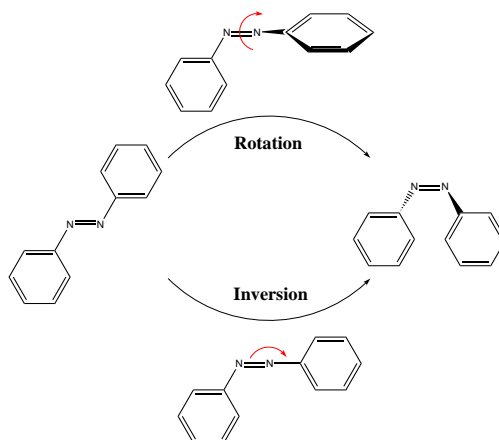


Abbildung 4.3: Isomerisierungsmoden von Azobenzol. Die Rotation entspricht einer Drehung um den Dihedralwinkel aus der Zeichenebene heraus. Bei der Inversion wird der NNC-Winkel so verändert, dass ein Benzolring in der Ebene die Seite wechselt.

Neben diesen beiden Modellen existiert eine Reihe von komplexeren Modellen, bei denen weitere Reaktionskoordinaten und kombinierte Moden betrachtet werden. Ein Beispiel hierfür ist der sogenannte 'Hula-Twist-Mechanismus', der von Fuß et al. [31] für die Isomerisierung von Stilben diskutiert, und auch für die Beschreibung der Photochemie von Provitamin D [70] herangezogen wurde.

Isomerisierung im elektronischen Grundzustand

Für die Isomerisierung im Grundzustand, also die thermische cis \rightarrow trans-Isomerisierung, ist der Inversionsmechanismus für viele Derivate unumstritten [20].

Isomerisierung nach elektronischer Anregung

Für die Isomerisierung im elektronisch angeregten Zustand existieren allerdings unterschiedliche Modelle:

- *Isomerisierung via $n\pi^*$ -Anregung*

Die eigentliche Isomerisierung findet auf der Potentialfläche des ersten angeregten Zustands (S_1) statt. Es herrscht mittlerweile weitgehende Einigkeit darüber, dass die Hauptbewegung eine Torsion um die N-N-Doppelbindung ist [18, 20, 22]. Eine konische Durchschneidung führt vom ersten angeregten Zustand zurück in den Grundzustand.

- *Isomerisierung via $\pi\pi^*$ -Anregung*

Für diesen Prozess gibt es unterschiedliche, denkbare Mechanismen und jedwede Theorie muss zugleich versuchen, der unterschiedlichen Quantenausbeute, beim Vergleich von $n\pi^*$ und $\pi\pi^*$ -

Anregung, Rechnung zu tragen. Neben der eigentlichen Haupt-Isomerisierungsordinate, sind hier auch die beteiligten Zustände Gegenstand der Diskussion. Während in früheren Arbeiten vor allem der erste und zweite angeregte Zustand sowie die Rotations- und Inversionsordinate diskutiert wurden, werden in den jüngeren Publikationen auch die Beteiligung höher angeregter Zustände gezeigt [18,97].

Die Frage, ob die Isomerisierung bereits im zweiten angeregten Zustand stattfindet, oder ob eine schnelle Konversion in den ersten angeregten Zustand vor der eigentlichen Isomerisierung steht, wurde durch experimentelle Arbeiten und quantenchemische Rechnungen dahin gehend beantwortet, dass die Isomerisierung im ersten angeregten Zustand stattfindet [18,22,95].

Die unterschiedlichen Quantenausbeuten nach Anregung des $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Übergangs erklären Conti et al. [18] damit, dass ein Teil der in den S_2 -Zustand angeregten Moleküle, auf dem Weg in das Potentialminimum, strahlungslos zurück in den Grundzustand gelangt, was die Quantenausbeute im Vergleich zur $n\pi^*$ -Anregung verringert.

4.2.3 Einfluss von Substituenten

Der Einfluss von Substituenten am Azobenzolgrundgerüst ist in vielerlei Hinsicht von Interesse. Die Eigenschaften des Photoschalters können durch Substituenten unterschiedlichen Anwendungen angepasst werden. So ist die thermische Stabilität ebenso modifizierbar wie die physikalischen Eigenschaften (z.B. Dipolmoment, spektrale Lage der elektronischen Übergänge). Eine ausführliche und systematische Studie über den Einfluss von Substituenten auf die sterischen und thermischen Eigenschaften findet sich in [77,113].

Rau [87] hat eine Klassifizierung der Azobenzolderivate vorgenommen, die die Substituenten und die physikalischen Eigenschaften beinhaltet:

- Azobenzolartige Derivate
In diese Gruppe fallen alle Derivate, deren Absorptionsbanden denen von unsubstituiertem Azobenzol sehr ähnlich sind und die kaum Solvatochromie zeigen. Vertreter sind Derivate mit elektronenziehenden Substituenten.
- Amino-Azobenzole
Substituiert man H-Atome des Azobenzols durch eine Aminogruppe, resultiert eine bathochrome Verschiebung der $\pi\pi^*$ -Bande, die zudem empfindlich auf die Lösungsmittelpolarität reagiert.
- Pseudo-Stilbene (Push-Pull-substituierte Azobenzolderivate)
Durch Einbringung eines elektronenziehenden und eines elektronenschiebenden Substituenten an den beiden Benzolgruppen, wird ein großes statisches Dipolmoment induziert. Der intensive $\pi\pi^*$ -Übergang wird dabei häufig soweit bathochrom verschoben, dass er den $n\pi^*$ -Übergang überlagert. Die Absorptionsspektren sind sehr sensitiv für die Lösungsmittelpolarität. Beispiele für diese Gruppe sind 4,4'-APB oder 'Dispers Rot 1' (N-ethyl-N-(2-Hydroxyethyl)-4-(4-nitrophenylazo)-Anilin).

Mit den nun folgenden Ergebnissen aus zeitaufgelösten Messungen an Azobenzolderivaten soll der Einfluss der Substituenten auf die Dynamik der Isomerisierung untersucht werden. Diese Experimente waren maßgeblich von der Fragestellung motiviert, inwiefern ein gegebenes Substitutionsmuster eine Vorhersage über die Dynamik der Isomerisierung ermöglicht, bzw. ob die Dynamik überhaupt von den Substituenten beeinflusst wird.

Von Mustroph und Epperlein [72] wurde bereits 1980 gezeigt, dass die Absorptionsmaxima von Azobenzolderivaten empirisch abgeschätzt werden können. Die Idee ist angelehnt an das so genannte 'Hammett-Prinzip' [37].

Die Absorptionsmaxima lassen sich durch ein Inkrementsystem beschreiben [71–73] und es gelten die folgenden empirischen Regeln (die Bezeichnungen beziehen sich auf Abbildung 4.4):

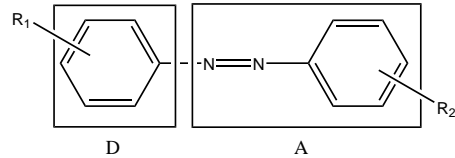


Abbildung 4.4: Donor-Akzeptorsubstitution von Azobenzol (nach [73]). D=Phenylgruppe mit Donorsubstituent, A=Akzeptorteil

- Donorsubstituenten in der Phenylgruppe (R_1 =Alkyl, OR, NR_2) bewirken eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums.
- Wird die Elektronenaffinität des Akzeptorteils durch Substituenten (wie zum Beispiel R_2 = NO_2 , SO_2CF_3 , CN, $COCH_3$) erhöht, resultiert ebenfalls eine Rotverschiebung der Absorptionsbande. Der Einfluss ist aber vergleichsweise geringer als der von Donorsubstituenten.
- Bei Donor-/Akzeptorsubstitution ist die resultierende Verschiebung stärker langwellig, als es aus der Summe der Einzelverschiebungen zu erwarten wäre.
- Werden an beiden Teilsystemen Donorsubstituenten eingesetzt, so ist die bathochrome Verschiebung geringer, als es aus der Summe der Einzelverschiebungen zu erwarten wäre.

Inwiefern sich die Substitution von Azobenzol auf die Dynamik nach Photoanregung auswirkt, ist abhängig vom genauen Mechanismus der Isomerisierung und der Potentialflächen der beteiligten Zustände.

4.3 Experimente an Azobenzolderivaten

Bei den hier durchgeführten Experimenten sollte der Einfluss von Substituenten am Azobenzolgrundgerüst untersucht werden. Dazu wurden zeitaufgelöste Messungen an unterschiedlichen Derivaten vorgenommen, die sich durch die Art und die Anordnung der Substituenten unterscheiden.

Die unterschiedlichen Proben wurden alle im Arbeitskreis von Prof. Rück-Braun synthetisiert [85]. Dort wurden auch die thermische cis \rightarrow trans-Isomerisierung sowie die Absorptionseigenschaften der beiden Isomere untersucht.

4.3.1 Experimenteller Teil

Die Anreg-Abtast-Experimente wurden mit dem in Kapitel 2.1 beschriebenen Aufbau durchgeführt. Die Anregpulse bei einer Wellenlänge von 340 nm wurden durch Summenfrequenzmischung der Laserfundamentale mit 650 nm-Pulsen aus dem NOPA erzeugt. Die Zeitauflösung lag im Bereich von 300 fs. Anregpulse bei 480 nm wurden direkt aus dem NOPA erhalten und anschließend in einem Prismenkompressor verkürzt. Die Zeitauflösung bei Anregung mit dieser Wellenlänge lag bei etwa 150 fs. Zum breitbandigen Abtasten der Proben von 340 bis 700 nm wurde die Laserfundamentale in ein in x-y-Richtung bewegtes Kalziumfluoridfenster fokussiert.

Die Messungen wurden in Quarzglas-Küvetten von 1 mm Schichtdicke durchgeführt. Die Proben wurden so konzentriert, dass die optische Dichte bei der Anregungswellenlänge zwischen 0,7 und 1,5 betrug. Bei Anregung mit 480 nm wurde dies nicht bei allen Proben erreicht. Aufgrund ihrer Löslichkeit wurden die Proben in unterschiedlichen Lösungsmitteln aufbereitet. Je nach Probe wurden Methanol, Dimethylsulfoxid oder Dichlormethan in analytischem Reinheitsgrad verwendet.

Die Proben wurden vor und während der Messung der trans-cis-Isomerisierung statisch belichtet. Das Licht einer Quecksilber-Xenon-Lampe (Hamamatsu LC8) wurde mittels BG3 und GG420-Filter der Firma Schott gefiltert, so dass eine Belichtung in der $n\pi^*$ -Bande bei 400 bis 500 nm gewährleistet war. Das Verhältnis der Isomere konnte somit während der Messung konstant gehalten werden. Die Probe wurde außerdem in x-y-Richtung bewegt, so dass isomerisierte Moleküle nicht im Messbereich des nächsten Anregpulses lagen.

4.3.2 Untersuchte Azobenzolderivate

Die untersuchten Derivate können folgendermaßen zu Gruppen zusammengefasst werden:

1. *i,i'*-Azodi(benzoesäuremethylester) (ADBm)-Derivate

Hierbei handelt es sich um symmetrisch substituierte Azodi(benzoesäuremethylester). Der Substituent hat elektronenziehende (Akzeptor-) Eigenschaften. Drei Derivate standen zur Verfügung: Substitution in 4,4'-Position (also in para-Stellung zur Diazogruppe), in 3,3'-Position und in 3,3'-Position mit zusätzlichen Methylgruppen in 6,6'-Position. Untersuchungen der ersten beiden Derivate geben Aufschluss über den Einfluss der Substitutionsposition. Die zusätzlichen Methylgruppen im letztgenannten Derivat können durch ihren sterischen Anspruch hemmend auf die Isomerisierung wirken.

2. *i(i'*-Azodibenzonitril) (ADN)

Die symmetrisch substituierten Azodibenzonitrilderivate 3,3'-ADN und 4,4'-ADN wurden untersucht. Aufgrund der Linearität der C-N-Substituenten sollte die Isomerisierungsgeschwindigkeit durch die Anordnung in meta- bzw. para-Position beeinflusst werden. Die Gruppen werden als elektronenziehend eingestuft.

3. *i(j'*-Aminomethylphenylazo)benzoesäure (AMPB)-Derivate

Diese Derivate eignen sich zum Einbau in Peptide. Die Aminogruppe wurde hier noch durch eine CH₂-Gruppe vom Azobenzol getrennt, was die Flexibilität des Azobenzols innerhalb des

Peptidrückgrats erhöht und auch die elektronischen Eigenschaften etwas verändert. Während die -COOH-Gruppe elektronenziehende Eigenschaften hat, ist der Einfluss der donierenden -NH₂-Funktionalität durch die Methylgruppe stark abgeschwächt. Untersucht wurden das 4-CO₂H,4'-CH₂-NH₂, das 3-CO₂H,4'-CH₂-NH₂, das 4-CO₂H,3'-CH₂-NH₂ und das 3-CO₂H,3'-CH₂-NH₂ Derivat.

4. *i*-(*i*'-Aminophenylazo)benzoesäure (APB), 3-(3'-Acetylaminophenylazo)-benzoesäure-methylester (AaPBm) und 3-(3'-Nitrophenylazo)benzoesäure (NPB)

Über die Amino- bzw. Carbonsäuresubstituenten ist die Knüpfung einer Amidbindung von 3,3'-APB mit Aminosäuren möglich. Die terminal geschützte Variante 3-CO₂Me,3'-AcHN ist ein geeignetes Referenzsystem für Azopeptide. Das Substitutionsmuster sorgt vor allem in der 4,4'-Variante für ein großes Dipolmoment und eine bathochrome Verschiebung der $\pi\pi^*$ -Absorptionsbande. Die Anordnung wird als Push-Pull-Substitution bezeichnet und führt zu angeregten Zuständen mit Charge-Transfer Charakter.

Ein weiteres Derivat, welches im Zusammenhang mit dieser Gruppe vorgestellt werden soll ist 3-(3'-Nitrophenylazo)benzoesäure (NPB) (3-CO₂H,3'-NO₂). Durch die Nitrogruppe geht der Charge-Transfer-Charakter im Vergleich zu den aminosubstituierten Vertretern verloren, was einen interessanten Vergleich mit 3,3'-APB erlaubt. Elektronisch ist dieses Derivat mit der erstgenannten Gruppe verwandt.

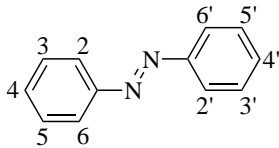
				
1 i,i'-ADBm	3 CO ₂ Me 3' CO ₂ Me	4 CO ₂ Me 4' CO ₂ Me	3 CO ₂ Me, 6 Me 3' CO ₂ Me, 6' Me	
2 i,i'-ADN	3 CN 3' CN	4 CN 4' CN		
3 i,j'-AMPB	3 CO ₂ H 3' CH ₂ NH ₂	4 CO ₂ H 4' CH ₂ NH ₂	3 CO ₂ H 4' CH ₂ NH ₂	4 CO ₂ H 3' CH ₂ NH ₂
4 i,i'-APB, -NPB	3 CO ₂ H 3' NH ₂	4 CO ₂ H 4' NH ₂	3 CO ₂ Me 3' NH ₂ Ac	3 CO ₂ H 3' NO ₂

Tabelle 4.3: Zusammenfassung der untersuchten AB-Derivate.

Durch Substitution von H-Atomen am Azobenzolring mit funktionellen Gruppen verändert sich der Raumanpruch des Moleküls ebenso wie seine elektronische Struktur. Daraus ergeben sich einige mögliche Konsequenzen:

- Das Übergangsdipolmoment ändert sich, was eine spektrale Verschiebung der Absorptionsbanden zur Folge hat
- Die Dynamik der Isomerisierung kann verändert werden
- Die Stabilisierung des cis- bzw. trans-Isomers sowie die Barriere zwischen den beiden Zuständen ist beeinflussbar
- Die Oszillatorstärken des $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Übergangs können sich verändern

4.3.3 Ergebnisse

i,i'-Azodi(benzoessäuremethylester) (ADBm)

Statische Charakterisierung

Die Molekülstrukturen der drei Derivate sind in Abbildung 4.5 dargestellt, die Absorptionsspektren der in Dichlormethan gelösten Verbindungen sind in Abbildung 4.6 gezeigt. Die Absorptionsmaxima unterscheiden sich nur um wenige Nanometer. Die kurzwelligste $\pi\pi^*$ -Absorption hat das meta-substituierte Derivat 3,3'-ADBm mit 317 nm. 3,3'-ADBm-6,6'-Me hat sein Maximum bei 321 nm, 4,4'-ADBm bei 329 nm. Die Absorptionsbanden sind breit und lassen eine schwach ausgeprägte Feinstruktur erkennen. Auffällig bei der $n\pi^*$ -Bande ist vor allem der vergleichsweise geringe Extinktionskoeffizient der para-substituierten Variante, sowie das blauverschobene Maximum von 3,3'-ADBm, im Vergleich zu 3,3'-ADBm-6,6'-Me.

Eine Zusammenstellung der Absorptionsmaxima findet sich in Tabelle 4.4.

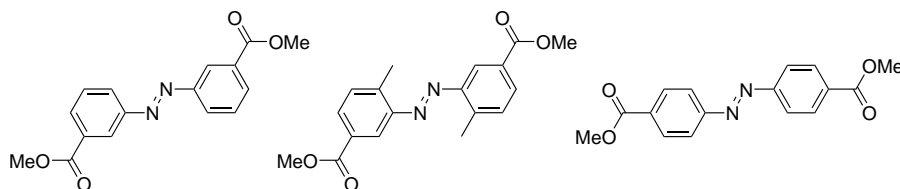


Abbildung 4.5: Molekülstrukturen von 3,3'-ADBm, 3,3'-ADBm-6,6'-Me und 4,4'-ADBm.

Derivat	$\pi\pi^*$	$n\pi^*$
4,4'-ADBm	329 nm	460 nm
3,3'-ADBm	317 nm	440 nm
3,3'-ADBm-6,6'-Me	321 nm	460 nm

Tabelle 4.4: Absorptionsmaxima der *i,i'*-ADBm-Derivate in Dichlormethan.

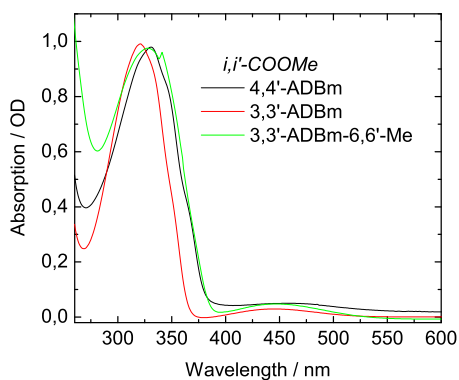


Abbildung 4.6: Normierte Absorptionsspektren von 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me

Zeitaufgelöste Messungen

Die trans-cis-Isomerisierung wurde nach Anregung mit 340 nm ($\pi\pi^*$) und 480 nm ($n\pi^*$) mittels Anregungs-Abtast Spektroskopie untersucht. Während sich die meta-substituierten Derivate in hohen Konzentrationen in DMSO lösen, ist die Löslichkeit der para-substituierten Verbindung eingeschränkt. Aus diesem Grund wurden alle Messungen in Dichlormethan durchgeführt. Die Dynamik der meta-substituierten Derivate unterscheidet sich nicht in den beiden Lösungsmitteln³.

Eine Übersicht über die transiente Absorption nach Anregung des $n\pi^*$ -, bzw. $\pi\pi^*$ -Übergangs ist in Abbildung 4.7 gegeben. Die Messungen bei beiden Anregungswellenlängen sind gegenübergestellt.

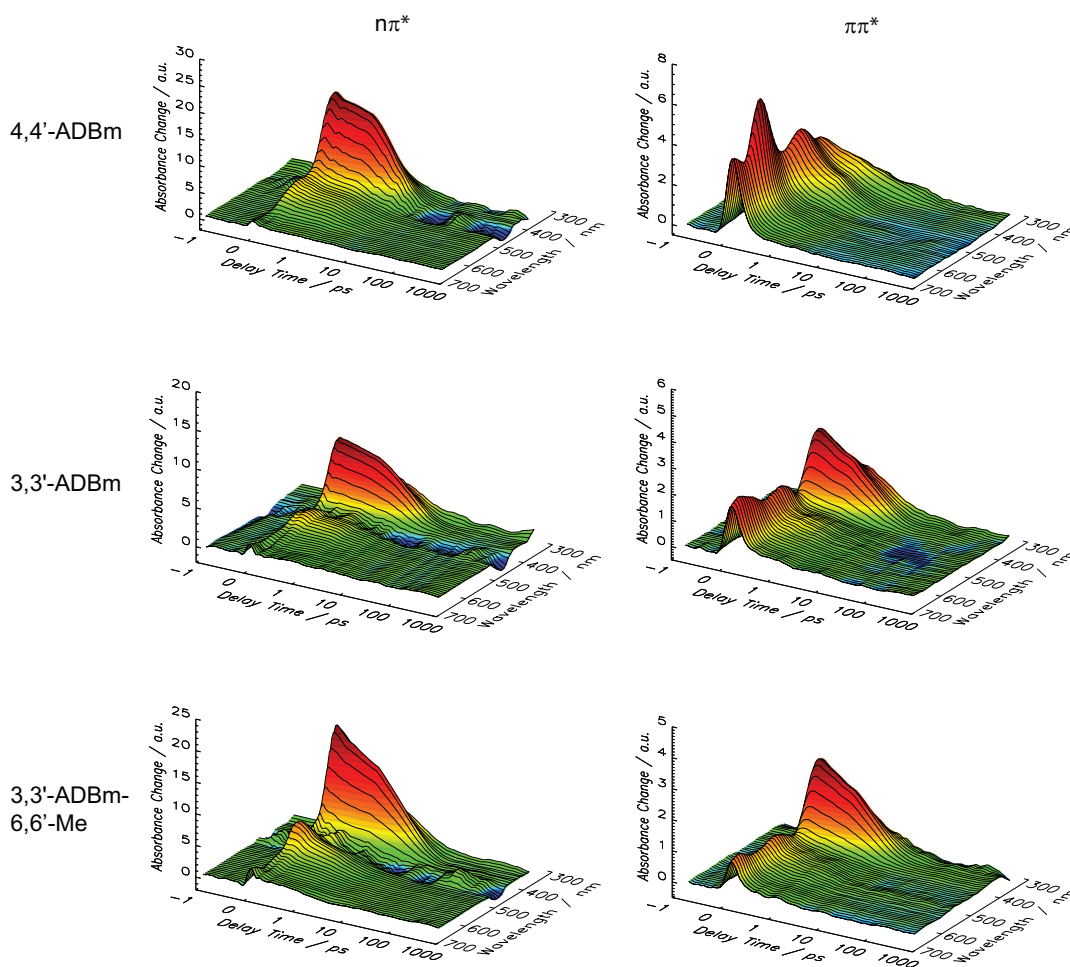


Abbildung 4.7: 3d-Abbildungen der Azobenzolderivate 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me (von oben nach unten), links jeweils nach Anregung mit 480 nm, rechts nach Anregung mit 340 nm.

i) Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=480$ nm

Bei diesen Messungen war die Konzentration so eingestellt, dass die Absorption der $n\pi^*$ -Bande in der Größenordnung von 0,7 OD lag. Dies hat zur Folge, dass nur wenig Licht die Probe unterhalb von 380 nm passiert und das Ausbleichen der $\pi\pi^*$ -Bande nicht detektiert wird. Die Intensität der Absorptionsänderungen ist farbcodiert. Dabei ist die maximale positive Absorptionsänderung tief rot, die

³Es wurden sowohl Messungen nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs, wie auch nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs in beiden Lösungsmitteln (DMSO und DCM) durchgeführt und verglichen.

maximale negative tief blau und keine Absorptionsänderung in grün dargestellt. Grundsätzlich weist die Absorption des angeregten Zustands zwei Maxima auf. Das intensivere liegt zwischen 400 nm und 450 nm, ein weniger ausgeprägtes Maximum ist bei 550 nm zu erkennen. Die negative Absorptionsänderung zwischen diesen beiden Bereichen ist artifiziell und kann auf Streulicht zurückgeführt werden. Charakteristische Transienten der drei Verbindungen im Bereich der Absorptionsmaxima sind in Abbildung 4.8 dargestellt.

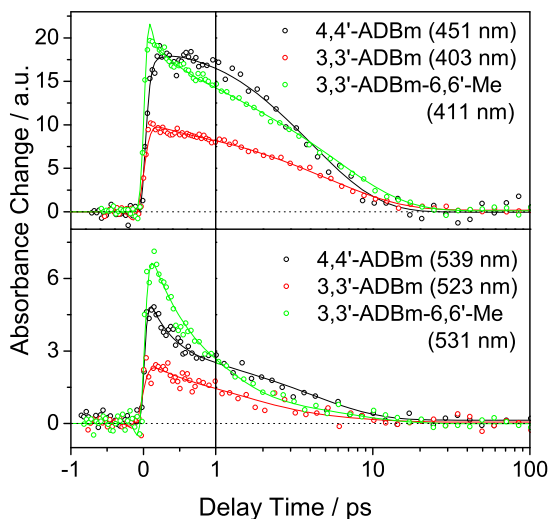


Abbildung 4.8: Vergleich ausgewählter Transienten von 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me nach Anregung mit $\lambda_{exc}=480$ nm.

Bei 4,4'-ADBm ist die Absorption des angeregten Zustands deutlich weiter in den roten Spektralbereich verschoben als bei den anderen beiden Derivaten. Während der Bereich um 550 nm vor allem mit der kurzen Zeit zerfällt, ist der Zerfall der starken Absorptionsbande biphasisch mit ausgeprägter langsamer Komponente. Die entsprechenden zerfallsassoziierten Spektren (DAS) sind in Abbildung 4.9 gegenübergestellt. Diese Spektren sind das Ergebnis der globalen Fitanalyse, bei der die Daten mittels vier exponentiellen Zerfällen angepasst wurden. Die schnelle Zeit ($\tau_D < 300$ fs) liegt unterhalb der Zeitauflösung der Messung und trägt den frühen Prozessen, wie einer Bewegung aus der Franck-Condon-Region heraus, Rechnung. Die ESA zerfällt bei allen drei Derivaten biphasisch mit einer schnelleren Zeit in der Größenordnung von einer Pikosekunde ($\tau_D \sim 1$ ps) und einer langsameren Zeit von etwa 5 ps. Mit einer zusätzlichen sehr langsamen Zerfallszeit ($\tau_D = 1$ μ s) werden Residuen oder Artefakte angepasst, die am Ende des Messzeitraums für bestehende Absorptionsänderungen sorgen. Für die hier gezeigten Daten enthält diese Komponente im Wesentlichen rauschbedingte Schwankungen. Die typische Signatur des entstandenen cis-Isomers (Grundzustandsbleichen am blauen Rand des Messbereichs, sowie eine leichte Absorptionszunahme zwischen 400 nm und 500 nm) ist bei diesen Messungen nicht aufgelöst.

Auffällig bei der 5 ps-Zerfallszeit (Abbildung 4.9, rechts) ist die spektrale Verschiebung der para-substituierten Spezies gegenüber den meta-substituierten Derivaten, um etwa 50 nm. Die Verschiebung ist analog zu der Verschiebung des $\pi\pi^*$ -Übergangs bei den statischen Messungen (vgl. Abbildung 4.6), allerdings ist sie im angeregten Zustand ausgeprägter. Ein Vergleich der Zerfallszeiten untereinander zeigt, dass das para-substituierte Derivat die schnellste Dynamik aufweist, während die anderen beiden Derivate keine signifikanten Unterschiede in der Zerfalldynamik aufweisen.

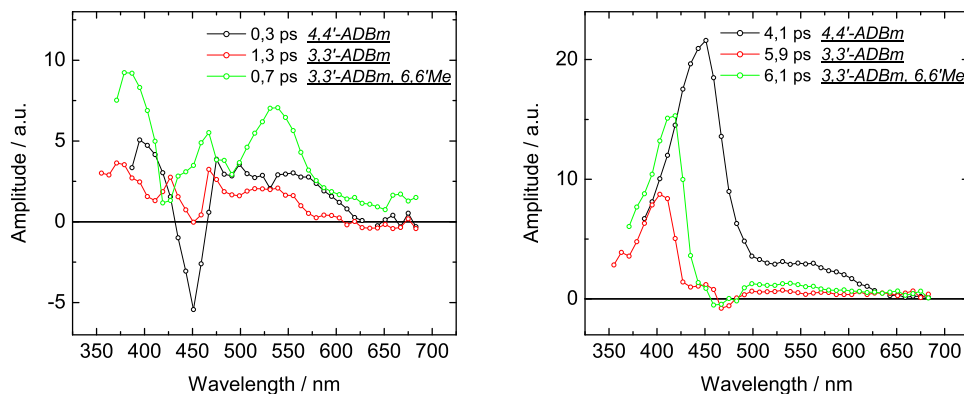


Abbildung 4.9: Vergleich der Amplitudenspektren von 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me.

Derivat	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
4,4'-ADBm	< 100 fs	0,3 ps	4,1 ps	1 μ s
3,3'-ADBm	< 100 fs	1,3 ps	5,9 ps	1 μ s
3,3'-ADBm-6,6'-Me	< 100 fs	0,7 ps	6,1 ps	1 μ s

Tabelle 4.5: Zeitkonstanten für die Anregung mit 480 nm der in DCM gelösten Proben.

ii) Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=340$ nm

Die 3d-Abbildungen zu diesen Messungen (Abbildung 4.7, rechts) weisen deutliche Unterschiede zu denen nach Anregung in der $n\pi^*$ -Bande auf. Die ESA zeigt zu kurzen Zeiten mehrere unterschiedlich intensive Maxima, die auf verschiedenen Zeitskalen wieder zerfallen. Am ungewöhnlichsten ist hier die transiente Absorptionsänderung der Verbindung 4,4'-ADBm, die zu kurzen Zeiten vier Maxima bei 370 nm, 450 nm, 590 nm und 660 nm aufweist. Bei 590 nm findet man eine intensive, kurzlebige Absorptionsänderung, wohingegen die ESA im blauen Spektralbereich langsamer zerfällt.

Die anderen beiden Derivate ähneln sich stark in ihrer Dynamik und die ESA weist drei Maxima bei 410 nm, 500 nm und 660 nm auf.

Die Lage der Absorptionsmaxima und ihr zeitliches Abnehmen, lässt sich in den Abbildungen 4.11 verfolgen. Hier wird deutlich, dass nach 0,3 ps bei 4,4'-ADBm vor allem die Maxima bei 450 nm, 590 nm und 660 nm ausgeprägt sind, wobei bei 660 nm das spektrale Fenster der Messung endet und das ESA-Maximum möglicherweise noch weiter in den roten Spektralbereich hinein verschoben ist. Das Maximum bei 370 nm wird innerhalb der ersten Pikosekunde deutlicher und verliert in diesem frühen Zeitfenster nur wenig an Intensität. Innerhalb der gezeigten 10 ps verändert diese Absorptionsbande ihre Lage nicht und auch nach 20 ps ist die Bande noch deutlich ausgeprägt, wohingegen im Bereich oberhalb von 500 nm kaum noch ESA zu sehen ist.

Bei den anderen beiden Derivaten, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me, sind die Absorptionsspektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten (Abbildung 4.11) weniger strukturiert und von der starken ESA unterhalb von 450 nm dominiert. Bereits nach 1 ps ist kaum noch ESA im roten Spektralbereich vorhanden und nach 10 ps ist auch die ESA im blauen Spektralbereich weitgehend abgeklungen.

Die Darstellung einzelner Transienten (Abbildung 4.10) verdeutlicht die unterschiedlichen Zerfallsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Wellenlängen. Bei 4,4'-ADBm erkennt man, dass ein Großteil der

ESA mit einer Zerfallszeit $\tau_D \sim 1$ ps zerfällt. Die intensive ESA im roten Spektralbereich verschwindet vollständig mit dieser Zeit. Am blauen Rand spielt dieser schnelle Zerfall eine untergeordnete Rolle, wie die Transiente bei $\lambda=371$ nm zeigt. Der Hauptzerfall erfolgt mit den beiden Zerfallszeiten $\tau_D=0,4$ ps und $\tau_D=2,7$ ps. Zwischen diesen beiden Bereichen liegt die Transiente $\lambda=451$ nm, die biphasisch zerfällt, wobei die 400 fs Zerfallszeit den größeren Anteil hat, wie die zerfallsassoziierten Spektren in Abbildung 4.12 zeigen.

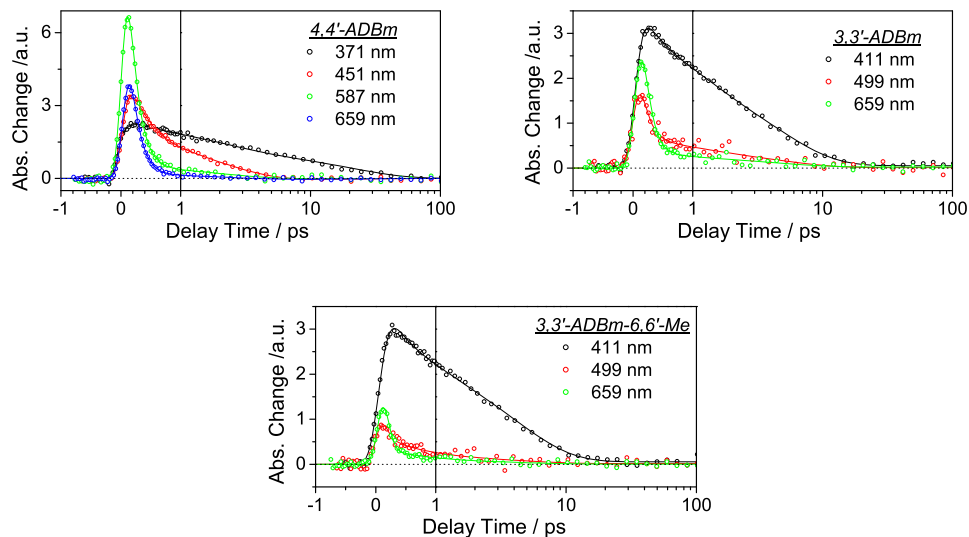


Abbildung 4.10: Darstellung einzelner Transienten bei ausgewählten Wellenlängen.

Die Zeitkonstanten der Messungen nach Anregung mit 340 nm sind in Tabelle 4.6 zusammengefasst.

Derivat	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
4,4'-ADBm	< 300 fs	0,4 ps	2,8 ps	23 ps
3,3'-ADBm	< 300 fs	0,8 ps	4,6 ps	1 μ s
3,3'-ADBm-6,6'Me	< 300 fs	0,9 ps	4,8 ps	1 μ s

Tabelle 4.6: Zeitkonstanten für die Anregung mit 340 nm.

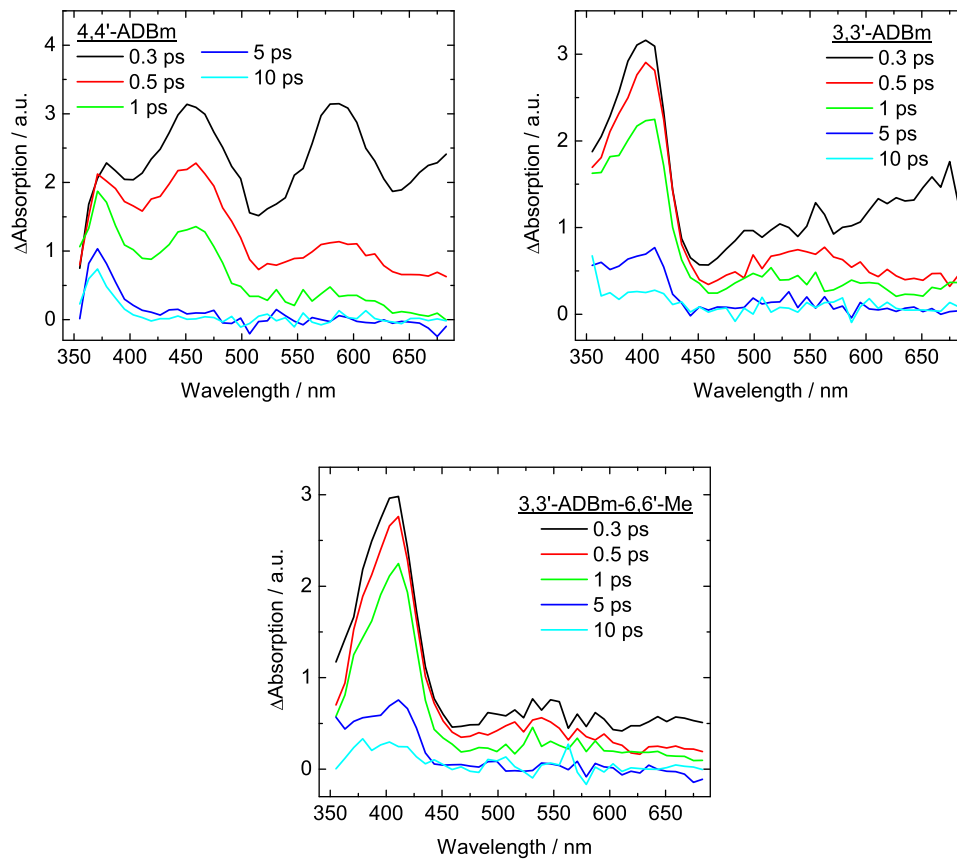


Abbildung 4.11: Transiente Spektren von 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

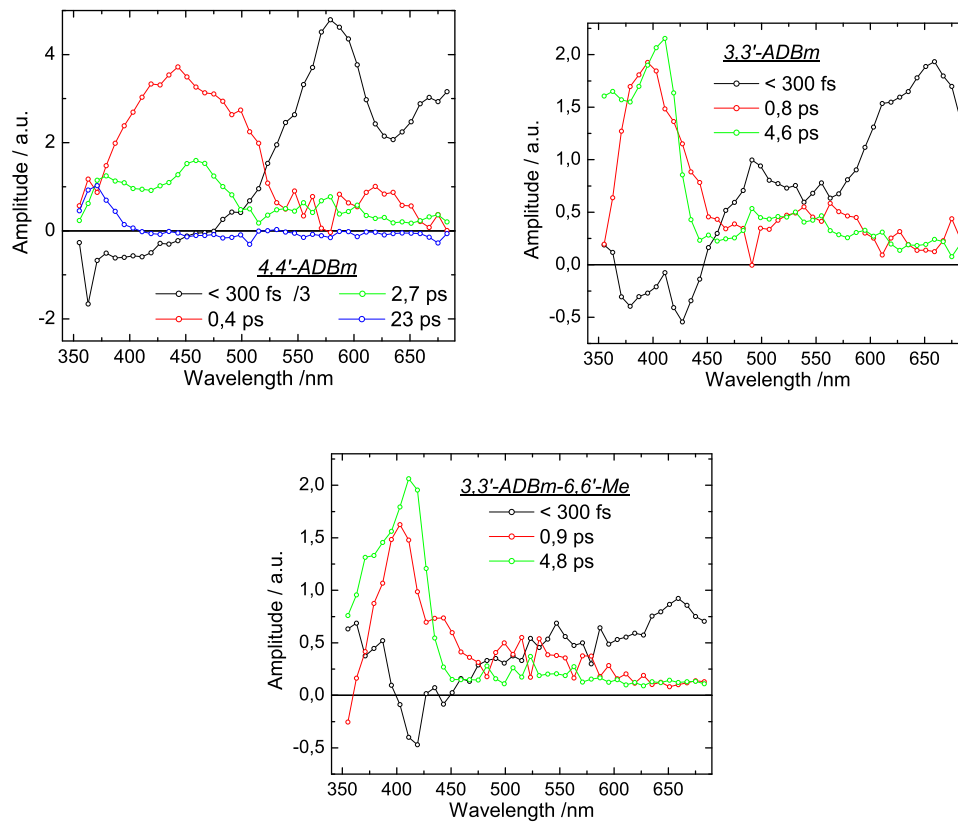


Abbildung 4.12: Zerfallsassoziierte Spektren von 4,4'-ADBm, 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm. Die schnelle Komponente wurde zur besseren Vergleichbarkeit jeweils durch einen Faktor 3 dividiert.

iii) Vergleich der Dynamik nach $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Anregung

Der Vergleich der Messungen nach Anregung in der $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Bande gibt Aufschluss darüber, inwiefern sich die angeregten Zustände mit der Zeit angleichen. Bereits der Vergleich der 3d-Abbildungen (siehe Abbildung 4.7) zeigt, dass sich die Dynamik im Falle von 4,4'-ADBm nach Anregung mit 480 nm deutlich von der Dynamik nach Anregung mit 340 nm unterscheidet. Bei den 3,3'-substituierten Derivaten sind die Unterschiede geringer, vor allem bei 3,3'-ADBm-6,6'-Me sind nur zu kurzen Zeiten klare Unterschiede auszumachen.

In Abbildung 4.13 sind Transienten des Derivats 4,4'-ADBm bei charakteristischen Wellenlängen jeweils nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm gegenübergestellt. Man sieht, dass nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs im gezeigten Bereich von 387 nm bis 587 nm die ESA gleichmäßig zerfällt. Im Gegensatz dazu, sind nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs Bereiche mit ausschließlich schnellem Zerfall ($\lambda=587$ nm) und vorwiegend langsamem Zerfall ($\lambda=387$ nm) zu erkennen. Die Zerfallszeiten aus der globalen Fitanalyse, sind in Tabelle 4.7 zusammengefasst.

4,4'-ADBm	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
$\lambda_{exc}=480$ nm	< 100 fs	0,3 ps	4,1 ps	1 μ s
$\lambda_{exc}=340$ nm	< 300 fs	0,4 ps	2,7 ps	23 ps

Tabelle 4.7: Vergleich der Zeitkonstanten für die Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm

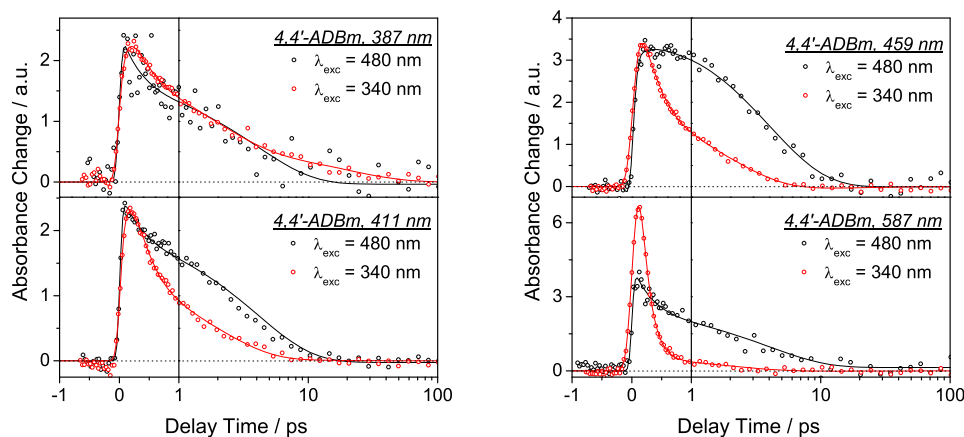


Abbildung 4.13: Vergleich der zeitlichen Absorptionsänderung für das Derivat 4,4'-ADBm nach Anregung mit 340 bzw. 480 nm. Die Daten wurden zur besseren Vergleichbarkeit skaliert.

3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me weisen kaum Unterschiede in der Dynamik auf, wie ein Vergleich der Transienten (Abbildung 4.14, links) zeigt. Die Einführung der zusätzlichen Methylgruppe verändert die Dynamik also nicht maßgeblich und stellt keine zusätzliche Barriere dar.

Die Gemeinsamkeiten zwischen 3,3'-ADBm und 3,3'-ADBm-6,6'-Me treten sowohl nach Anregung der $\pi\pi^*$ - als auch nach Anregung der $n\pi^*$ -Bande auf. Die langsamere Zerfallszeit ist bei beiden Verbindungen unabhängig von der Anregungswellenlänge, wie der Vergleich der Amplituden (Abbildung 4.15) zeigt. Die Zerfallszeiten sind vergleichbar und die Amplitudenspektren sind in ihrer spektralen Charakteristik identisch.

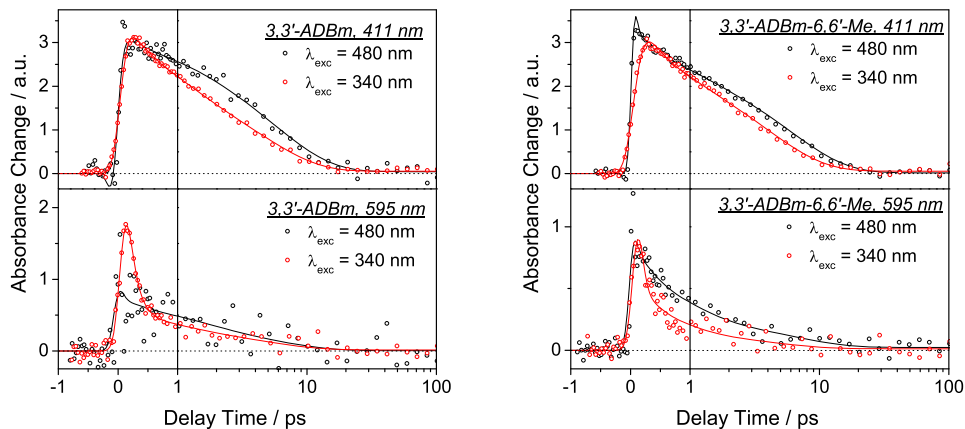


Abbildung 4.14: Vergleich der zeitlichen Absorptionsänderung bei 411 nm bzw. 595 nm für das Derivat 3,3'-ADBm (links), bzw. das Derivat 3,3'-5,5'-Me-ADBm (rechts), nach Anregung der $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Bande. Die Daten wurden zur besseren Vergleichbarkeit skaliert.

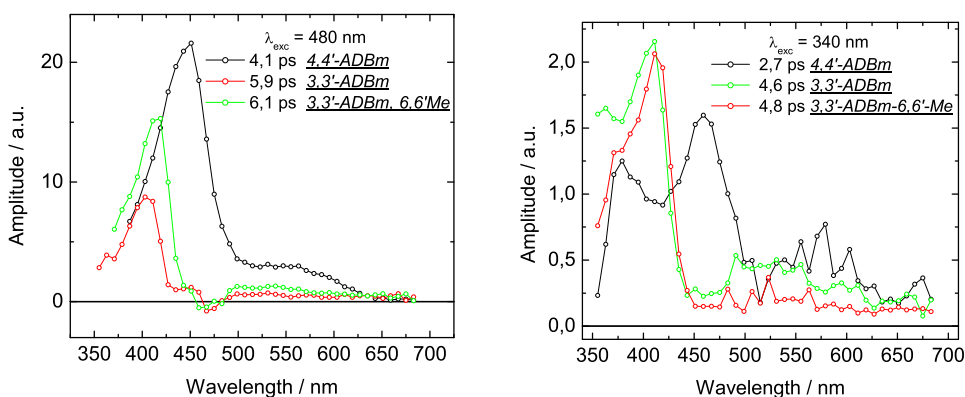


Abbildung 4.15: Vergleich der Amplituden der langsamen Zerfallszeit nach Anregung mit 480 nm (links) bzw. 340 nm (rechts).

4,4'-ADBm unterscheidet sich hingegen deutlich von den meta-substituierten Derivaten. Die Dynamik im angeregten Zustand weist eine deutliche Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge auf. Nach Anregung in der $n\pi^*$ -Bande zerfällt der angeregte Zustand mit den beiden Zerfallszeiten $\tau_D=0,3 \text{ ps}$ und $\tau_D=4,1 \text{ ps}$. Wird die $\pi\pi^*$ -Bande angeregt, sind vier Zeitkonstanten nötig, um den Zerfall des angeregten Zustands anzupassen. Neben einer sehr schnellen Zerfallszeit, die typisch ist für die Anregung in der $\pi\pi^*$ -Bande, verschwindet der größte Teil der ESA mit den beiden Zerfallszeiten $\tau_D=0,4 \text{ ps}$ und $\tau_D = 2,7 \text{ ps}$. Nur unterhalb von 400 nm spielt ein längerlebiger Beitrag eine Rolle, der mit $\tau_D=23 \text{ ps}$ zerfällt.

i,i'-Azodibenzonitril (4,4'-ADN und 3,3'-ADN)

Die Molekülstrukturen der beiden Azodibenzonitril-derivate sind in Abbildung 4.16 dargestellt. Durch die CN-Dreifachbindung ist der Substituent gestreckt und weist auch elektronische Besonderheiten auf. Die CN-Gruppe hat elektronenziehenden Charakter, trägt aber auch zur Ausdehnung des π -Elektronensystems des Azobenzols bei.

Statische Messungen

Die Absorptionsspektren von 4,4'- und 3,3'-Azodibenzonitril in DMSO zeigen die typischen Maxima der $\pi\pi^*$ - und $n\pi^*$ -Bande bei 329 nm und 460 nm (4,4'-ADN) bzw. bei 314 nm und 436 nm (3,3'-ADN). Die Absorption der para-substituierten Verbindung ist etwa 15 nm rotverschoben gegenüber dem meta-substituierten Derivat. Die Spektren sind in Abbildung 4.17 gezeigt.

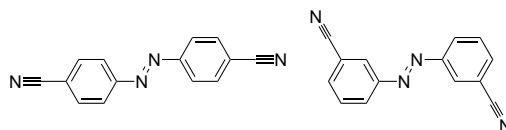


Abbildung 4.16: Molekülstrukturen von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN

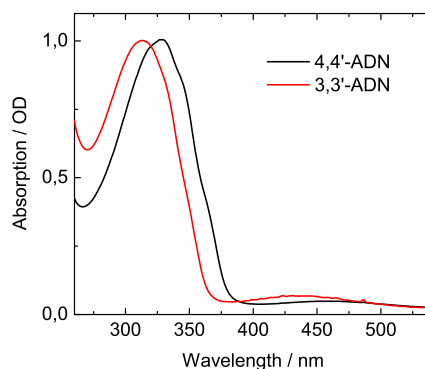


Abbildung 4.17: Absorptionsspektren von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN in DMSO

Zeitaufgelöste Messungen

Die Dynamik der beiden Azo-dibenzonitril-derivate wurde nach Anregung mit 480 nm und 340 nm untersucht. Eine Übersicht über die transienten Daten zeigt Abbildung 4.18. Es sind einige Unterschiede in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge zu erkennen, ähnlich der Gruppe der *i,i'*-Azodi(benzoesäuremethylester) (ADBm). Den beiden Gruppen sind die elektronenziehenden, symmetrisch angeordneten Substituenten gemeinsam. Nach Anregung mit 480 nm erkennt man zwei ESA-Bereiche mit unterschiedlicher Intensität. Regt man hingegen mit 340 nm an, dominiert eine langgezogene ESA im nahen UV, wohingegen die ESA im sichtbaren Spektralbereich schnell abklingt.

i) Anregung des $n\pi^$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=480$ nm*

Nach Anregung beider ADN-Derivate in den $S(n\pi^*)$ -Zustand sind zwei Bereiche der ESA unterscheidbar. Zwischen 350 nm und 500 nm ist die ESA intensiv. Ein zweiter Bereich mit schwächerer ESA tritt zwischen 500 nm und 650 nm (Abbildung 4.18) auf. Die beiden Absorptionsbanden sind durch

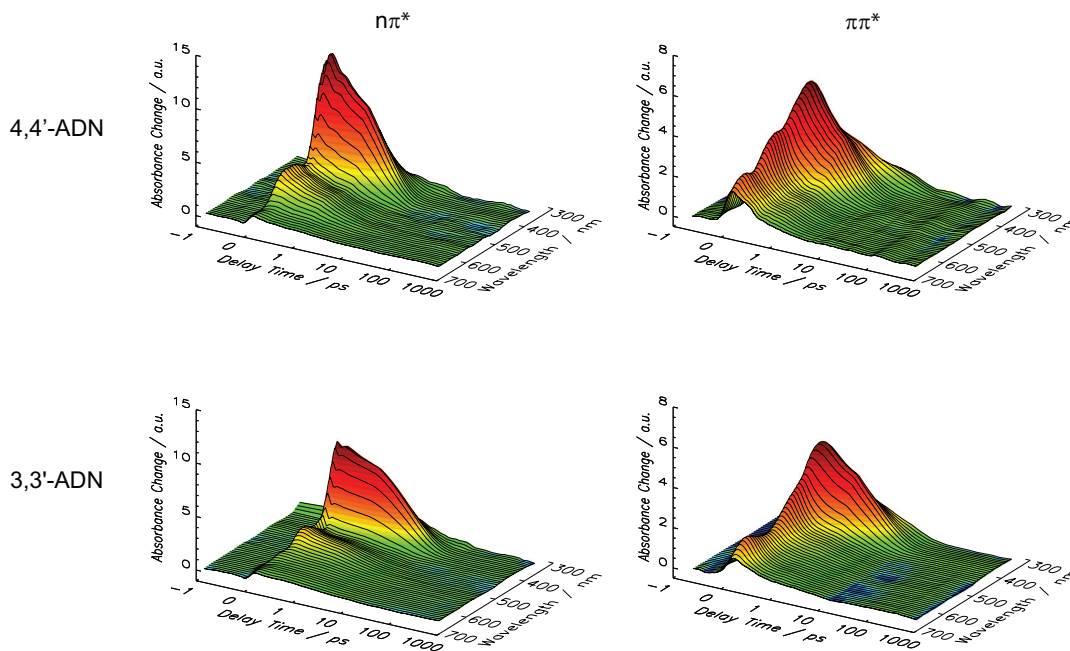


Abbildung 4.18: 3d-Abbildungen von 4,4'-ADN (oben) und 3,3'-ADN (unten). Jeweils links nach Anregung mit 480 nm und rechts nach Anregung mit 340 nm.

einen Einschnitt bei etwa 500 nm (im Falle von 4,4'-ADN) bzw. 460 nm (im Falle von 3,3'-ADN) voneinander getrennt. Die Absorptionsbande vom elektronischen Grundzustand in den $\pi\pi^*$ -Zustand der para-substituierten Verbindung ist gegenüber der des meta-substituierten Derivats um 15 nm verschoben. Analog sind auch die Absorptionsbanden des angeregten Zustands in höher angeregte Zustände verschoben. Bei 4,4'-ADN liegen die ESA-Banden bei 450 nm bzw. 580 nm, bei 3,3'-ADN bei 400 nm bzw. 530 nm, wie Abbildung 4.19 zeigt.

Die Darstellung einzelner Transienten aus den beiden Bereichen der ESA (Abbildung 4.20) zeigt den schnellen Zerfall der ESA bei 555 nm (4,4'-ADN), bzw. 531 nm (3,3'-ADN), sowie die etwas langsamere Dynamik bei 451 nm (4,4'-ADN) bzw. 411 nm (3,3'-ADN). Der Vergleich beider Derivate zeigt die langsamere Dynamik von 3,3'-ADN gegenüber 4,4'-ADN. Betrachtet man den gesamten spektralen Bereich zu verschiedenen Verzögerungszeiten (Abbildung 4.19), so ist die ESA-Bande um 430 nm von 4,4'-ADN strukturierter als die von 3,3'-ADN.

Die globale Fitanalyse ergab, dass beide Derivate neben einer sehr schnellen Zerfallszeit ($\tau_D < 100$ fs), die typische Zerfallszeit im Bereich von 1 ps sowie eine langsamere Komponente (3,7 ps im Falle von 4,4'-ADN, bzw. 6,3 ps im Falle von 3,3'-ADN) aufweisen. Das zu 1 ps gehörige DAS (Abbildung 4.21) von 4,4'-ADN hat im gesamten Spektralbereich gleichmäßige Anteile, wohingegen die langsamere Zerfallszeit vorwiegend den Zerfall der ESA im Bereich zwischen 350 nm und 500 nm widerspiegelt. Auch bei 3,3'-ADN spielt der schnelle Zerfall im gesamten Spektralbereich der ESA eine Rolle, wohingegen der Bereich zwischen 350 nm und 450 nm vor allem mit $\tau_D=6,3$ ps verschwindet. Die Zerfallszeiten aus der globalen Fitanalyse sind in Tabelle 4.8 zusammengefasst.

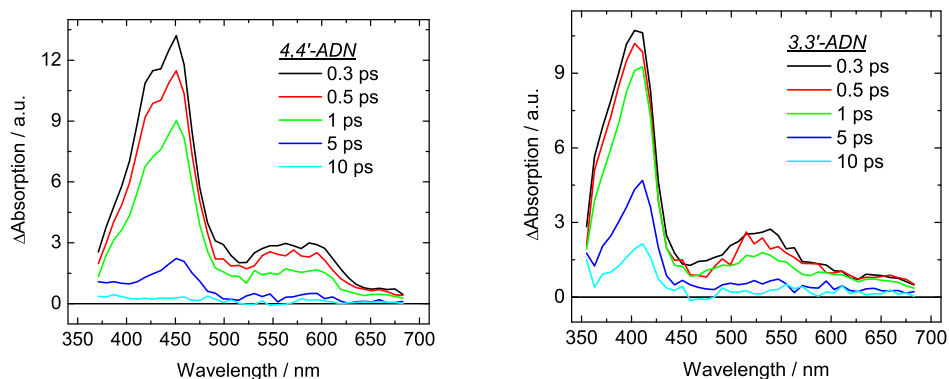


Abbildung 4.19: Transiente Spektren von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN nach Anregung mit 480 nm zu verschiedenen Verzögerungszeiten.

i-CN, i'-CN	τ_1	τ_2	τ_3
4,4'-ADN	< 100 fs	1,0 ps	3,7 ps
3,3'-ADN	< 100 fs	0,9 ps	6,3 ps

Tabelle 4.8: Zerfallszeiten der ADN-Derivate in DMSO nach Anregung mit 480 nm

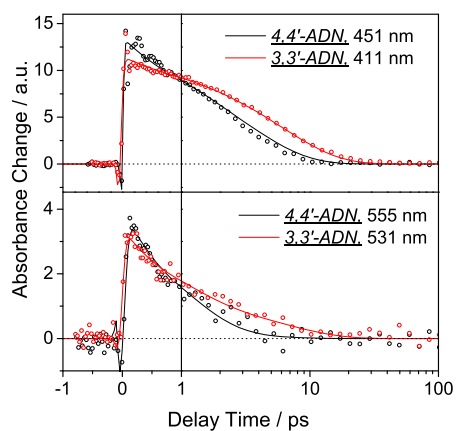


Abbildung 4.20: Vergleich ausgewählter Transienten von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN.

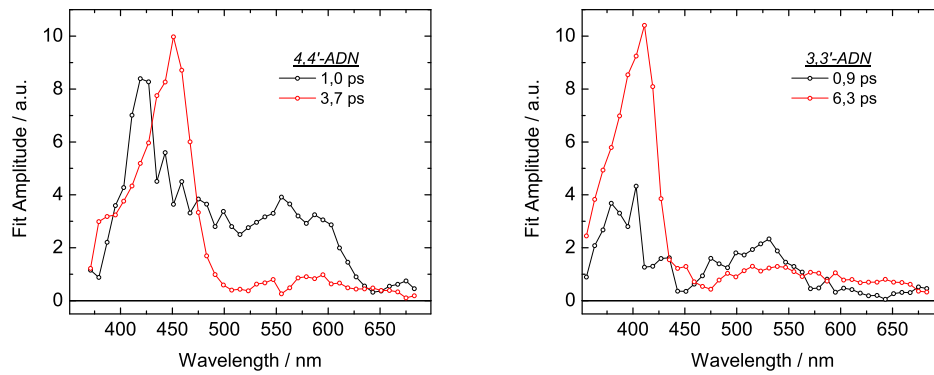


Abbildung 4.21: Vergleich der DAS von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN nach Anregung mit 480 nm

ii) Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=340\text{ nm}$

Betrachtet man die 3d-Abbildungen 4.18 (rechts), die nach Anregung mit 340 nm aufgenommen wurden, so fällt auf, dass 4,4'-ADN, ähnlich wie 4,4'-ADBm, eine strukturierte ESA zu frühen Zeiten aufweist, die auf unterschiedlichen Zeitskalen zerfällt. Transienten aus den Bereichen unterschiedlicher ESA-Intensität sind in Abbildung 4.22 dargestellt. Bei 379 nm ist der Zerfall deutlich langsamer als um 467 nm und 603 nm.

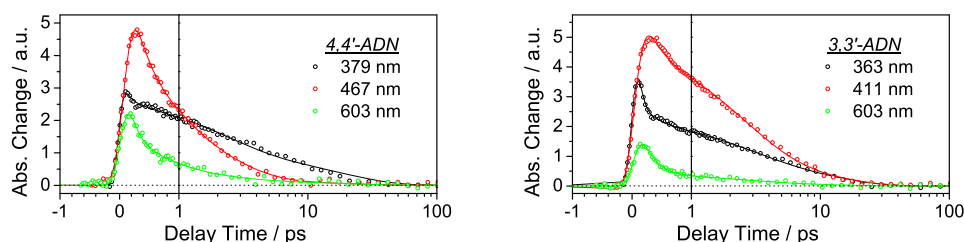


Abbildung 4.22: Transiente Spektren der ADN-Derivate.

Vergleicht man die Transienten von 3,3'-ADN, so weisen alle drei Bereiche eine ähnliche Zerfallscharakteristik auf, wenngleich die sehr schnelle Komponente bei den drei Transienten unterschiedlich ausgeprägt ist. Die breite strukturierte ESA von 4,4'-ADN im Gegensatz zur kaum strukturierten ESA von 3,3'-ADN ist in Abbildung 4.23 zu verschiedenen Verzögerungszeiten gezeigt.

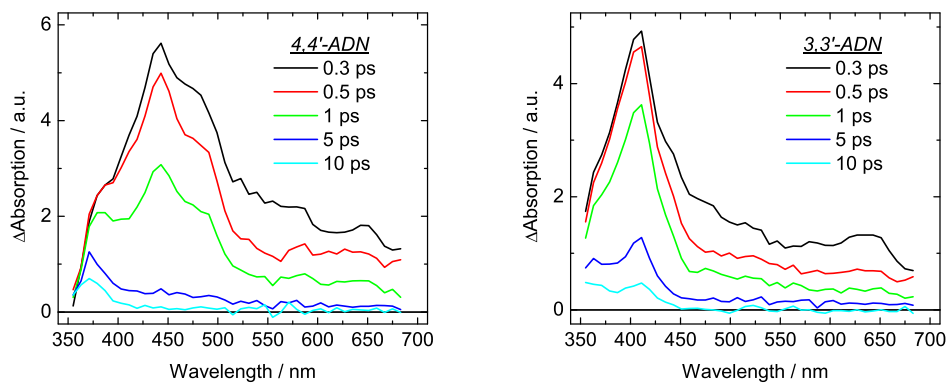


Abbildung 4.23: Zeitschnitte von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN

Interessant ist die nach 10 ps noch sichtbare Komponente, die bei 4,4'-ADN weit an den blauen Rand des Spektrums geschoben ist, wohingegen 3,3'-ADN eine Doppelpeakstruktur aufweist, die sich bis 450 nm erstreckt. Die Zerfallszeiten sind in Tabelle 4.9 zusammengefasst, die DAS sind in Abbildung 4.24 zu sehen. Das DAS der langsamen Komponente entspricht in seiner spektralen Charakteristik dem transienten Spektrum bei 10 ps.

i-CN, i'-CN	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
4,4'-ADN	< 100 fs	0,5 ps	2,0 ps	17,6 ps
3,3'-ADN	< 150 fs	0,4 ps	3,2 ps	10,5 ps

Tabelle 4.9: Zerfallszeiten der ADN-Derivate nach Anregung mit 340 nm

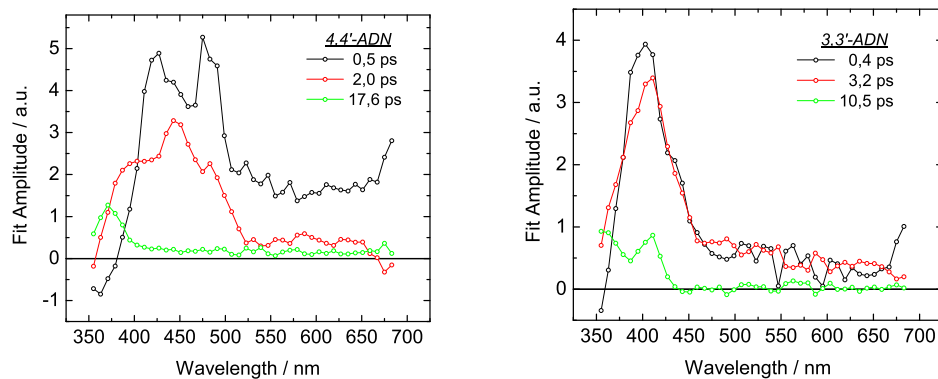


Abbildung 4.24: Vergleich der DAS von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN nach Anregung mit 340 nm

iii) Vergleich der Dynamik in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge

Die Nitrilgruppe ($-\text{C}\equiv\text{N}$) ist ein linearer Substituent mit elektronenziehendem Charakter. Die chromophoren Eigenschaften sind dadurch geprägt, dass die Gruppe einerseits ein guter Elektronenakzeptor ist, andererseits dehnt sich aber auch das π -Elektronensystem aus, was einen bathochromen Effekt zur Folge hat. Die Ausprägung dieser beiden Effekte lässt sich gut an den untersuchten Derivaten ablesen. So absorbiert 3,3'-ADN im gleichen Bereich wie unsubstituiertes Azobenzol, wohingegen bei para-Substitution die $\pi\pi^*$ -Bande etwa 15 nm rotverschoben auftritt.

Nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs ist zunächst eine breite ESA zu erkennen, die sich über alle Kanäle erstreckt (vgl. Abbildung 4.23). Diese wird über einen schnellen Prozess ($\tau_D=0,5$ ps bei 4,4'-ADN bzw. $\tau_D < 0,3$ ps bei 3,3'-ADN) abgebaut, so dass nach etwa 1 ps kaum noch ESA oberhalb von 500 nm vorhanden ist. Die verbleibende ESA verschwindet fast vollständig mit $\tau_D=2$ ps und ein geringer Beitrag verbleibt im Blauen bzw. nahen UV, der mit $\tau_D > 10$ ps verschwindet. Im Gegensatz dazu wird nach Anregung der $n\pi^*$ -Bande mit 480 nm, eine deutlich strukturiertere ESA mit zwei ausgeprägten Banden induziert (vgl. Abbildung 4.19). Diese zerfällt biphasisch mit einer schnellen Zerfallszeit ($\tau_D \sim 1$ ps) und einer langsameren Komponente ($\tau_D=3,7$ bzw. $\tau_D=6,3$ ps). Die schnelle Zerfallszeit beschreibt maßgeblich das Verschwinden der ESA oberhalb von 500 nm, die langsamere Zerfallszeit ist mit der ESA zwischen 350 nm und 500 nm (bzw. 450 nm) verknüpft.

Ein Vergleich ausgewählter Transienten (Abbildung 4.25) nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm zeigt, dass nach Anregung der $\pi\pi^*$ -Bande die ESA, bis auf einen geringen Beitrag, mit einer deutlich schnelleren Dynamik verschwindet als nach Anregung der $n\pi^*$ -Bande.

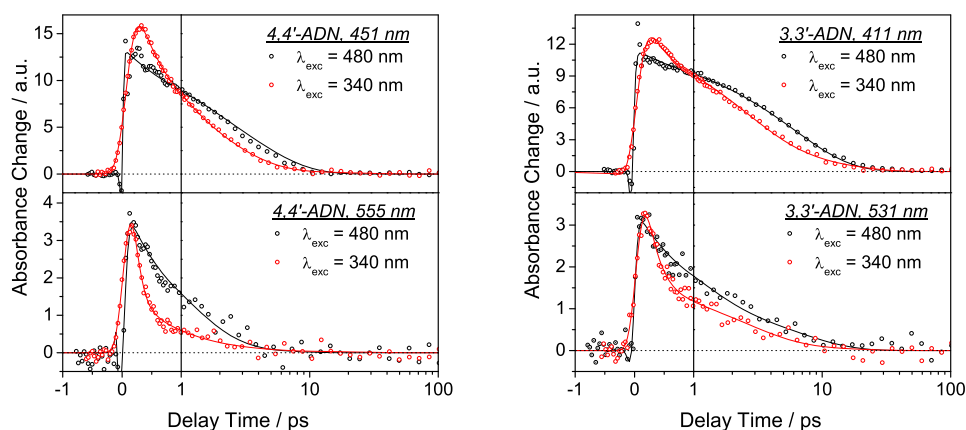


Abbildung 4.25: Vergleich der Dynamik von 4,4'-ADN und 3,3'-ADN nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm

i-(*j*'-Aminomethylphenylazo)benzoesäure (AMPB)-Derivate*Statische Charakterisierung*

Die Molekülstrukturen sowie die normierten Absorptionsspektren in Methanol sind in den Abbildungen 4.26 und 4.27 gezeigt. Die vier Derivate sind sich elektronisch sehr ähnlich, einzig 4,4'-AMPB fällt mit seiner rotgeschobenen $\pi\pi^*$ -Absorption etwas aus dem Muster, wie es typisch ist für para-substituierte Derivate. Der $n\pi^*$ -Übergang weist bei allen Derivaten der AMPB-Serie einen vergleichbaren Extinktionskoeffizienten auf. Die Absorptionsmaxima beider Übergänge sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst. Die nahezu identischen Absorptionsspektren von 3,4'-AMPB und 3,3'-AMPB verdeutlichen, dass die Lage der Banden maßgeblich von der Position der Säuregruppe abhängt. Die Position der durch die Methylgruppe vom Grundgerüst getrennten Aminofunktionalität hat keinen Einfluss auf die Lage der Absorptionsbanden.

Die Löslichkeit der Derivate in Methanol kann durch Zugabe von stark verdünnter wässriger Natronlauge erheblich verbessert werden, was aber weder die Lage der Absorptionsbanden noch die Dynamik verändert, wie vergleichende Messungen zeigten. Für die zeitaufgelösten Messungen wurden Proben mit Zusatz von Natronlauge verwendet.

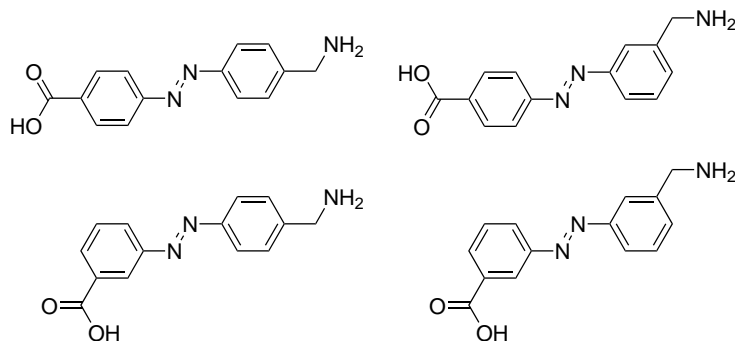


Abbildung 4.26: Molekülstrukturen der AMPB-Derivate: 4,4'-AMPB, 4,3'-AMPB, 3,4'-AMPB, 3,3'-AMPB.

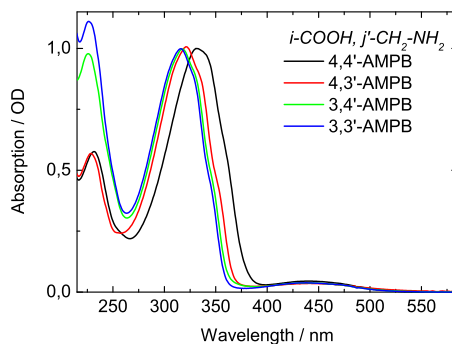


Abbildung 4.27: Absorptionsspektren der AMPB-Derivate in Methanol.

Zeitaufgelöste Messungen

Die $\text{trans} \rightarrow \text{cis}$ -Isomerisierung der AMPB-Derivate wurde nach Anregung bei 480 nm und 340 nm untersucht. Ein Überblick über die transienten Absorptionsänderungen nach der Anregung ist in Abbildung 4.28 gegeben. Die Absorption des angeregten Zustands weist nach Anregung mit 480 nm zwei

Derivat	$\pi\pi^*$	$n\pi^*$
4,4'-AMPB	332 nm	460 nm
4,3'-AMPB	321 nm	444 nm
3,4'-AMPB	316 nm	437 nm
3,3'-AMPB	316 nm	437 nm

Tabelle 4.10: Absorptionsmaxima der $i(-\text{COOH})_j(-\text{CH}_2\text{NH}_2)$ -AMPB-Derivate

distinkte Maxima auf, von denen die intensivere Absorptionsänderung um 450 nm lokalisiert ist und eine schwächere Bande um 550 nm auftritt. Die ESA im roten Spektralbereich ist nach Anregung mit 340 nm weniger ausgeprägt und kurzlebiger. Inwiefern die Dynamik eine Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge zeigt, wird im Folgenden genauer betrachtet.

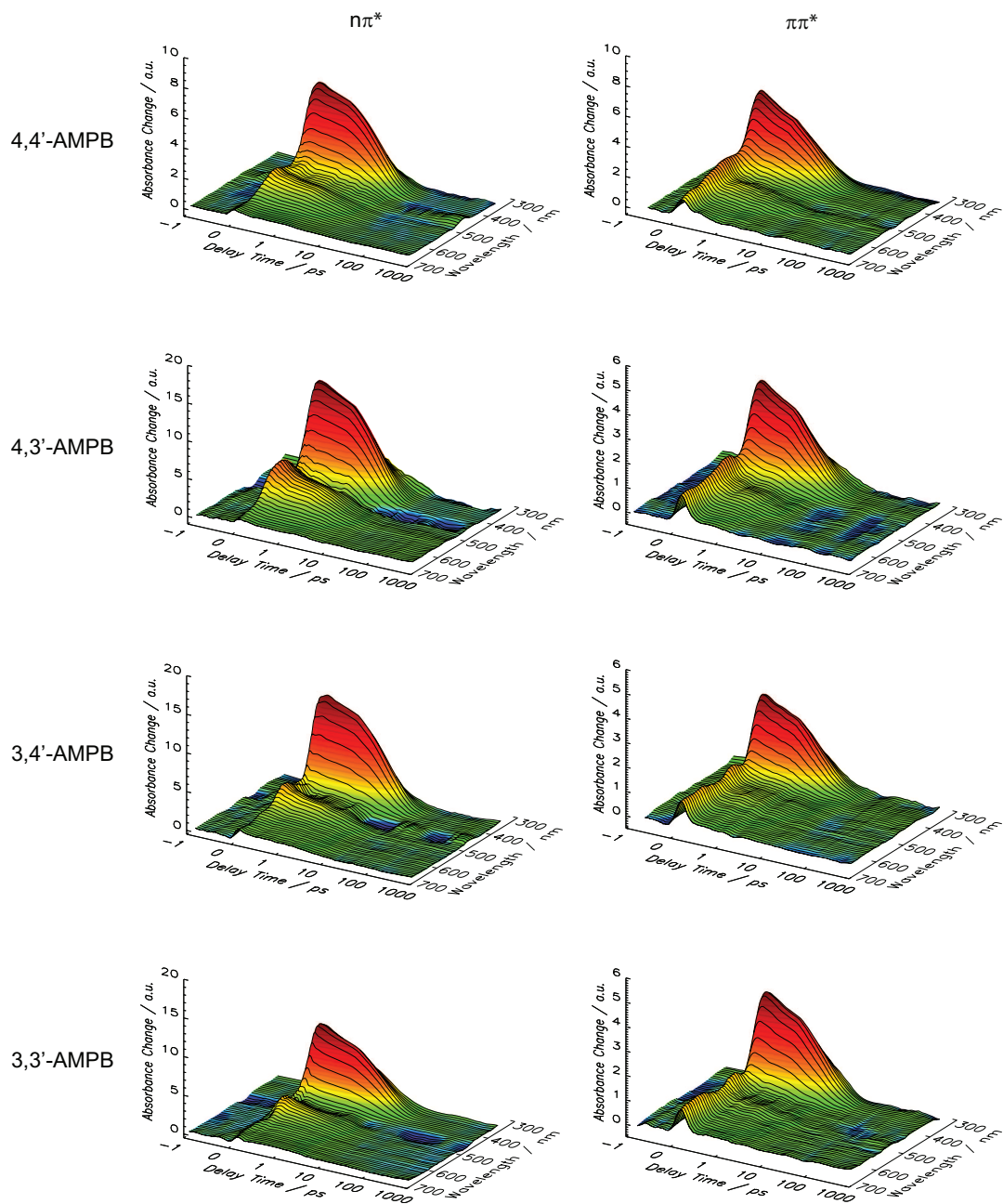


Abbildung 4.28: 3d-Abbildungen von oben nach unten: 4,4'-AMPB, 4,3'-AMPB, 3,4'-AMPB und 3,3'-AMPB. Jeweils links nach Anregung mit 480 nm, rechts nach Anregung mit 340 nm.

i) Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=480\text{ nm}$

Vergleicht man die Abbildungen 4.28 (linke Seite), so fällt vor allem die große Ähnlichkeit zwischen den vier Derivaten auf. Eine intensive Absorptionsänderung ist von einer schwächeren Bande spektral durch einen Einschnitt bei 450 nm bis 480 nm getrennt. Die Maxima sind spektral leicht verschoben, wobei sich die angeregten Zustände der 4-COOH-Derivate etwas von denen der 3-COOH-Derivate unterscheiden.

Auch beim Vergleich einzelner Transienten (Abbildung 4.29) sieht man die sehr ähnlichen Abklingzeiten bei einer Abtastwellenlänge von 403 nm, wohingegen bei 531 nm die schnelle Komponente bei den Derivaten 4,3'-AMPB und 3,4'-AMPB ausgeprägter ist.

Die Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten (Abbildung 4.30) zeigen den schnellen und gleichmäßigen Zerfall der ESA über den gesamten Spektralbereich. Die eigentlich charakteristische Bleichsignatur am blauen Rand des Messbereichs ist nur bei 4,4'-AMPB aufgelöst, dem Derivat, welches am weitesten rotverschoben absorbiert. Um 480 nm verfälscht Streulicht teilweise die Messpunkte und verschlechtert das Signal/Rausch-Verhältnis in diesem Bereich.

Das Ergebnis der globalen Fitanalyse ist in den Abbildungen 4.31, sowie in Tabelle 4.11 zusammengefasst.

i-COOH, j'-CH ₂ -NH ₂	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
4,4'-AMPB	< 100 fs	0,8 ps	5,7 ps	1 μ s
4,3'-AMPB	< 100 fs	\simeq 0,1 ps	4,1 ps	1 μ s
3,4'-AMPB	< 100 fs	0,2 ps	5,2 ps	—
3,3'-AMPB	< 100 fs	0,6 ps	5,0 ps	—

Tabelle 4.11: Zerfallszeiten der AMPB-Derivate nach Anregung mit 480 nm

Bei den Derivaten 3,4'-AMPB und 3,3'-AMPB war das Einführen einer langsamen Zerfallszeit nicht nötig, da keine Rest- oder Störsignale am Ende des Messbereichs angepasst werden mussten. Der eigentliche Signalverlauf wurde bei allen vier Derivaten mit drei exponentiellen Zerfällen angepasst. Die frühen Prozesse werden mit einer sehr schnellen Zerfallszeit ($\tau_D < 100\text{ fs}$) beschrieben. Wie auch bei reinem Azobenzol findet man noch eine Zerfallszeit in der Größenordnung von einer Pikosekunde sowie eine 5 ps-Zeitkonstante. Die schnellere Zeit hat kaum Anteil am Zerfall der ESA unterhalb von 450 nm, sondern dominiert im Bereich zwischen 450 nm und 670 nm. Die ESA zwischen 350 nm und 450 nm zerfällt fast ausschließlich mit der langsameren Zerfallszeit (siehe auch Abbildung 4.31). Die DAS von 3,4'- und 3,3'-AMPB sind vor allem im Bereich zwischen 350 nm und 430 nm nahezu identisch, wie auch die Absorptionsspektren des Grundzustands. Im Gegensatz dazu weisen auch die beiden anderen Derivate (4,4'-AMPB und 4,3'-AMPB) spektrale Gemeinsamkeiten auf, so dass der Schluss nahe liegt, dass die Position der Säurefunktionalität die Absorption dieser Derivate maßgeblich beeinflusst, wohingegen die Position der Aminomethylgruppe unwesentlich scheint.

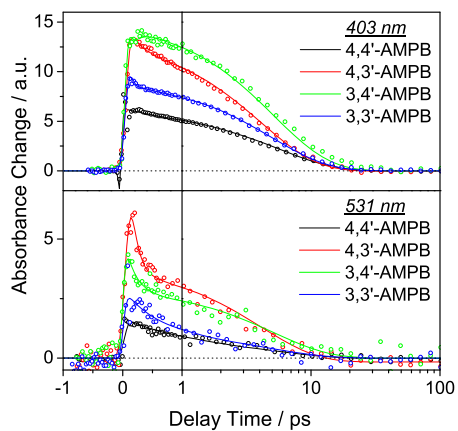


Abbildung 4.29: Transienten der AMPB-Derivate bei 403 nm und 531 nm.

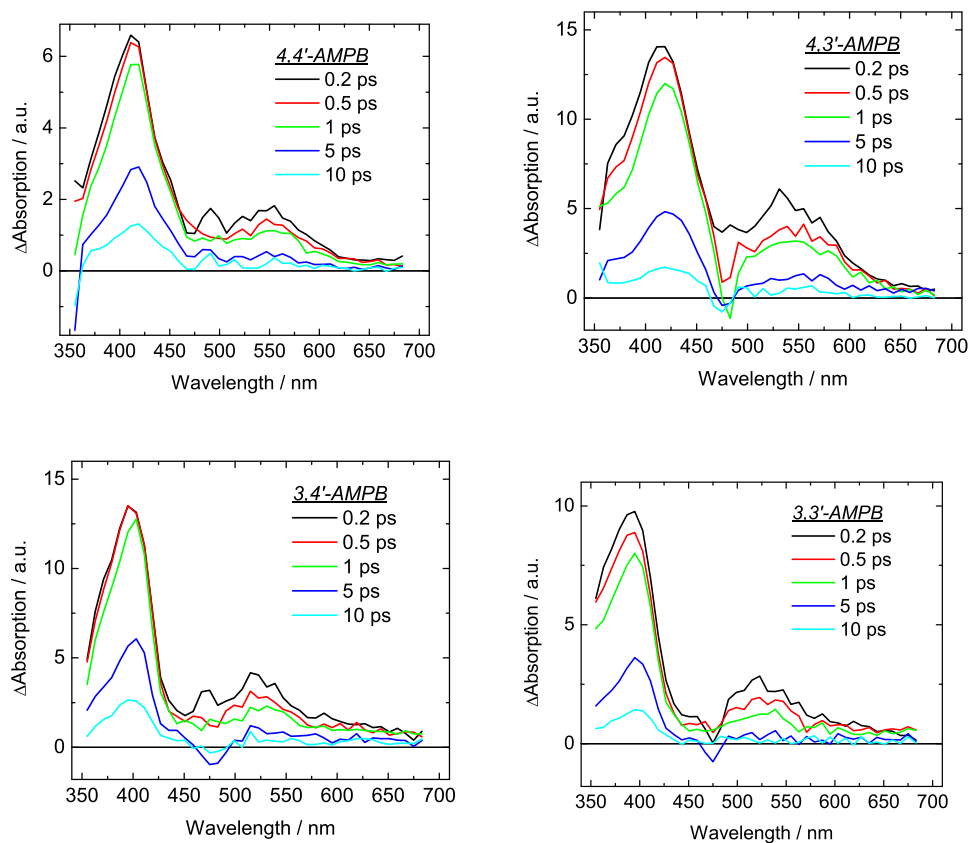


Abbildung 4.30: Vergleich der transienten Spektren der AMPB-Derivate bei verschiedenen Verzögerungszeiten.

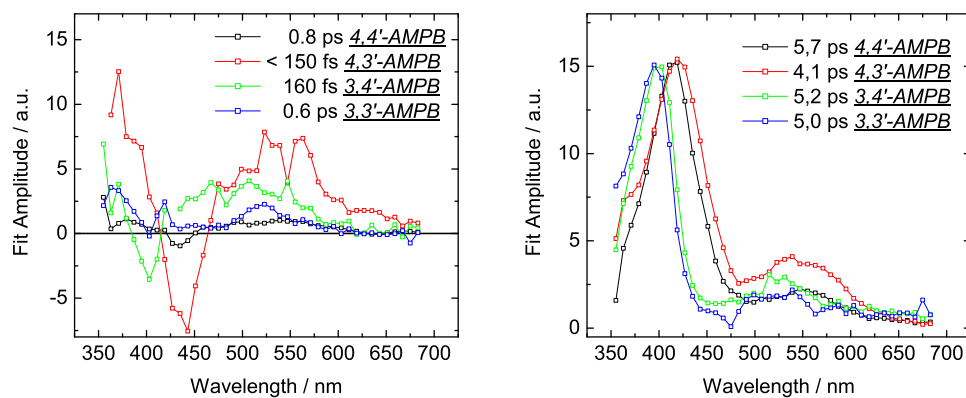


Abbildung 4.31: Vergleich der DAS der AMPB-Derivate. Die Spektren von 4,4'-AMPB und 3,3'-AMPB wurden skaliert (durch Multiplikation mit 2,2 bzw. 1,6) um eine bessere Vergleichbarkeit zu ermöglichen.

ii) Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=340$ nm

Nach Anregung mit 340 nm ergibt sich nahezu das gleiche Bild im angeregten Zustand, wie nach Anregung in der $n\pi^*$ -Bande, wie Abbildung 4.28 zeigt. Auch hier findet man eine starke ESA-Bande um 450 nm, sowie einen Bereich schwächerer ESA um 550 nm, der in den 3d-Abbildungen allerdings weniger deutlich hervortritt. Repräsentative Transienten aus beiden Bereichen sind in Abbildung 4.32 gezeigt. Die Dynamik lässt sich gut durch vier exponentielle Zerfälle (bzw. drei Zerfälle, sowie eine Konstante) anpassen, wobei die erste, sehr schnelle Zeitkonstante im Wesentlichen frühe Prozesse im angeregten Zustand beschreibt, die nicht im Bereich der Zeitauflösung liegen. Die vierte Zeitkonstante wird als Konstante auf eine Mikrosekunde festgesetzt. Die angepassten Zeitkonstanten aller vier Derivate nach Anregung bei 340 nm, sind in Tabelle 4.12 zusammengefasst. Die Zerfallszeiten aller vier Derivate sind sehr ähnlich, so dass angenommen werden muss, dass die Dynamik nicht durch die Position der Substituenten beeinflusst wird. Die Zerfallsassozierten Spektren zur 1 ps und 6 ps Zerfallszeit sind in Abbildung 4.33 gezeigt. Hier erkennt man, dass die beiden Derivate mit der Säurefunktionalität in 4-Position zur Diazogruppe leicht rotverschobene ESA-Maxima im Vergleich zu den Derivaten mit der Säuregruppe in 3-Position aufweisen.

i-COOH, j'-CH ₂ -NH ₂	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
4,4'-AMPB	< 300 fs	0,7 ps	5,1 ps	1 μ s
4,3'-AMPB	< 300 fs	1,6 ps	6,2 ps	1 μ s
3,4'-AMPB	< 300 fs	1,5 ps	5,8 ps	1 μ s
3,3'-AMPB	< 300 fs	1,2 ps	5,6 ps	1 μ s

Tabelle 4.12: Zerfallszeiten der AMPB-Derivate nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm.

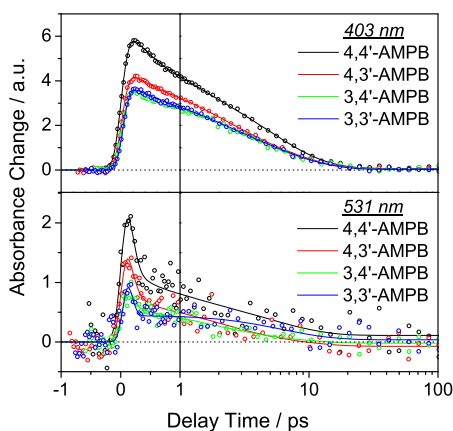


Abbildung 4.32: Transienten der AMPB-Derivate bei den Abtastwellenlängen $\lambda_{probe}=403$ nm und $\lambda_{probe}=531$ nm.

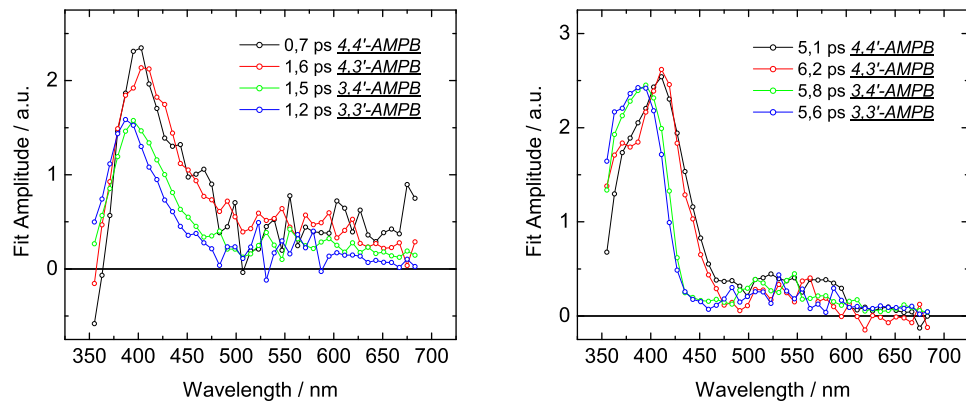


Abbildung 4.33: Vergleich der DAS der AMPB-Derivate. Die DAS der langsameren Zerfallszeit wurden skaliert (4,4'-AMPB wurde durch 1,8 geteilt, 3,3'-AMPB durch 1,2).

iii) Vergleich der Dynamik nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm

In Abbildung 4.34 sind die Transienten im Bereich maximaler ESA ($\lambda_{probe}=403\text{ nm}$) aller vier Derivate gegenübergestellt. Die Darstellung ermöglicht einen direkten Vergleich der ESA nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm.

Nach Anregung mit 340 nm findet man eine deutlich ausgeprägte Zerfallskomponente innerhalb der ersten Pikosekunde, die mit $\tau_D < 300\text{ fs}$ angepasst wurde. In diesem Zeitbereich findet der schnelle Übergang aus dem zweiten angeregten in den ersten angeregten Zustand statt. Nach Anregung mit 480 nm zerfällt die ESA in diesem Bereich deutlich langsamer.

Die Zerfallszeiten τ_2 und die entsprechenden DAS, welche in Abbildung 4.35 (oben) dargestellt sind, zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge, was unter Voraussetzung des vorgestellten Reaktionsmodells verständlich ist. So wird nach Anregung bei 340 nm der erste angeregte Zustand durch schnelle Konversion aus dem zweiten angeregten Zustand populiert. Dabei sind andere Vorzugsgeometrien zu erwarten, als nach Anregung in die Franck-Condon-Region des S_1 -Zustands mit $\lambda_{exc}=480\text{ nm}$. Die Geschwindigkeit mit der die konische Durchschneidung $CI(S_1S_0)$ erreicht wird ist abhängig von der Struktur der Potentialfläche und somit davon, aus welcher Molekülgeometrie die Durchschneidung erreicht werden muss. Die ermittelten Zerfallszeiten deuten darauf hin, dass der Übergang in den Grundzustand nach $n\pi^*$ -Anregung deutlich schneller verläuft als nach $\pi\pi^*$ -Anregung.

Demgegenüber weisen die DAS und die zugehörigen Zerfallszeiten τ_3 für die AMPB-Derivate eine große Ähnlichkeit auf, wie Abbildung 4.35 (unten) zeigt. Damit wird das Modell von einer diffusen Bewegung im S_1 -Zustand, welche zurück in den Grundzustand führt, unterstützt, da dieser Prozess damit unabhängig von der Anregungswellenlänge ist.

Vergleicht man die vier Verbindungen untereinander, so fällt auf, dass die Aminogruppe durch die CH_2 -Gruppe elektronisch vom Azobenzolteil der Moleküle abgeschirmt ist. Ihre Position zeigt keinen systematischen Einfluss auf die untersuchte Dynamik. Die Position der Säurefunktionalität hat Einfluss auf die Absorption des angeregten Zustands, wie die DAS in Abbildung 4.35 zeigen: 4,4'-AMPB und 4,3'-AMPB absorbieren jeweils leicht rotverschoben im Vergleich zu 3,3'- und 3,4'-AMPB. Eine Auswirkung auf die Zerfallszeiten ist demgegenüber nicht zu beobachten.

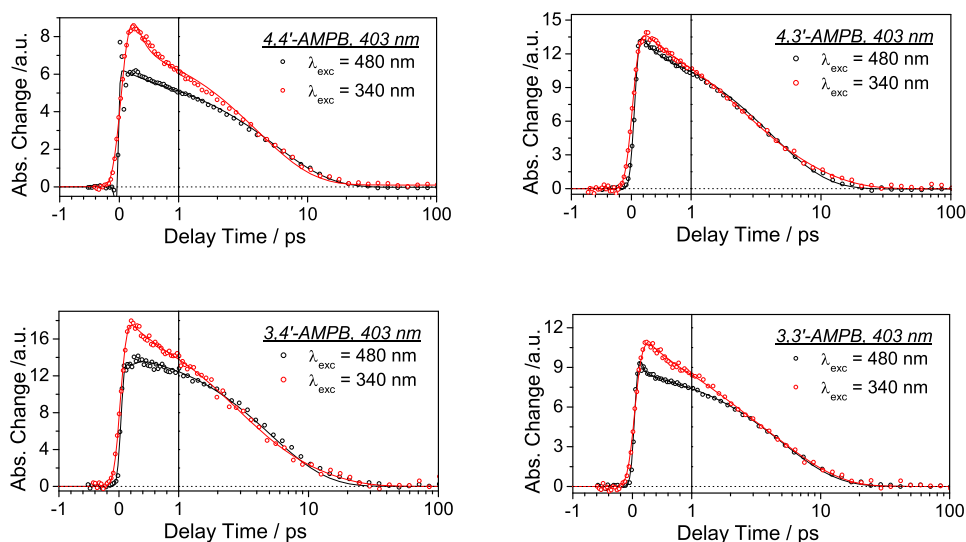


Abbildung 4.34: Vergleich der Dynamik der AMPB-Derivate jeweils nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm

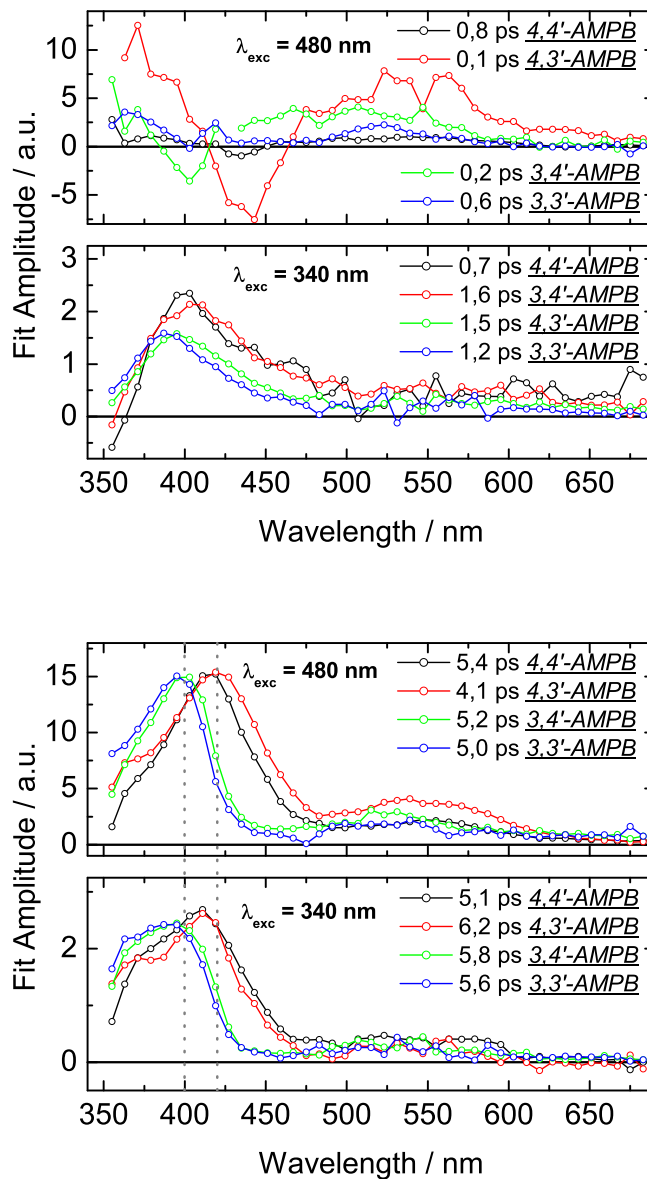


Abbildung 4.35: Vergleich der DAS der Hauptkomponente jeweils nach Anregung mit 480 nm bzw. 340 nm. Die gepunkteten Linien markieren die Maxima der DAS nach Anregung mit 480 nm und liegen bei 400 nm bzw. 420 nm.

3-(3'-Aminophenylazo)benzoesäure (3,3'-APB), 3-(3'-Acetylamino-phenylazo)-benzoesäure-methylester (3,3'-AaPBm) und 3-(3'-Nitrophenylazo)benzoesäure (3,3'-NPB)

Statische Messungen

Die Derivate 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB wurden mit 340 nm ($\pi\pi^*$) und 480 nm ($n\pi^*$) angeregt. Bei der 4,4'-Substitution mit einer Amino- und einer Carbonylgruppe (4,4'-APB) schiebt der $\pi\pi^*$ -Übergang so stark in den langwelligeren Spektralbereich, dass die Bande mit der $n\pi^*$ -Bande überlagert. Ihr Absorptionsspektrum ist in Abbildung 4.37 (rechts) gezeigt. Diese Verbindung wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht mittels zeitaufgelöster Methoden untersucht. Die Molekülstrukturen der 3,3'-substituierten Verbindungen sind in Abbildung 4.36 dargestellt, in Abbildung 4.37 (links) sind die zugehörigen Absorptionsspektren gezeigt. Auffällig ist der vergrößerte Extinktionskoeffizient des $n\pi^*$ -Übergangs von 3,3'-APB im Vergleich zu dem der anderen beiden Derivaten. Die Aminogruppe erhöht die Elektronendichte des Chromophors und führt zu einer bathochromen Verschiebung gegenüber reinem Azobenzol. Das Absorptionsmaximum des $\pi\pi^*$ -Übergangs liegt in DMSO bei 324 nm. Acetylierung hebt diesen Effekt wieder auf, das Absorptionsmaximum von 3,3'-AaPBm verschiebt sich gegenüber dem von 3,3'-APB um 10 nm hin zu 314 nm. Die Nitrogruppe hat einen elektronenziehenden Einfluss und führt zu einer kaum veränderten Absorption im Vergleich zu reinem AB. Das Maximum der Absorption in DMSO ist bei 318 nm.

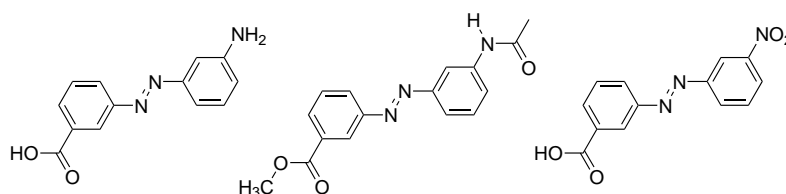


Abbildung 4.36: Molekülstrukturen von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB

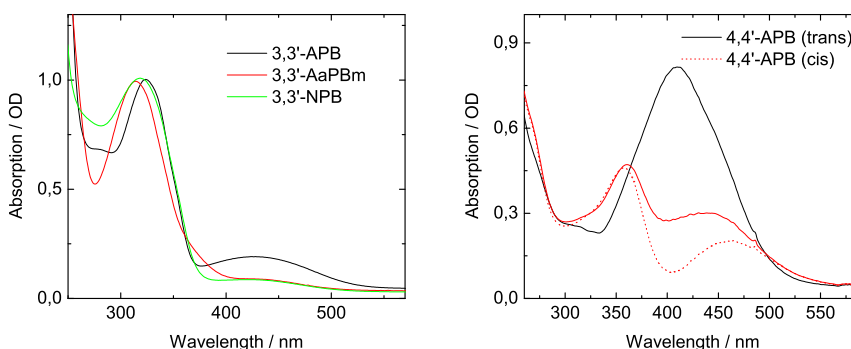


Abbildung 4.37: Absorptionsspektren von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB in DMSO (links) und von trans- und cis-4,4'-APB in DMSO (in rot ist die isomerisierte Probe nach Belichten mit einem Anteil von etwa 25% trans gezeigt, gestrichelt das berechnete Spektrum von cis-4,4'-APB)(rechts).

Zeitaufgelöste Messungen

Die 3d-Abbildungen 4.38 geben einen Überblick über die transiente Absorptionsänderung der Derivate 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB nach Anregung mit 480 nm (links), bzw. nach Anregung mit

340 nm (rechts). Die angeregten Zustände unterscheiden sich vor allem im Bereich zwischen 450 nm und 700 nm in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge und werden im Folgenden zunächst getrennt voneinander vorgestellt.

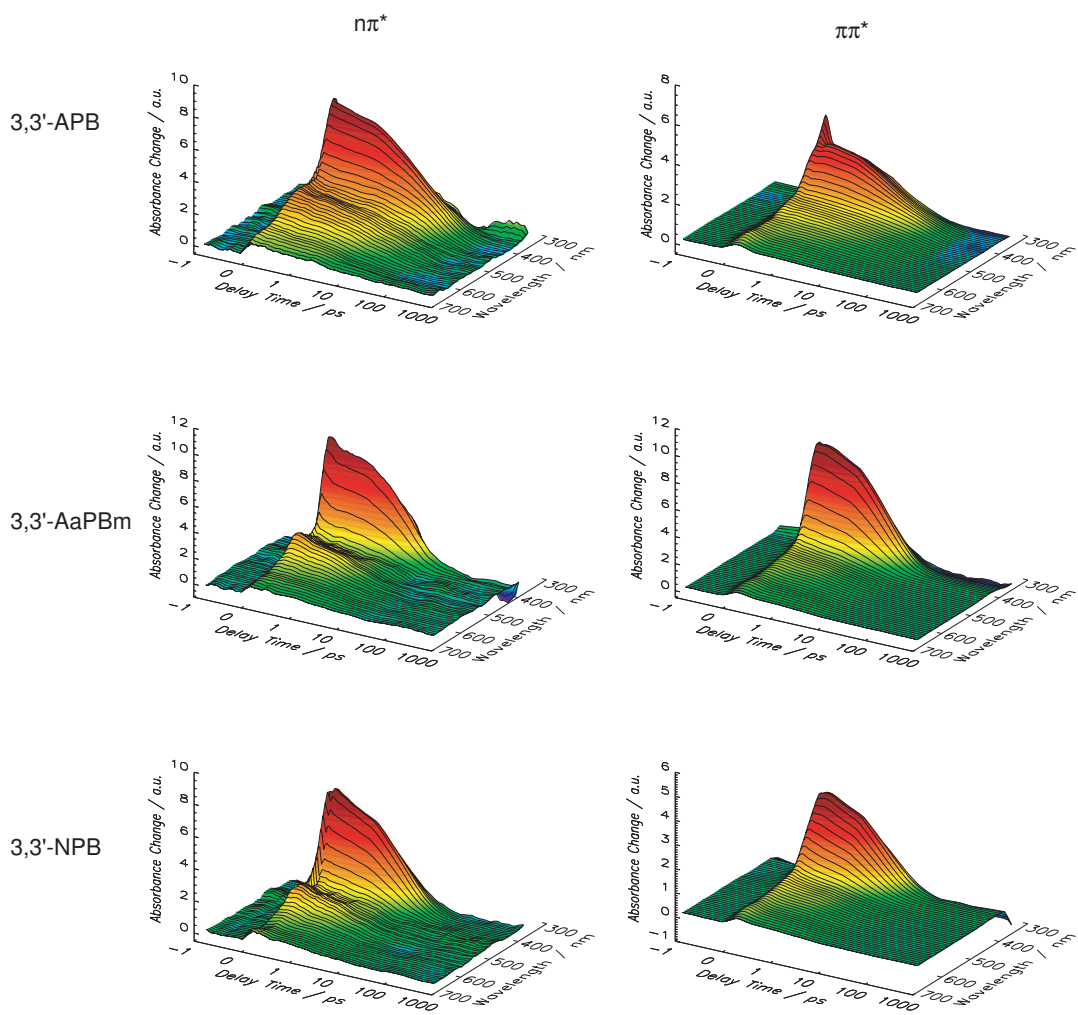


Abbildung 4.38: 3d-Abbildungen der Azobenzolderivate, von oben nach unten: 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB nach Anregung der in DMSO gelösten Proben mit $\lambda_{exc}=480$ nm (links) und $\lambda_{exc}=340$ nm (rechts).

i) Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=480\text{ nm}$

Eine Übersicht über die Dynamik der Azobenzolderivate 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB nach Anregung mit 480 nm ist in Abbildung 4.38 auf der linken Seite gezeigt. Wie schon bei anderen Derivaten, so sind auch hier zwei Bereiche der ESA voneinander zu unterscheiden. Eine intensive Bande im Bereich um 410 nm und eine schwache Bande um 540 nm, die sich bei allen drei Derivaten findet. Bei der Verbindung 3,3'-AaPBm ist das Ausbleichen des Grundzustands unterhalb von 380 nm zu erkennen.

Die Darstellung einzelner Transienten aus dem Bereich der ESA (Abbildung 4.39), zeigt die unterschiedliche Dynamik der drei Verbindungen. Die globale Anpassung der Daten ergab, dass der Zerfall der ESA bei diesen Derivaten mit drei Zeitkonstanten angepasst werden kann.

Bei der Verbindung 3,3'-APB ist die schnelle Komponente mit $\tau_1 < 100\text{ fs}$ in den gezeigten Transienten kaum zu erkennen. Auffällig ist eine langsame Komponente, die selbst nach 100 ps noch eine leicht positive Absorptionsänderung hervorruft und bei keinem anderen untersuchten Derivat in dieser Ausprägung auftritt. Die Hauptzerfallszeiten sind $\tau_2=2,9\text{ ps}$ bzw. $\tau_3=41,5\text{ ps}$. Die entsprechenden DAS (Abbildung 4.40) zeigen, dass auch der langsame Zerfall Anteile im gesamten Spektralbereich aufweist. Dies deutet darauf hin, dass diese Zeit mit Prozessen im angeregten Zustand verknüpft ist.

Die Einführung der Schutzgruppen (Acetylierung der Aminofunktionalität bzw. Methylierung der Carbonsäure) führt dazu, dass die Dynamik im Vergleich zu 3,3'-APB deutlich schneller wird. Ähnlich wie bei unsubstituiertem AB, kann der Zerfall mit einer schnellen ($\tau_2=1,1\text{ ps}$) und einer langsamen Zerfallszeit ($\tau_3=9,3\text{ ps}$) angepasst werden.

Die schnellste Dynamik in dieser Reihe weist 3,3'-NPB auf, welches mit zwei Elektronenakzeptoren substituiert ist. Die ESA verschwindet mit $\tau_2=1,5\text{ ps}$ und $\tau_3=7,2\text{ ps}$ vollständig.

Alle Zerfallszeiten sind in Tabelle 4.13 zusammengefasst.

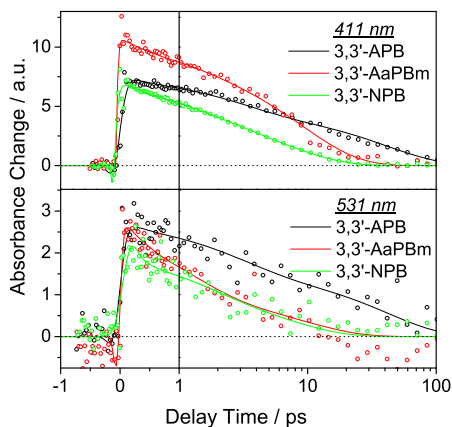


Abbildung 4.39: Transienten von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB bei den Abtastwellenlängen $\lambda_{probe}=411\text{ nm}$ und $\lambda_{probe}=531\text{ nm}$.

Die para-substituierte Variante 4,4'-APB weist einen ausgeprägten push-pull-Charakter auf, der dazu führt, dass der $\pi\pi^*$ -Übergang soweit bathochrom verschoben ist, dass er den $n\pi^*$ -Übergang spektral überlagert. Dies führt zu einigen Problemen, wenn die Messprozedur der anderen Derivate auf dieses Derivat übertragen werden soll. So ist z.B. ein Vergleich der trans \rightarrow cis-Isomerisierung nach $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Anregung nicht möglich, da die beiden Übergänge nicht getrennt voneinander angeregt werden können. Ebenso ist die Rückbelichtung aus dem gleichen Grund erschwert, da dabei häufig das cis-Isomer angereichert wird. Die zeitaufgelöste trans \rightarrow cis-Isomerisierung von 4,4'-APB in Ethanol nach

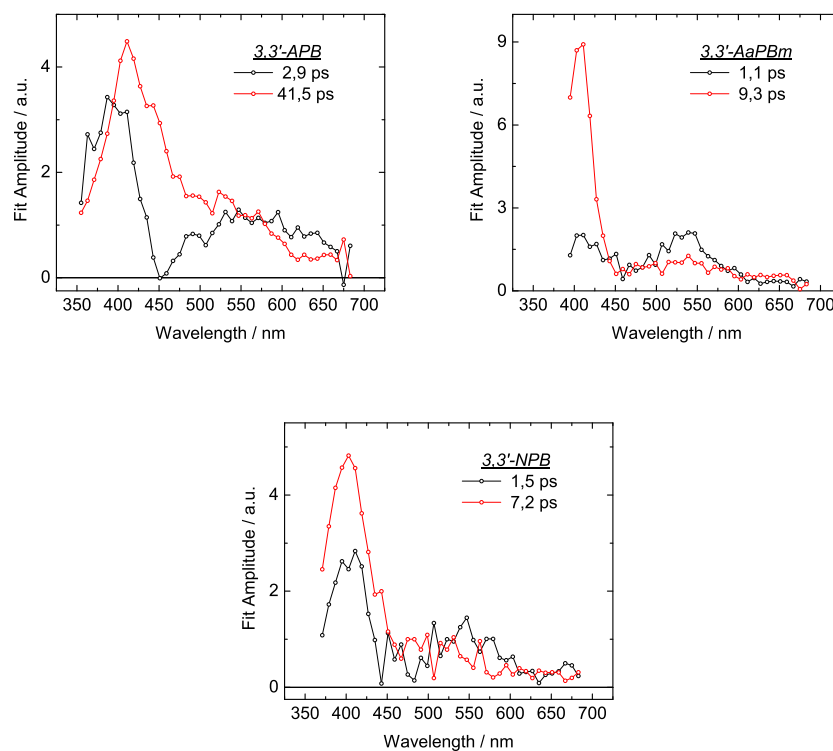


Abbildung 4.40: Vergleich der DAS von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB nach Anregung mit $\lambda_{exc}=480$ nm.

Anregung mit 435 nm wurde von Wachtveitl et al. [107] durchgeführt. Auch dieses Derivat konnte mit einer schnellen Zeit ($\tau_D < 200$ fs), die der Bewegung aus der Franck-Condon-Region zugeordnet wurde, einer Zerfallszeit von etwa 1 ps, die der eigentlichen Isomerisierung mit dem Erreichen des Grundzustands entspricht und einer längeren Zeit ($\tau_D \sim 3-15$ ps), die auf Kühlprozesse zurückgeführt wurde, angepasst werden. Zusätzlich wiesen einige Kanäle eine Zerfallszeit von etwa 280 ps auf.

i-NH ₂ , j'-COOH	τ_1	τ_2	τ_3
3,3'-APB	< 100 fs	2,9 ps	41,5 ps
3,3'-AaPBm	< 100 fs	1,1 ps	9,3 ps
3,3'-NPB	< 100 fs	1,5 ps	7,2 ps

Tabelle 4.13: Zerfallszeiten der APB-Derivate und von NPB nach Anregung mit 480 nm.

ii) Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs bei $\lambda_{exc}=340$ nm

Eine Übersicht über die Absorptionsänderungen nach Anregung der 3,3'-substituierten Derivate mit 340 nm ($\pi\pi^*$) ist in Abbildung 4.38 (rechts) gezeigt. Bei allen drei Derivaten ist die leicht gebleichte Absorptionsbande des trans-Isomers, als langlebige blaue Signatur bei etwa 340 nm erkennbar. Bei dieser Anregungswellenlänge überlagert Effekte des Lösungsmittels das Probensignal in den ersten hundert Femtosekunden. Die Subtraktion dieses Beitrags ist prinzipiell möglich, erweist sich technisch allerdings als schwierig. So rühren steile Peaks oder "Zacken" innerhalb der ersten 300 fs zumeist von der Lösungsmittelsubtraktion her. Auffällig beim Vergleich der drei Derivate ist der langsame Zerfall des angeregten Zustands im Falle von 3,3'-APB, der auch nach Anregung in der $n\pi^*$ -Bande auftritt. Die Unterschiede zwischen den Derivaten sind gut in den Einzeltransienten bei ausgewählten Wellenlängen zu sehen, wie sie in Abbildung 4.41 gezeigt sind. Die angeregten Zustände zerfallen jeweils multiexponentiell mit einer schnellen Zerfallszeit ($\tau_1 < 300$ fs) und zwei langsameren Zeiten und wurden zusätzlich mit einer Konstanten ($\tau_4=1 \mu\text{s}$) angepasst. 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB weisen eine ähnliche Dynamik auf, wie die vorher beschriebenen Derivate der ADBm- und ADN-Serie, mit einer Zerfallszeit τ_2 im ein bis zwei Pikosekundenbereich und τ_3 im Bereich von 5 bis 10 ps. Diese beiden Zerfallszeiten sind mit $\tau_2=4$ ps und $\tau_3=42$ ps deutlich langsamer bei 3,3'-APB. Die Isomerisierung ist am DAS des Residuums ($\tau_4=1 \mu\text{s}$) an der Signatur des ausgebleichten trans-Isomers zu erkennen. Die Ergebnisse der globalen Fitanalyse sind in Abbildung 4.42 und Tabelle 4.14 zusammengefasst.

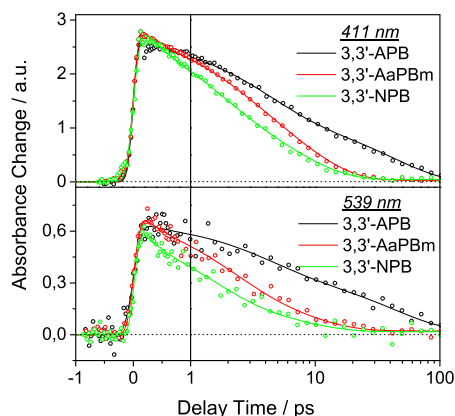


Abbildung 4.41: Vergleich der transienten Absorptionsänderungen von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB bei ausgewählten Wellenlängen ($\lambda_{probe}=411$ nm und $\lambda_{probe}=539$ nm) nach Anregung bei 340 nm.

i-NH ₂ , j'-COOH	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4
3,3'-APB	< 300 fs	3,9 ps	42,1 ps	1 μs
3,3'-AaPBm	< 300 fs	1,9 ps	7,6 ps	1 μs
3,3'-NPB	< 300 fs	1,3 ps	6,6 ps	1 μs

Tabelle 4.14: Zerfallszeiten der APB-Derivate und von NPB nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm.

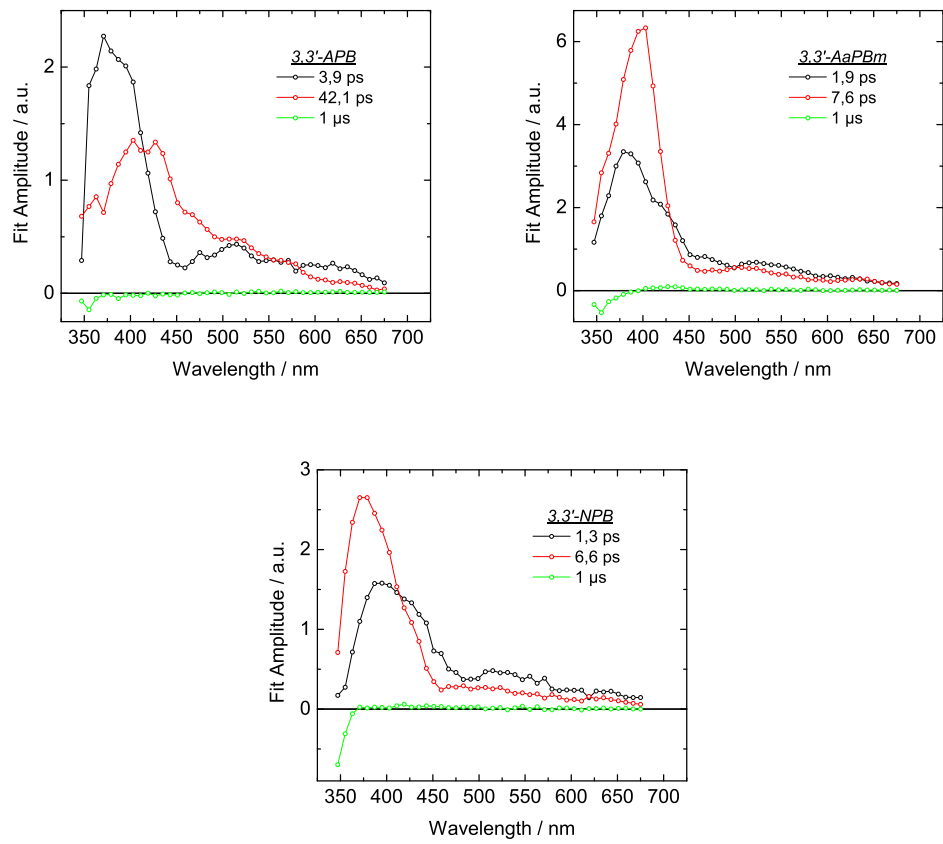


Abbildung 4.42: Vergleich der zerfallsassoziierten Spektren von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB, nach Anregung mit 340 nm.

iii) Vergleich der Dynamik in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge

Wie schon bei anderen Derivaten, so ist auch bei diesen Verbindungen der Anteil der ESA im roten Spektralbereich reduziert nach Anregung mit 340 nm im Vergleich zur Anregung mit 480 nm. Skaliert man die Transienten, so erkennt man die Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten in der Dynamik in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge. (Abbildung 4.43).

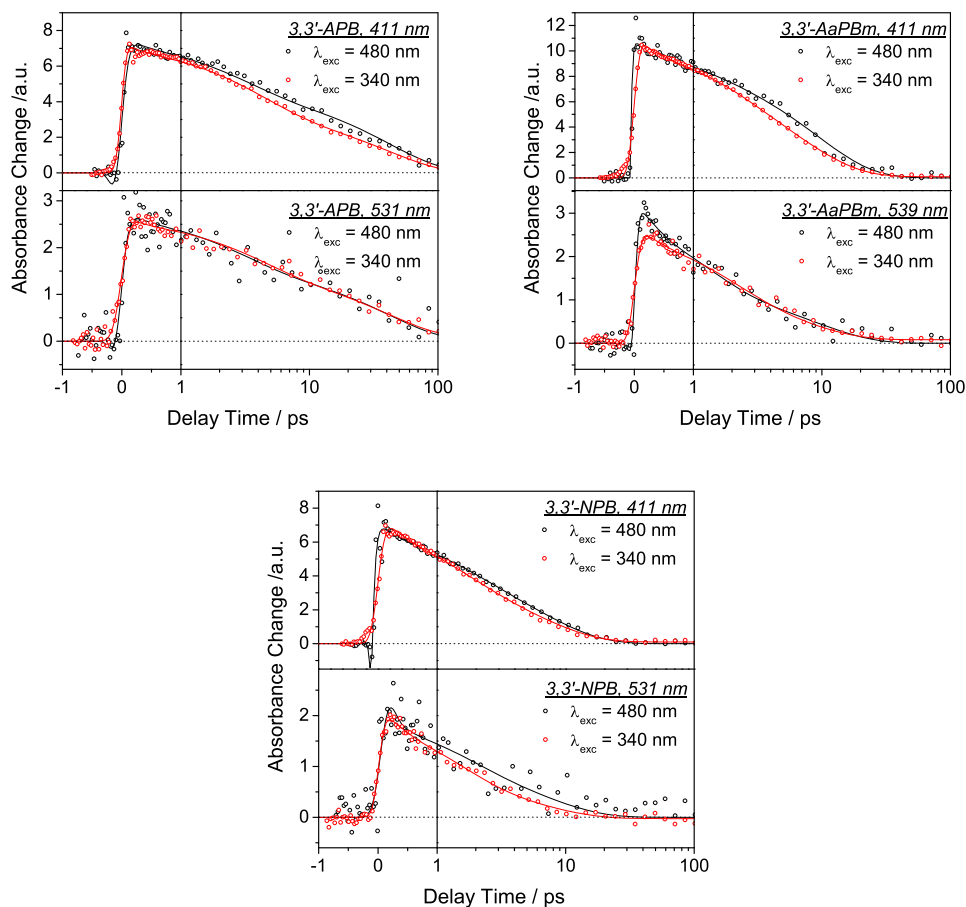


Abbildung 4.43: Vergleich der Einzeltransienten von 3,3'-APB, 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB

Der Vergleich der Transienten zeigt, dass die Dynamik nahezu unabhängig von der Anregungswellenlänge ist. Dies unterstützt das Modell, dass der Übergang des höher angeregten Zustands in den niedrigsten angeregten Zustand nach $\pi\pi^*$ -Anregung innerhalb weniger hundert Femtosekunden stattfindet und die Zerfallszeiten τ_2 und τ_3 Prozesse im niedrigsten angeregten Zustand beschreiben und deutet darauf hin, dass bei diesen Derivaten schnell ähnliche Vorzugsgeometrien im ersten angeregten Zustand eingenommen werden.

Auffällig bei den drei untersuchten Derivaten ist die Zerfallszeit $\tau_D=42$ ps, die bei 3,3'-APB gefunden wurde. Eine vergleichbar lange Zeit tritt bei keinem anderen hier untersuchten 3,3'-substituierten Derivat auf. Das Amplitudenspektrum ist in Abbildung 4.44 dargestellt. Man sieht deutlich, dass die spektrale Charakteristik dieses Zerfalls unabhängig von der Anregungswellenlänge ist.

Werden die Säure- und die Aminogruppe durch Methylierung bzw. Acetylierung geschützt (3,3'-AaPBm),

wird die Isomerisierung beschleunigt und ist vergleichbar mit der Dynamik der bereits vorgestellten Verbindungen.

3,3'-NPB ist in seinen elektronischen Eigenschaften den bereits vorgestellten ADBm-Derivaten sehr ähnlich, da auch diese Derivate mit zwei elektronenziehenden Substituenten ausgestattet sind. Eine Abhängigkeit der Dynamik von der Anregungswellenlänge ist wenig ausgeprägt.

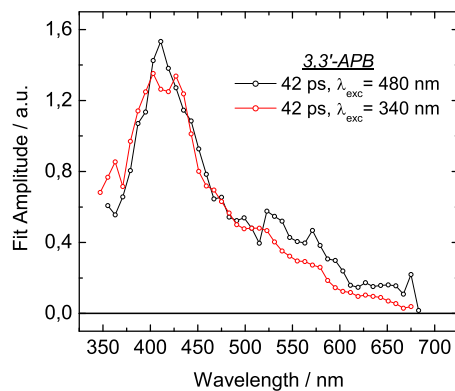


Abbildung 4.44: Vergleich der 42 ps-Zerfallszeit von 3,3'-APB in DMSO für verschiedene Anregungswellenlängen (die Spektren wurden zur besseren Vergleichbarkeit skaliert).

4.3.4 Interpretation und Diskussion

Reaktionsmodell und Interpretation der Zerfallszeiten

In den einleitenden Kapiteln wurde bereits darauf hingewiesen, dass der Mechanismus der Isomerisierung nach Anregung des $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Übergangs noch immer diskutiert wird. Hierbei steht vor allem die Isomerisierungsordinate im Zentrum des Interesses. Für die Interpretation der hier durchgeführten Messungen ist zudem die genaue Zuordnung der ermittelten Zerfallszeiten zu Prozessen im angeregten Zustand wünschenswert.

Der Interpretation der hier vorgestellten Ergebnisse seien die wichtigsten Resultate zweier Arbeiten vorangestellt: Eine ausführliche experimentelle Untersuchung der Isomerisierung von Azobenzol mittels zeitaufgelöster Anreg-Abtast-Spektroskopie im Sichtbaren von Satzger et al. [95, 96], sowie die kürzlich erschienene Arbeit von Conti et al. [18], in der der Mechanismus sowie die unterschiedlichen Quantenausbeuten der Isomerisierung in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge, unter Einbeziehung höher angeregter Zustände, interpretiert wurden.

Aus den von Satzger et al. beschriebenen zeitaufgelösten Messungen an Azobenzol in DMSO ging hervor, dass drei Zeitkonstanten notwendig sind, um die transienten Daten der $\text{trans} \rightarrow \text{cis}$ -Isomerisierung nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs, mittels globaler Fitanalyse anzupassen. Eine kurze Zerfallszeit $\tau_1=0,34$ ps ist demnach mit einer Bewegung aus der Franck-Condon-Region verknüpft, die einen Teil der angeregten Moleküle durch eine konische Durchschneidung zurück in den Grundzustand führt. Die mittlere Zerfallszeit $\tau_2=3,0$ ps beschreibt den Zerfall des ersten angeregten Zustands durch diffusive Prozesse. Eine dritte langsame Zeit $\tau_3=12$ ps wurde der Schwingungsrelaxation 'heißer' Moleküle im Grundzustand zugeordnet.

Messungen der Isomerisierung von trans-AB in EtOH nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs ergaben, dass vier Zeitkonstanten zur Beschreibung der transienten Absorption notwendig sind. Drei der Zerfallszeiten entsprechen denen nach $n\pi^*$ -Anregung, eine vierte schnellere Zerfallszeit $\tau_1 = 0,13$ ps muss zusätzlich eingeführt werden. Diese beschreibt die strahlungslose Relaxation des höher angeregten Zustands in den niedrigsten angeregten Zustand. Die anderen Zeiten werden analog denen nach $n\pi^*$ -Anregung zugeordnet [95]. Die Zuordnung ist in Tabelle 4.15 zusammengefasst.

t \rightarrow c	Zerfallszeit	Interpretation
$n\pi^*$ -Exc.	0,34 ps	Bewegung aus der FC-Region, sowie Isomerisierung bzw. $S_1 \rightarrow S_0$ -Übergang durch eine konische Durchschneidung CI(S_1S_0)
	3,0 ps	Zerfall des ersten angeregten Zustands, durch diffusive Bewegung im S_1
	12 ps	Kühlprozesse im Grundzustand
$\pi\pi^*$ -Exc.	0,13 ps	Schneller Übergang des ursprünglich angeregten Zustands in den S_1 -Zustand über eine konische Durchschneidung CI(S_2S_1)
	0,42 ps	Isomerisierung bzw. $S_1 \rightarrow S_0$ -Übergang durch eine konische Durchschneidung CI(S_1S_0)
	2,9 ps	Diffuse Prozesse in S_1 , die den Übergang in S_0 verlangsamen
	12 ps	Kühlprozesse im Grundzustand

Tabelle 4.15: Zuordnung der Zerfallszeiten bei der Isomerisierung von trans-Azobenzol nach Satzger et al. [95, 96]

Unter Einbeziehung der ersten acht angeregten Zustände, fanden Conti et al. [18] einen höher angeregten Zustand (S_7), der nach $\pi\pi^*$ -Anregung eine wichtige Rolle bei der Isomerisierung spielt. Dieser ent-

spricht einem doppelt angeregten Zustand und wird auch als S(DE) (doppelt angeregt) bezeichnet. Nach Anregung des erlaubten $\pi\pi^*$ -Übergangs relaxieren die Moleküle in eine planare Gleichgewichtsgeometrie. Danach wird eine ultraschnelle Deaktivierung in den S(DE)-Zustand vollzogen, der bei dieser Geometrie der zweithöchste angeregte Zustand ist. Nun wird eine langsame Relaxation in eine verdrehte Geometrie vollzogen, mit der simultan eine schnelle interne Konversion in den niedrigsten angeregten Zustand vollführt wird. Die Interpretation der zeitaufgelösten Daten erfolgt analog der von Satzger et al. vorgestellten: Der Übergang des höher angeregten Zustands in den ersten angeregten Zustand erfolgt schnell und umfasst die Bewegung aus der Franck-Condon-Region, sowie eine Geometrieänderung, die in die Überschneidungsregion des ersten und zweiten angeregten Zustands führt. Im ersten angeregten Zustand findet nun einerseits eine Bewegung in Richtung der Gleichgewichtsgeometrie statt, die mit einer Schwingungsrelaxation einhergeht, sowie die interne Konversion, die auch zur Isomerisierung führt.

Interpretation der Ergebnisse

Die zeitaufgelösten Daten der hier untersuchten AB-Derivate können analog zu den oben genannten Prozessen interpretiert werden, was exemplarisch an den nitrilsubstituierten Verbindungen 4,4'-ADN und 3,3'-ADN ausgeführt werden soll, sich aber auch auf die ADBm-Derivate, die AMPB-Derivate, sowie auf 3,3'-AaPBm und 3,3'-NPB übertragen lässt:

3,3'-ADN und 4,4'-ADN nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs:

Eine Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs entspricht der Anregung in den ersten angeregten Zustand. Aus der Franck-Condon-Region heraus wird eine breite ESA beobachtet, die mit der Bewegung in Richtung des Potentialminimums spektral schmaler wird. Die Zerfallszeit $\tau_1=1$ ps entspricht dieser Bewegung und hat maßgeblichen Anteil am Abbau der ESA bei Wellenlängen größer als 500 nm (bzw. >450 nm). Der intensivere Anteil der ESA zerfällt in erster Linie mit $\tau_2=3,7$ ps (bzw. 6,3 ps) und kann dem Übergang in den Grundzustand zugeordnet werden, der sowohl in die cis- wie auch in die trans-Konformation führt.

3,3'-ADN und 4,4'-ADN nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs:

$\tau_1 < 150$ fs spiegelt die Bewegung aus der Franck-Condon-Region in Richtung des Potentialminimums wider und enthält, zeitlich nicht von diesem Prozess unterscheidbar, die interne Konversion in den niedrigsten angeregten Zustand. Für diese Zuordnung spricht der positive Beitrag in den DAS bei Wellenlängen > 500 nm (>420 nm bei 3,3'-ADN), sowie der negative Beitrag im kürzerwelligen Bereich, der das DAS von $\tau_2=0,5$ ps in diesem Bereich wiedergibt. Die beiden Zerfallszeiten $\tau_2=0,5$ ps und $\tau_3=2$ ps (bzw. 3,2 ps) werden Prozessen im niedrigsten angeregten Zustand zugeordnet. Hierzu gehören die Bewegung in Richtung des Potentialminimums sowie der Übergang in den Grundzustand. Beide Prozesse sind spektral nicht voneinander zu unterscheiden, finden aber auf unterschiedlichen Zeitskalen statt. Die DAS zu $\tau_4 > 10$ ps können analog der 12 ps-Zerfallszeit von Azobenzol, als Kühlprozesse im Grundzustand interpretiert werden.

Die Interpretation des Derivats 3,3'-APB weicht von dem oben gezeigten Modell etwas ab, da sowohl nach $n\pi^*$ -Anregung als auch nach $\pi\pi^*$ -Anregung die außergewöhnlich lange Zerfallszeit von $\tau = 42$ ps auftritt. Das zugehörige DAS weist, verglichen mit den DAS der anderen Derivate, die Charakteristika des S_1 -Zerfalls auf, nicht die der Kühlprozesse im Grundzustand. Im Zusammenhang mit diesem Ergebnis wären quantenchemische Rechnungen sinnvoll, die Aufschluss darüber geben können, inwiefern sich das an Azobenzol entwickelte Modell auf dieses Derivat übertragen lässt und wie es zu dem beobachteten langsamen Zerfall kommt.

4.3.5 Zusammenfassung

Die Zeitkonstanten nach $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Anregung aller Derivate sind in den Tabellen 4.16 und 4.17 zusammengefasst.

Derivat	Lm	$\lambda_{max,\pi\pi^*}$ / nm	τ_1 / ps	τ_2 / ps	τ_3 / ps	τ_4 / ps	τ_5
AB [95]	DMSO	317	—	0,34	3,0	12 ps	
4,4'-ADBm	DCM	329	<0,1	0,3	4,1		1 μ s
3,3'-ADBm	DCM	317	<0,1	1,3	5,9		1 μ s
3,3'-ADBm-6,6'-Me	DCM	321	<0,1	0,7	6,1		1 μ s
4,4'-ADN	DMSO	329	<0,1	1,0	3,7		
3,3'-ADN	DMSO	314	<0,1	0,9	6,3		
4,4'-AMPB	MeOH	332	<0,1	0,8	5,7		1 μ s
3,4'-AMPB	MeOH	321	<0,1	0,1	4,1		1 μ s
4,3'-AMPB	MeOH	316	<0,1	0,2	5,2		
3,3'-AMPB	MeOH	316	<0,1	0,6	5,0		
3,3'-APB	DMSO	324	<0,1		2,9	41,5	
3,3'-AaPBm	DMSO	314	<0,1	1,1	9,3		
3,3'-NPB	DMSO	318	<0,1	1,5	7,2		

Tabelle 4.16: Zeitkonstanten der trans \rightarrow cis-Isomerisierung nach Anregung mit 480 nm.

Die Messung der Dynamik unterschiedlicher Azobenzolderivate ergab, dass nach Anregung des trans-Isomers in der $n\pi^*$ - bzw. $\pi\pi^*$ -Bande, die elektronischen Effekte der Substituenten bei symmetrischer Substitution mit zwei elektronenziehenden Gruppen (ADBm- und ADN-Derivate, sowie NPB) nur einen geringen Einfluss auf die Dynamik haben und das für Azobenzol aufgestellte Reaktionsmodell sich auf alle hier untersuchten Derivate dieses Typs übertragen lässt.

Ein Vergleich der 3,3'-substituierten Verbindungen mit den entsprechenden 4,4'-Derivaten zeigt, dass die Dynamik der Isomerisierung durch lineare Anordnung der Substituenten beschleunigt wird.

In der Gruppe der AMPB-Derivate hat die Untersuchung der Anordnung der Substituenten gezeigt, dass die Position der Amino-Methylgruppe die Dynamik nicht beeinflusst. Die Aminofunktionalität ist durch die Methylgruppe vom Aromaten getrennt und somit ist der elektronendonierende Charakter dieser Gruppe effizient abgeschirmt. Die Position der Säurefunktionalität beeinflusst das Absorptionsmaximum des angeregten Zustands dahingehend, dass die Derivate mit Säuregruppe in 4-Position eine leicht bathochrom verschobene ESA im Vergleich zu den beiden Derivaten mit der Säuregruppe in meta-Position aufweisen. Ein systematischer Einfluss des Substitutionsmusters auf die Dynamik im angeregten Zustand konnte nicht festgestellt werden.

Dies ist vor allem im Hinblick auf das Design von azobenzolbasierten, schaltbaren Modellpeptiden interessant. Wie die Untersuchung der Gruppe der AMPB-Derivate zeigte, die sich aufgrund des Methylaminosubstituenten und der Säurefunktionalität sehr gut zum Einbau in Peptide eignet, besteht hier eine gewisse Flexibilität, was das Substitutionsmuster am Azobenzol betrifft, unter Erhaltung der Schaltereigenschaften. So kann der Einbau des Schalters solcher Modellpeptide mit Fokus auf sterische und synthetische Aspekte optimiert werden.

Ebenfalls zum Einbau in Modellpeptide geeignet sind die Aminophenylazo-benzoesäurederivate. Im

Derivat	Lm	$\lambda_{max,\pi\pi^*}$ / nm	τ_1 / ps	τ_2 / ps	τ_3 / ps	τ_4 / ps	τ_5
AB	DMSO	317	—	0,42	2,9	12	
4,4'-ADBm	DCM	329	< 0,3	0,4	2,8	23 ps	
3,3'-ADBm	DCM	317	< 0,3	0,8	4,6		1 μ s
3,3'-ADBm-6,6'-Me	DCM	321	< 0,3	0,9	4,8		1 μ s
4,4'-ADN	DMSO	329	< 0,2	0,5	2,0	17,6	
3,3'-ADN	DMSO	314	< 0,2	0,4	3,2	10,5	
4,4'-AMPB	MeOH	332	< 0,3	0,7	5,1		1 μ s
3,4'-AMPB	MeOH	321	< 0,3	1,6	6,2		1 μ s
4,3'-AMPB	MeOH	316	< 0,3	1,5	5,8		1 μ s
3,3'-AMPB	MeOH	316	< 0,3	1,2	5,6		1 μ s
3,3'-APB	DMSO	324	< 0,3		3,9	42,1	1 μ s
3,3'-AaPBm	DMSO	314	< 0,3	1,9	7,6		1 μ s
3,3'-NPB	DMSO	318	< 0,3	1,3	6,6		1 μ s

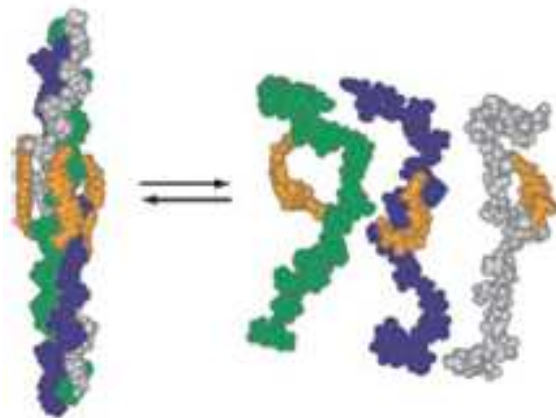
Tabelle 4.17: Zeitkonstanten zur Beschreibung der trans \rightarrow cis-Isomerisierung nach Anregung mit 340 nm.

Vergleich zu den AMPB-Schaltern ist die Aminogruppe bei diesen Vertretern direkt am Phenylring angebracht, was die elektronischen Eigenschaften und die Kinetik modifiziert. Besonders ausgeprägt ist dieser Effekt bei 4,4'-APB, welches von Wachtveitl et al. [107] untersucht wurde und durch die bathochrome Verschiebung des $\pi\pi^*$ -Übergangs klar von den hier untersuchten Derivaten abweicht. Auch 3,3'-APB, welches in DMSO eine mit den anderen Derivaten vergleichbare Lage der Absorptionsbanden aufweist, zeigt mit der langen Zerfallszeit $\tau_3=42$ ps, eine auffällige Kinetik. Das zerfallsassoziierte Spektrum zu dieser Zeit zeigt nicht die Charakteristika von schwingungsangeregten Molekülen im Grundzustand, sondern hat eine spektrale Ausprägung die der Absorption aus dem angeregten Zustand zugeordnet werden kann. Diese Eigenschaft geht bei der Anbindung an Peptide mit großer Wahrscheinlichkeit verloren, wie die Messung von 3-(3'-Acetylamino-phenylazo)-benzoesäure-methylesters (3,3'-AaPBm) impliziert, welches durch die Veresterung der Säuregruppe und die Acetylierung der Aminofunktionalität, die Peptidanbindung simuliert, und eine deutlich schnellere Kinetik aufweist als 3,3'-APB. Auch aus diesem Vergleich ergeben sich wichtige Einblicke für das Design von Modellpeptiden. So sollte die zusätzliche Einführung einer Aminogruppe in meta-Position bei einem AMPB-Schalter den verlangsamenden Effekt auf die Kinetik des Schalters konservieren. Ebenso wie die Einführung dieser Gruppe in para-Position die bathochrome Verschiebung des $\pi\pi^*$ -Übergangs erhalten sollte, was eine Optimierung experimenteller Parameter erlaubt.

Grundsätzlich bleiben noch einige Fragen offen, was die Haupt-Reaktionskoordinaten der Isomerisierung sowie die Interpretation der experimentellen Ergebnisse betrifft, die in dieser Arbeit nicht adressiert wurden. So sollten Messungen der Quantenausbeuten in Abhängigkeit von der Anregungswellenlänge für alle untersuchten Derivate durchgeführt werden, da der Einfluss der Substituenten auf diese Größe bisher noch kaum untersucht wurde, diese aber nützliche Rückschlüsse auf die Photodynamik erlauben würde. Auch die theoretische Behandlung von Substituenteneinflüssen auf die Potentialflächen von Grund- und angeregten Zuständen sollten Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein, da mit deren Verständnis eine wertvolle Basis für das Design von photoschaltbaren Modellpeptiden gewonnen werden kann.

Kapitel 5

Photoschaltbare Peptide



5.1 Einleitung

Das Anreg-Abtast-Experiment setzt voraus, dass die zu untersuchende Probe auf Lichtimpulse so reagiert, dass sich ihre optischen Eigenschaften verändern. Da viele Systeme diese Voraussetzung nicht erfüllen, wurden Konzepte entwickelt, um Photoschalter in die verschiedensten Systeme einzubauen. Es gibt eine Reihe unterschiedlicher Schaltersysteme, die sich in ihrer Dynamik, ihren optischen Eigenschaften und ihrer Chemie unterscheiden, so dass für viele der zu modifizierenden Systeme ein passender Schalter gewählt werden kann.

Das im vorangegangenen Kapitel vorgestellte Azobenzol hat sich bereits in einer Vielzahl unterschiedlicher Systeme als geeigneter Photoschalter bewährt und wurde auch für die im Folgenden vorgestellte Probe eingesetzt. Neben Peptiden [40, 101] und Proteinen wurden auch DNA- [61] und RNA-Stränge [41], Zucker [102] oder anorganische Polymere [112] mittels Azobenzolderivaten modifiziert und somit photoschaltbar gemacht. Wie schon gezeigt, können Azobenzolderivate reversibel zwischen der trans- und der cis-Konformation geschaltet werden. In Abhängigkeit vom Substitutionsmuster sind $\pi\pi^*$ und $n\pi^*$ -Bande spektral getrennt, so dass mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge beide Zustände adressiert werden können.

Der Fokus dieser Arbeit liegt auf AB-modifizierte Peptiden. Die Schaltdynamik ist so schnell, dass schon nach wenigen Pikosekunden nahezu ausschließlich die Dynamik des Systems beobachtet werden kann und die in der Regel langsame Peptiddynamik gut von der schnellen Schaltdynamik separiert werden kann. Der Einbau ist über verschiedene Strategien möglich. Durch Funktionalisierung mit Amino- bzw. Carboxylgruppen kann der Schalter wie eine artifizielle Aminosäure direkt in das Peptidrückgrat integriert werden. Eine zweite Möglichkeit ist die Verbrückung von Seitenketten mittels Azobenzol, welches dann wie eine Klammer oder ein Bügel wirkt. Die Art des Einbaus sowie die passende Position zur Anbindung des Schalters spielt hierbei eine essentielle Rolle und kann zum Teil mittels Simulationen abgeschätzt werden, um die Strukturänderung als Folge des Schalterereignisses zu maximieren.

Nachdem es bereits detaillierte Untersuchungen über die Änderung der Sekundärstruktur von azobenzolfunktionalisierten Peptiden gibt [5, 12, 48, 89, 91, 92, 101, 108], kann das hier vorgestellte System als Fortsetzung dieser Arbeiten betrachtet werden. Das in den zitierten Arbeiten gezeigte Prinzip, der Konformationsänderung des Peptidrückgrats durch AB-Isomerisierung, wird nun auf die Untersuchung der Entfaltung einer Tertiärstruktur, nämlich der Kollagen-Tripelhelix, angewendet.

Dieses Kapitel befasst sich mit der Untersuchung eines Modell-Kollagens, welches in der Arbeitsgruppe von Prof. Moroder synthetisiert wurde. Nach einer kurzen allgemeinen Einführung von Kollagen und der Vorstellung einiger wichtiger Faltungsmodelle werden dann die Untersuchungen an diesem System gezeigt.

5.1.1 Kollagen: Struktur und Faltung

Kollagenstruktur

Kollagen ist das wichtigste Strukturprotein des Bindegewebes, einer Gewebeart, die sich durch Strukturgebung und Flexibilität auszeichnet, was bereits auf eine einzigartige Konstruktion hinweist. Es gibt verschiedene Arten bzw. Klassen von Kollagen. Allein beim Menschen wurden bisher 27 Kollagentypen klassifiziert. Trotz großer Diversität gibt es einige gemeinsame Merkmale, die die eigentliche Struktur wesentlich bestimmen. So weisen alle Kollagentypen tripelhelikale Strukturen auf, die aus drei Einzelsträngen mit repetitiven Triplets der Sequenz -Gly-Xaa-Yaa- in der Primärsequenz bestehen. Hierbei steht Gly für die Aminosäure Glycin, die lediglich ein H-Atom als Rest trägt. Sie weist somit den geringsten sterischen Anspruch auf und passt daher in den engen Innenbereich der Tripelhelix. Xaa und Yaa steht für beliebige Aminosäuren, wobei diese Positionen sehr häufig mit Prolin (Pro) oder Hydroxyprolin (Hyp) besetzt sind. Diese Aminosäuren weisen einige Besonderheiten auf, die im Folgenden noch detailliert erläutert werden und die die Struktur und Stabilität von Kollagen entscheidend

beeinflussen.

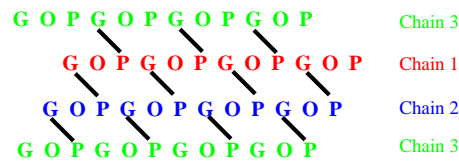


Abbildung 5.1: Schematische Darstellung des Wasserstoffbrückennetzwerks zwischen den Einzelhelices. Der dritte Strang ist doppelt dargestellt.

Die Einzelstränge bilden jeweils linkshändige α -Ketten vom Polyprolin-II Typ und setzen sich zu einer verdrehten Tripelhelix zusammen, die durch Wasserstoffbrücken stabilisiert ist. Die schematische Darstellung dieses Netzwerkes ist in Abbildung 5.1 an einer Sequenz aus Prolin (P), Hydroxyprolin (O) und Glycin (G) gezeigt (die Abbildung wurde in Teilen der Referenz [80] entnommen und modifiziert). Die Wasserstoffbrücken sind jeweils zwischen Glycin und Prolin ausgebildet. So entstehen röhrenartige Gebilde, in deren Inneren die Glycinreste liegen, wohingegen die Reste der Aminosäuren Xaa und Yaa lösungsmittel exponiert sind. Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 5.2 zwei Ansichten auf synthetische Modellkollagene gezeigt, links die Ansicht von vorne in die Tripelhelix, rechts eine Seitenansicht. Beide wurden der PDB-Datenbank (Protein Data Base, pdb-id: 2g66 und 1cag) entnommen.

Die Tripelhelices können sowohl aus Homo- als auch aus Heterotrimeren zusammengesetzt sein und teilweise sind die Einzelstränge kovalent, z.B. durch Cysteinbrücken [10], miteinander verbunden. Bei einigen Kollagenen liegt nicht das gesamte Protein tripelhelikal vor, sondern ist aus Domänen mit helikaler und nichthelikaler Struktur zusammengesetzt [90]. Die Bildung von Fibrillen, also zusammengesetzten Proteinen, ermöglicht die hohe Diversität von Kollagengeweben, die z.B. Knochen, Sehnen, Knorpel, Haut und Basalmembranen umfassen und die charakteristisch für die einzelnen Gewebe ist.

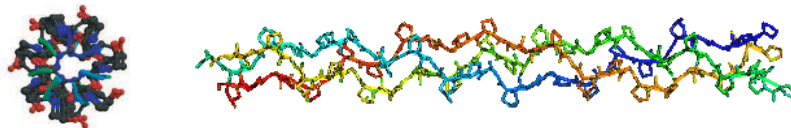


Abbildung 5.2: Kollagenstruktur in der Sicht von vorne auf die Tripelhelix und in der Seitenansicht (modifiziert aus PDB-Datenbank (pdb-id: 2g66, 1cag) [6, 98]).

Mutationen, die zu fehlerhafter Kollagenbiosynthese führen, haben meist verheerende Auswirkungen auf den Organismus. Die Stabilität und die Faltungsdynamik werden durch fehlerhafte Primärsequenzen oder enzymatische Defekte beeinflusst und schwere Krankheitsbilder wie z.B. die Glasknochenkrankheit, das Ehlers-Danlos Syndrom oder das Marfansyndrom können resultieren.

Die Tripelhelix des Kollagens stellt ein einzigartiges Strukturmotiv dar, das zu den sog. filamentösen Proteinen gehört. Deren Faltungsmechanismus unterscheidet sich grundsätzlich von der Faltung globulärer Proteine.

Besonderheiten von Prolin, Hydroxyprolin und Mercaptoprolin

Cis-Trans-Isomerisierung

Die Peptidbindung weist einen C-N-Abstand auf, der etwa 0,15 Å kürzer ist, als man es bei einer C-N-Bindung mit sp^2 -Hybridisierung erwarten würde. Grund ist der partielle Doppelbindungscharakter

der sich durch Beteiligung des freien Elektronenpaares am Stickstoff ausbildet. Die Konsequenz ist eine planare Bindung bei der zwei unterschiedliche Anordnungen der Reste zueinander möglich sind. In Abbildung 5.3 [27] sind die beiden Konformationen die mit cis und trans bzw. auch mit E und Z bezeichnet werden, gezeigt.

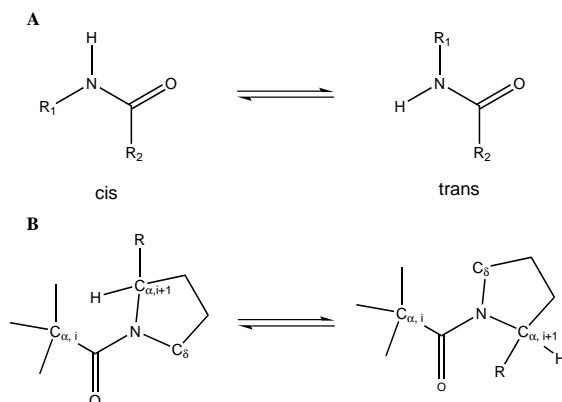


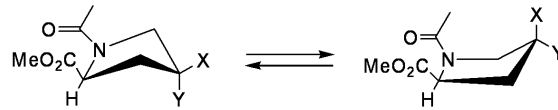
Abbildung 5.3: Schematische Darstellung der cis- und trans-Peptidbindung zweier nichtzyklischer Aminosäuren (A), sowie einer Aminosäure mit Prolin (B).

In allen Peptidbindungen, die aus natürlichen Aminosäuren, mit Ausnahme von Prolin, geknüpft sind, dominiert die trans-Konformation. Der Anteil von cis-Bindungen in nativen Peptiden liegt unter einem Prozent. Die bevorzugte Anordnung in trans hat energetische Gründe. Bei einer cis-Konformation kommen sich die Reste am $C_{\alpha,i}$ - und $C_{\alpha,i+1}$ -Atom sehr nahe und es resultiert eine ungünstige Wechselwirkung. Anders ist dies bei Peptidbindungen mit Prolin, also Xaa-Pro-Bindungen, wobei Xaa für jede natürliche Aminosäure stehen kann. Hier ist abhängig von Xaa ein cis-Anteil von bis zu 30% möglich und bei nativen Prolyl-Peptidbindungen liegen 5-7% in cis-Konformation vor. Der Energieunterschied zwischen trans und cis ist gering, da in beiden Geometrien eine sterische C-C-Wechselwirkung auftritt (siehe Abbildung 5.3) [109]. Die Aktivierungsenergie für die cis-trans-Isomerisierung liegt in der Größenordnung von 80 kJ/mol, die Aktivierungsentropie ist hingegen vernachlässigbar klein. Die Geschwindigkeit der Isomerisierung kann durch Prolylisomerase beschleunigt werden. Ähnlich wie dieses Enzym wirken sich Lösungsmittel aus, die den Doppelbindungscharakter reduzieren, z.B. durch Protonierung des Stickstoffs [13, 27].

„Puckering“ bzw. Ringgeometrie

Nichtkonjugierte Fünfringe bilden keine planaren Strukturen sondern gewinkelte oder geknickte Geometrien aus, was im englischen mit dem Wort „Pucker“ (Falte) bezeichnet wird und mit einem offenen Briefumschlag verglichen werden kann. Die Substituenten am Ring können räumlich in einer trans- bzw. cis-Anordnung zueinander stehen. Abhängig vom Substitutionsmuster gibt es dann Vorzugsgeometrien. Da in dem untersuchten Modellkollagen zur Anbindung des Photoschalters Mercaptoprolin anstelle von Hydroxyprolin eingesetzt wurde, wurden die unterschiedlichen Konformationseigenschaften von Cadamuro et al. [15] experimentell untersucht und verglichen, was in Abbildung 5.4 gezeigt ist. Dabei zeigte sich, dass im Falle einer 4R¹-Substitution an Mercaptoprolin ein C^γ-endo-Ringknick bevorzugt wird, wohingegen 4R-substituiertes Hydroxyprolin einen C^γ-exo-Ringknick bevorzugt. Es ist also zu erwarten, dass der Austausch von Hydroxyprolin durch Mercaptoprolin sterische Auswirkungen auf die Peptidkonformation haben kann.

¹Mit der R,S-Nomenklatur wird die absolute Konfiguration vier- bzw. sechsfach koordinierter stereogener Zentren angegeben. Die Bezeichnungen gehen auf Cahn, Ingold und Prelog zurück [69].



- (4*R*)-Hyp (Y = OH, X = H): *trans*, γ -exo pucker
 (4*S*)-Hyp (X = OH, Y = H): *cis*, γ -endo pucker
 (4*R*)-Mpc (Y = SH, X = H): *trans*, γ -endo pucker
 (4*S*)-Mpc (X = SH, Y = H): *trans*, γ -exo pucker

Abbildung 5.4: Stereoelektronische Effekte von 4*S*-Mercaptoprolin resultieren in einer Bevorzugung der *trans*-Peptidbindung und einem sog. γ -Exopucker im Vergleich zu 4*S*-Hydroxyprolin, wo ein γ -Endopucker bevorzugt wird.

5.1.2 Charakteristika der Kollagenfaltung

Die experimentelle Untersuchung der Kollagenfaltung stellt eine gewisse Herausforderung dar, da die Tripelhelix mit ihrer charakteristischen Komposition aus Glycin, Prolin und Hydroxyprolin einige Besonderheiten aufweist:

Drei Helices müssen sich zunächst finden und einen (in der Regel) C-terminalen Kontakt ausbilden. Alle Iminobindungen müssen in *trans*-Konformation vorliegen, da *cis*-Iminobindungen die Faltung hemmen. Die Isomerisierung verläuft ohne helfende Enzyme sehr langsam, sie ist somit der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der Faltung. Haben sich Trimere gefunden und richtig aneinandergelagert und sind alle Bindungen in der richtigen Konformation, schreitet die Faltung schnell vom C-Terminus in Richtung N-Terminus voran und kann mit einem Reißverschluss verglichen werden.

Natürliches Kollagen und Biosynthese

Im Gegensatz zur Faltung der Tripelhelix aus isolierten Einzelsträngen in Lösung, wie sie bei den Modellpeptiden untersucht wird, steht die Biosynthese in Zellen, bei der die Tripelhelices mittels Hilfssequenzen und einem komplexen Zusammenspiel verschiedener Enzyme gebildet werden.

Kollagen wird in speziellen Zellen, den sogenannten Fibroblasten produziert. Je nach Gewebeart finden sich differenzierte Fibroblasten, wie z.B. Osteoblasten in Knochen oder Chondroblasten in Knorpeln. Es werden zunächst Polypeptidvorstufen an den Polyribosomen gebildet. Aus diesen Vorstufen entstehen dann die Pro- α -Stränge. Diese enthalten neben der eigentlichen Kollagensequenz noch nicht-kollagenartige terminale Strukturen, die für die korrekte Faltung benötigt werden.

An dieser Stelle sind die Stränge noch aus den natürlichen Aminosäuren aufgebaut. Durch Prolyl-4- und Lysyl-Hydroxylasen findet dann die Hydroxylierung an bestimmten Stellen statt. Die Tripelhelixbildung aus den hydroxylierten Einzelhelices beginnt am C-Terminus und setzt sich reißverschlussartig fort [25]. Hydroxylierte, tripelhelikale Prokollagenmoleküle gelangen durch Sekretion in die extrazelluläre Matrix.

Im Extrazellulärraum werden die globulären Termini durch Prokollagen-Proteinasen abgespalten, zum Teil findet noch eine Glykosylierung statt und Mikrofibrillen bilden sich aus. Die Mikrofibrillen werden noch zusätzlich durch kovalente Bindungen stabilisiert.

Synthetische Kollagen-Modellpeptide

Wie schon kurz angedeutet, ist die Untersuchung der Peptidfaltung synthetischer Modellpeptide durch das Zusammenfinden der Helices und die *cis-trans*-Isomerisierung von Prolinpeptidbindungen erschwert. Für die Kollagenfaltung spielen die Primärsequenz, das Lösungsmittel und die Konformation der Iminobindungen eine wesentliche Rolle. Faltungsmodelle verkomplizieren sich durch den unbekanntem Anteil

von Iminobindungen in cis-Konformation, welcher die Faltungsdynamik enorm beeinflusst [110]. Die Kollagenfaltung wird meist in die Stadien 'Nukleation' und 'Promotion' eingeteilt [4].

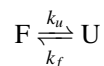
Die Faltung von Heterotrimeren kann nur durch Verbrückung der drei Stränge realisiert werden, da sonst ein Gemisch aller möglichen Trimere die Untersuchung beeinträchtigt. Vor allem zeitaufgelöste Messungen erfordern einen definierten Ausgangszustand des Systems. Um dennoch Einblicke in die Faltungsmechanismen zu erhalten, wird häufig die Entfaltung studiert, die aus einer wohl definierten Struktur heraus geschieht.

Zur Abschätzung thermodynamischer Größen gibt es keine generellen Regeln, allerdings einige Erfahrungswerte. So zeigte eine Studie von Sundar Raman et al. [86] dass mindestens fünf (Gly-Pro-Hyp)-Triplets in der Einzelstrangsequenz notwendig sind, damit sich eine stabile Tripelhelix ausbilden kann. Beim Übergang der ungeordneten Struktur in die Tripelhelix beträgt ΔH° etwa $-(15-18)$ kJ/mol Tripeptideinheit [13].

Ein einfaches Modell zur Beschreibung des Faltungsprozesses ist das sogenannte "Zweizustandsmodell".

Zweizustandsmodell

Bei diesem Modell werden nur der vollständig gefaltete (F) und der vollständig entfaltete (U) Zustand betrachtet und das Gesamtsystem wird auf diese beiden Zustände reduziert. Wenngleich diese Einschränkung drastisch ist, ermöglicht sie eine direkte Korrelation von Schmelzkurven mit thermodynamischen Größen und wird somit häufig herangezogen:



Mit den Gleichgewichtskonstanten k_u und k_f für die Hin- bzw. Rückreaktion ergibt sich die Gleichgewichtskonstante K_{eq} zu

$$K_{eq} = \frac{U_{eq}}{F_{eq}} = \frac{k_u}{k_f} \quad (5.1)$$

Aus K_{eq} lässt sich wiederum die Freie Energie ΔG° nach Gl. (5.2) ermitteln. Hierbei ist R die allgemeine Gaskonstante ($R=8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) und T die Temperatur.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq} \quad (5.2)$$

Dieses Modell ist sehr einfach und ignoriert die Komplexität des Faltungsmechanismus. Dennoch ist es ein gutes Modellsystem um thermodynamische Größen der Entfaltung anhand von Schmelzkurven abzuschätzen, da hier das Ausgangssystem gut definiert ist und das Endsystem im Wesentlichen als 'Nicht-Tripelhelikal' spezifiziert wird, unabhängig von der konkreten Konformation der Einzelhelices.

Experimentelle Methoden

Mittels biochemischer Verfahren lassen sich die Struktur natürlicher Kollagene und deren Faltung analysieren. Für synthetische Modellpeptide eignen sich Methoden wie die NMR-Spektroskopie, FTIR und Zirkulardichroismus. Die NMR-Spektroskopie ist eine wertvolle Methode um z.B. den Gehalt an cis-Peptidbindungen bei ungefalteten Kollagenproben zu ermitteln, aber auch um Tripelhelices von Einzelhelices zu unterscheiden [14, 63]. Mittels Zirkulardichroismus werden vor allem thermodynamische Untersuchungen durchgeführt [111]. Tripelhelices weisen eine charakteristische Signatur auf, die beim Schmelzen verschwindet. Allerdings ist bei dieser Methode Vorsicht geboten, da die Schmelztemperatur von der Peptidkonzentration und der Aufheiz- bzw. Abkühlrate abhängig ist und somit unterschiedliche Experimente nur dann vergleichbar sind, wenn sie unter identischen Bedingungen durchgeführt wurden [33]. Eine ebenfalls struktursensitive Methode ist die FTIR-Spektroskopie. Im Amid-I-Bereich tragen alle Amidbindungen zu dem resultierenden Signal bei, was die Bande meist relativ breit macht [58].

Auch mit dieser Methode können Schmelzkurven aufgezeichnet werden. Die Analyse stellt allerdings eine gewisse Herausforderung dar, da es meistens keine Bereiche gibt, die selektiv nur Signaturen der Tripelhelix bzw. der Einzelhelices enthalten und auch die Lösungsmittelbanden eine Temperaturabhängigkeit aufweisen, die oft nur mühsam korrigiert werden kann. Diese Überlagerung von Banden erschwert die Auswertung.

5.2 Experimenteller Teil

Bisher gibt es kaum Studien, in denen die Ausbildung von Tertiärstrukturmotiven mittels zeitaufgelöster Spektroskopie untersucht wurde. In der Arbeitsgruppe von Prof. Moroder wurden kollagenartige Modellpeptide synthetisiert, die die Untersuchung der Kollagenfaltung ermöglichen. Das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Kollagen setzt sich aus drei Einzelhelices zusammen, die jeweils mit einer Azobenzolklammer modifiziert wurden. Jede Einzelhelix besteht aus 23 Aminosäuren, die achte und fünfzehnte (von Acetyl nach NH-Terminus) dienen als Ankerpunkt für den Photoschalter. Die Sequenz ist in Abbildung 5.5 gezeigt. Die Primärsequenz wurde so gewählt, dass die spontane Ausbildung einer Tripelhelix gewährleistet ist. Die entscheidende Sequenz ist hierbei die Wiederholeinheit von Glycin-Prolin-Hydroxyprolin (Gly-Pro-Hyp). Die Position für die Anbindung des Schalters wurde mittels Simulationen so gewählt, dass die Isomerisierung möglichst effizient auf das Peptidrückgrat wirkt. Zur synthetischen Anbindung der Azobenzolklammer wurden je zwei Hydroxyproline durch Mercaptoproline (Mcp) ersetzt. Die SH-Gruppe reagiert dann mit der Iod-Funktionalität der Klammer unter Abspaltung von HI zum gewünschten Produkt [54].

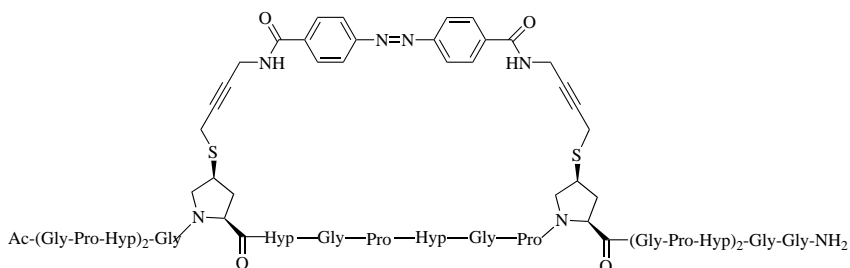


Abbildung 5.5: Struktur der Einzelmoleküle des untersuchten synthetischen Kollagens

5.2.1 Statische Charakterisierung

Im Falle der Kollagenprobe wurde eine ausführliche statische Charakterisierung der gelösten Probe vorgenommen, da die Wahl des Lösungsmittels die physikalischen Eigenschaften sehr stark beeinflusst und zusätzlich noch den experimentellen Anforderungen genügen muss. Mehrere Aspekte waren zu berücksichtigen:

- Die Probe soll sich gut lösen, so dass die für Infrarotmessungen nötigen hohen Konzentrationen realisiert werden können.
- Das Lösungsmittel soll im Bereich der Kollagenbanden im sichtbaren und infraroten Spektralbereich transparent sein, so dass keine charakteristischen Banden überdeckt werden.
- Ein möglichst "physiologisches" Lösungsmittel ist wünschenswert, um Vergleiche mit natürlichem Kollagen zuzulassen.
- Lösungsmittelgemische mit Komponenten mit niedrigen Siedepunkten sind für die Infrarotspektroskopie problematisch, da die Konzentration der flüchtigen Komponente bei langen Messungen oft nicht konstant bleibt.
- Das Lösungsmittel kann enorme Auswirkung auf die Struktur der Probe haben. Optimal ist eine leicht destabilisierte Tripelhelix.

Zirkulardichroismus

Zirkulardichroismus Messungen sind ein wertvolles Werkzeug bei der Strukturanalyse von Sekundär- und Tertiärstrukturen und wurden in diesem Fall eingesetzt, um die Ausbildung der Tripelhelix zu überprüfen und um thermodynamischen Konstanten wie Schmelzpunkt, Enthalpie, Entropie und Freie Energie zu ermitteln.

Die Schichtdicke der Küvette betrug 0,2 mm, die Konzentration der Probe lag im Bereich von 30 bis 200 μM .

In Abbildung 5.6 sind die Ergebnisse einer Zirkulardichroismusmessung bei verschiedenen Temperaturen gezeigt. Charakteristisch für die tripelhelikale Struktur ist die positive Bande bei 225 nm. Das Signal zwischen 280 nm und 400 nm kann dem Azobenzolschalter zugeordnet werden, dieser Bereich ist aber nicht charakteristisch für die Tripelhelix.

Eine gute Löslichkeit der Probe ist in Ethylenglykol (EG) gegeben. Allerdings stabilisiert das Lösungsmittel so stark, dass ein Schmelzen der Probe erst bei sehr hohen Temperaturen erreicht werden kann. Im Messbereich bis 90°C wurde kein Schmelzpunkt detektiert. Für Entfaltungsstudien ist diese hohe Stabilität hinderlich. Durch Zumischen von Wasser wird die Tripelhelix destabilisiert. Die Löslichkeit in reinem Wasser ist zu gering für die Durchführung der Experimente, so dass ein Gemisch von gleichen Anteilen Wasser und Ethylenglykol gewählt wurde. Im Hinblick auf die Messungen im mittleren IR-Bereich wurden für alle Messungen deuterierte Lösungsmittel verwendet. Der Schmelzpunkt der Tripelhelix liegt in dieser Zusammensetzung bei etwa 55°C, wie die Schmelzkurve in Abbildung 5.7 zeigt. Das CD-Signal ist hier als Funktion der Temperatur bei 225 nm aufgezeichnet. Das Experiment wurde so durchgeführt, dass eine Scanrate von 1°C/Min eingestellt wurde. In Abständen von 10°C wurde zusätzlich ein Gesamtspektrum aufgenommen. Dies führt dazu, dass der Schmelzvorgang bei konstanter Temperatur fortschreitet, bis drei Scans der Probe im Bereich von 190 nm bis 400 nm aufgezeichnet wurden. Dies entspricht einer Messdauer von etwa fünfzehn Minuten, während derer die Temperatur konstant ist. Wird der Temperaturscan dann fortgesetzt, so führt dieses Schmelzen bei konstanter Temperatur zu Intensitätssprüngen, die in Abbildung 5.7 bei 45°C, 55°C und 65°C zu sehen sind.

Mit dem Schmelzvorgang kann grundsätzlich auch eine Prolin-Isomerisierung stattfinden. In Strängen mit isomerisiertem Prolin kann keine normale helikale Struktur gebildet werden. Somit wird die Rückfaltung stark verlangsamt. Die Rückisomerisierung von Prolin wird dann der geschwindigkeitsbestimmende Schritt.

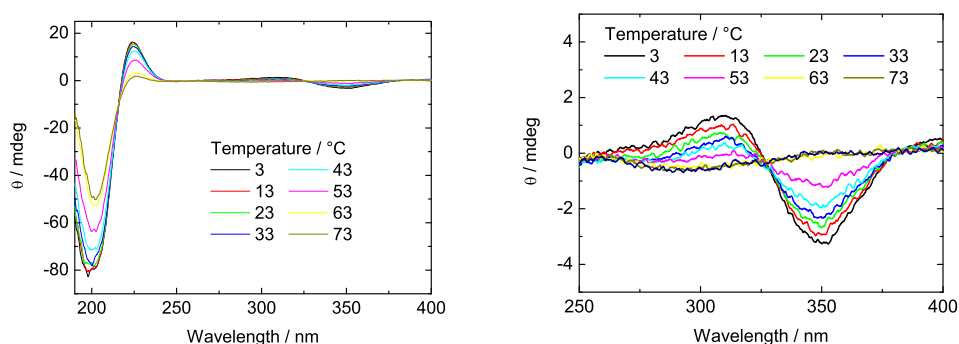


Abbildung 5.6: CD-Spektren von Azokollagen bei verschiedenen Temperaturen. Links ist das gesamte Spektrum von 190 bis 400 nm zu sehen, rechts die Vergrößerung der Schalterregion.

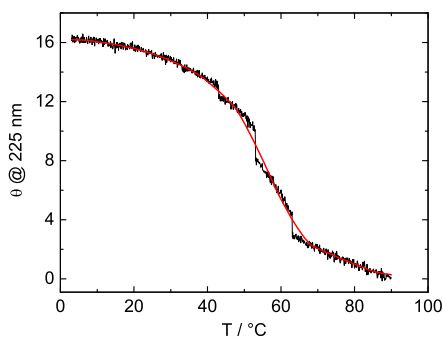


Abbildung 5.7: Schmelzkurve von Azokollagen in EG:D₂O (1:1) bei 225 nm. Eine stufenfreie, geglättete Funktion ist in die experimentellen Daten eingezeichnet.

Absorption von trans- und cis-Isomer

Absorption bei Raumtemperatur: PSS und Reversibilität

Der Peptidteil der Azokollagenprobe enthält keine funktionellen Gruppen, die die Azobenzolabsorption im nahen UV und sichtbaren Spektralbereich überlagern. Man findet also lediglich die für Azobenzol-derivate charakteristischen Beiträge des $\pi\pi^*$ - und $n\pi^*$ -Übergangs im Spektralbereich von 280 nm bis etwa 500 nm. Im kurzwelligeren Bereich dominiert bereits die Absorption des Lösungsmittels, so dass keine Absorptionsbanden anderer funktioneller Gruppen der Probe zu sehen sind. Die Absorptionsmaxima im Schalter und im Peptid sind um etwa 20 nm in den längerwelligen Bereich verschoben gegenüber unsubstituiertem Azobenzol in Methanol. Die Lage der Maxima der $n\pi^*$ und $\pi\pi^*$ -Übergänge von unsubstituiertem Azobenzol, dem Azoschalter und dem Azokollagen sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Probe	Lösungsmittel	$\lambda_{max}(\pi\pi^*) / \text{nm}$	$\lambda_{max}(n\pi^*) / \text{nm}$
Azobenzol	MeOH	313	434
Azoschalter	DMSO	332	452
Azokollagen	EG:D ₂ O (1:1)	335	441

Tabelle 5.1: Absorptionsmaxima des $\pi\pi^*$ - und $n\pi^*$ -Übergangs der trans-Konformation von Azobenzol, dem Schalter und der Azokollagenprobe.

Um eine grobe Abschätzung des photostationären trans:cis-Verhältnisses zu erhalten kann man vom Spektrum des cis-Konformers so viel trans-Anteil abziehen, bis negative Absorption auftritt. Mit diesem Verfahren bleibt ein Restanteil des trans-Isomers von 30% nach Belichtung des Azoschalters und 60% nach Belichtung des Azokollagens. Eine Erhöhung des cis-Anteils durch längeres Belichten konnte in beiden Fällen nicht erzielt werden. Die Spektren der unbelichteten und belichteten Proben sind in Abbildung 5.8 gezeigt.

Neben einer Abschätzung für das Isomerenverhältnis im photostationären Zustand wurde auch die Reversibilität der Isomerisierung überprüft. Mehrere aufeinanderfolgende Belichtungszyklen ergaben, dass beide Proben nicht degradieren und der Schaltprozess reversibel ist.

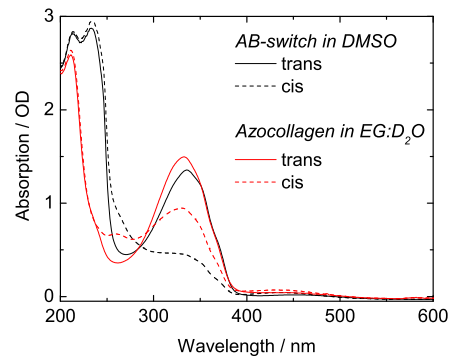


Abbildung 5.8: Absorptionsspektren des Schalters und des Azokollagens in trans-Konformation (schwarz) und des trans-cis-Gemischs nach Belichtung mit 350 nm.

Temperaturabhängigkeit der Isomerisierung

Für das Schmelzen der Tripelhelix ist vor allem der Temperaturbereich von 20°C bis zur Schmelztemperatur, die bei etwa 60°C liegt, interessant. Aus diesem Grund wurde die Isomerisierung bei verschiedenen Temperaturen in diesem Bereich untersucht (siehe Abbildung 5.9). Bei vergleichbaren Belichtungsbedingungen nimmt der Anteil an isomerisiertem (cis-) Azokollagen mit zunehmender Temperatur zu. Zur Kontrolle wurde das Experiment auch an dem isolierten Schalter durchgeführt, wo keine Temperaturabhängigkeit gefunden wurde.

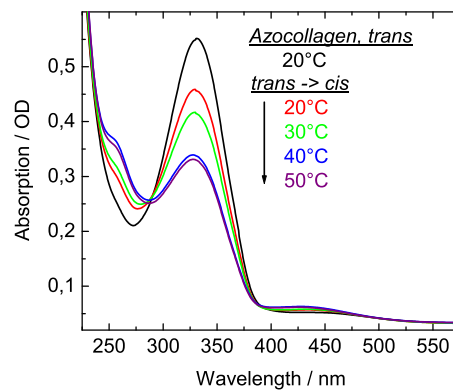


Abbildung 5.9: Isomerisierung bei unterschiedlichen Temperaturen im Bereich von 20°C bis 50°C.

Das Ergebnis dieses Experiments deutet darauf hin, dass die Isomerisierung des Azobenzolschalters durch die Tripelhelix gehemmt wird. Mit Erhöhung der Temperatur wird diese hemmende Kraft reduziert, da die Struktur destabilisiert und die Isomerisierung effizienter wird.

Untersuchung der Schalterfunktion in Abhängigkeit von der Temperatur mit FTIR-Spektroskopie

Die Absorptionsspektroskopie im ultravioletten und sichtbaren Spektralbereich ist zwar sensitiv für die Eigenschaften des Chromophors, erlaubt aber nur wenig Aussagen über den Peptidteil des Azokollagens. Aus diesem Grund wurde die Probe im mittleren Infrarotbereich untersucht, da hier sowohl charakteristische Banden des Chromophors als auch des Peptidgerüsts zu finden sind. Die Infrarotspektren von Schalter und Azokollagen sind in Abbildung 5.10 gegenübergestellt. Aus beiden Spektren wurde das Lösungsmittel subtrahiert, wobei im Falle des Azokollagens aufgrund des Lösungsmittelgemischs, welches sich nur schlecht subtrahieren lässt, noch ein Restbeitrag der Lösungsmittelbanden zu sehen ist. Einige wichtige Banden sind in Tabelle 5.2 zusammengestellt. Die Bandenzuordnung wurde in Anlehnung an [3, 36, 58, 114] vorgenommen.

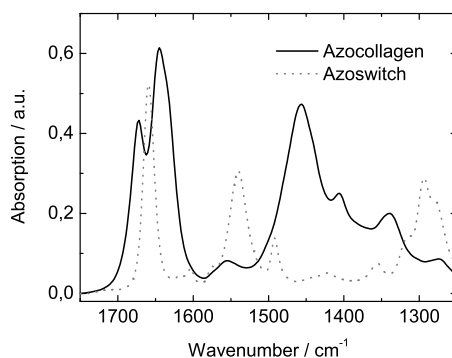


Abbildung 5.10: FTIR-Spektren des Azokollagens in d_6 -Ethylenglykol:D₂O (1:1) und des Schalters in d_6 -DMSO.

	Bande in cm^{-1}		
Azokollagen in d_6 -eg:D ₂ O (1:1)	1672	$\nu_{C=O}$	Amid I
	1645	$\nu_{C=O}$	Amid I
	1555	$\nu_{C-N} + \delta_{C-N-H}$	Amid II
	1456	—	Solvent
Azoschalter in d_6 -DMSO	1659	$\nu_{C=O}$	Amid I
	1600	$\nu_{C=C}$	Schwingungsmoden der Phenylringe
	1540		(Streckschwingung)
	1491		

Tabelle 5.2: Zuordnung einiger charakteristischer Schwingungsbanden des Azokollagens und des Schalters.

Um das Schmelzverhalten der Tripelhelix zu studieren, wurde die Probe in einem automatischen Temperaturlauf, wie in Kapitel 2.3.2 beschrieben, sukzessive von 10°C auf 85°C erhitzt und wieder auf 10°C abgekühlt. Die Schrittweite ΔT betrug 2°C, das Toleranzintervall für die Temperaturstabilität 0,1°C. Die um das Lösungsmittel korrigierten Spektren der Aufheizphase sind in Abbildung 5.12 (links) gezeigt. Die Differenzspektren ($T - T_{Start}$) zeigen die Absorptionsänderung mit der Temperatur. Der Amid-I-Bereich, der charakteristisch für die Sekundär- und Tertiärstruktur von Proteinen ist, zeigt die ausgeprägtesten Änderungen beim Erwärmen der Probe. Die Differenzspektren sind in diesem Bereich

charakteristisch für die Kollagenstruktur und zeigen zwei anwachsende Banden bei $\tilde{\nu}=1662\text{ cm}^{-1}$ und $\tilde{\nu}=1615\text{ cm}^{-1}$ sowie eine Bande bei $\tilde{\nu}=1643\text{ cm}^{-1}$, die an Intensität verliert. Diese Signatur wurde bereits an einer Reihe von Modelltrimern gezeigt und ist typisch für eine aus drei Banden zusammengesetzte Amid-I-Bande [28]. Auch die Amid-I-Bande des hier vorgestellten Azokollagens kann mit drei Gausskurven angepasst werden (Abbildung 5.11). Diese können nach [34, 58, 81], den Carbonylen der Prolin-Reste zugeordnet werden ($\tilde{\nu} \sim 1645\text{ cm}^{-1}$), den Carbonylen, die entlang der Oberfläche orientiert sind ($\tilde{\nu} \sim 1635\text{ cm}^{-1}$) und Wasserstoffbrücken zum Lösungsmittel ausbilden, sowie nach außen orientierten Carbonylen ($\tilde{\nu} \sim 1670\text{ cm}^{-1}$) von Hydroxyprolin. Eine Zusammenfassung der Bandenzuordnung nach [58] findet sich in Tabelle 5.3.

$ \begin{array}{c} \text{Gly} \quad \quad \text{Pro} \quad \quad \text{Hyp} \\ \left(\text{---} \underset{\text{H}_1}{\text{N}_1} \text{---} \underset{\text{H}_2}{\text{C}_2} \text{---} \overset{\text{O}_1}{\text{C}} \text{---} \underset{\text{H}}{\text{N}_2} \text{---} \underset{\text{H}}{\text{C}} \text{---} \overset{\text{O}_2}{\text{C}} \text{---} \underset{\text{H}}{\text{N}_3} \text{---} \underset{\text{H}}{\text{C}} \text{---} \overset{\text{O}_3}{\text{C}} \text{---} \right)_n \\ \text{OH} \end{array} $	
1637 cm^{-1}	Streckschwingung der Imincarbonyle C_1O_1
1648 cm^{-1}	Streckschwingung der Carbonyle, die intramolekulare Wasserstoffbrücken ausbilden, charakteristisch für die Tripelhelix
1673 cm^{-1}	Streckschwingung der Aminocarbonyle C_3O_3 , die ebenfalls H-Brücken zum Lösungsmittel ausbilden

Tabelle 5.3: Zuordnung der einzelnen Komponenten der Amid-I-Bande nach [58].

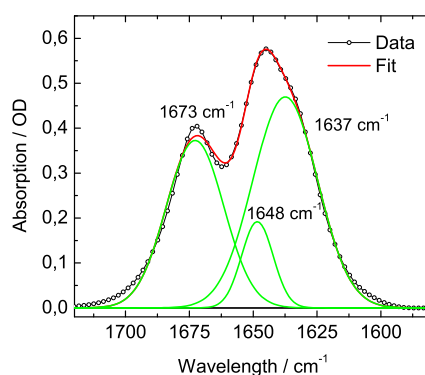


Abbildung 5.11: Amidbande (basislinienkorrigiert) mit drei eingepassten Gausskurven.

Die Aufzeichnung der Intensitätsdifferenz ($T_0 - T$) im Maximum der Änderung ($\tilde{\nu} \sim 1645\text{ cm}^{-1}$) als Funktion der Temperatur führt zu einem sigmoidalen Kurvenverlauf (Abbildung 5.12, rechts). Dieser ähnelt dem der Schmelzkurve aus der Zirkulardichroismusmessung. (Abbildung 5.7). Aufgrund der komplexen Zusammensetzung der Amid-I-Bande und der Überlagerung mit Lösungsmittelbanden ist es allerdings schwierig, struktursensitive Frequenzen zu finden, die eine Evaluation der Schmelztempe-

ratur erlauben.

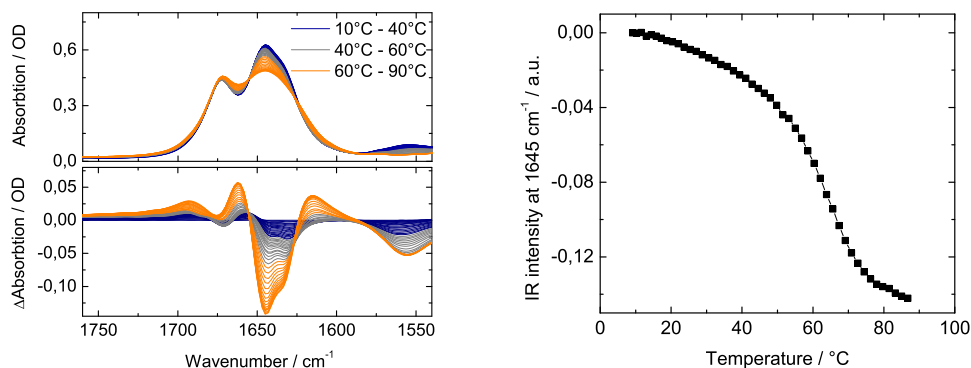


Abbildung 5.12: Links: Lösungsmittelkorrigierte Spektren der Aufheizphase des Azokollagens (oben) und Differenzspektren ($T - T_{Start}$), die die Strukturänderungen bei Temperaturerhöhung verdeutlichen (unten). Rechts: Absorptionsänderung als Funktion der Temperatur bei $\tilde{\nu}=1645\text{ cm}^{-1}$.

Isomerisierung

Die lichtinduzierte Isomerisierung wurde bereits in Kapitel 5.2.1 anhand von Absorptionsspektren im nahen UV- bzw. sichtbaren Spektralbereich gezeigt. Die Messungen zeigten, dass die Isomerisierung reversibel ist und keine Photodegradation stattfindet, allerdings sind sie nicht spezifisch für den Peptidteil der Probe. Führt man vergleichbare Messungen im mittleren IR-Bereich durch, so erhält man zwei leicht unterschiedliche Absolutspektren, wie sie am Beispiel des Schalters in Abbildung 5.13 (links) gezeigt sind. Deutlicher sieht man die Unterschiede nach Subtraktion beider Spektren in den Differenzspektren (Abbildung 5.13 (rechts, unten)). Bei dieser Darstellung werden auch kleine Unterschiede zwischen den beiden Isomeren deutlich und man erkennt, welche Schwingungen sensitiv für die Isomerisierung sind. In Abbildung 5.13 (rechts) sind die Differenzspektren der beiden Isomere für den Schalter und das Azokollagen gegenübergestellt. Die spiegelbildliche Ausprägung der beiden Isomerisierungsrichtungen ist ein weiterer Beleg für die Reversibilität des Schaltprozesses.

Das Azokollagen zeigt die prägnantesten Differenzbanden zwischen 1700 cm^{-1} und 1600 cm^{-1} , einer Region, die der Absorption der Amid-I-Schwingungen entspricht. Im Vergleich dazu zeigt auch der isolierte Schalter eine Absorptionsänderung im Amid-II-Bereich. Dieser resultiert aus der Frequenzänderung der direkt am Azobenzol substituierten Amidbindung. Der für den Schalter charakteristische Bereich ist die starke Differenzbande zwischen 1340 cm^{-1} und 1270 cm^{-1} . Diese ist in der Kollagenprobe nicht zu erkennen.

Isomerisierung bei verschiedenen Temperaturen

Interessant im Zusammenhang mit der Entfaltung des Kollagens ist nun die Temperaturabhängigkeit des Isomerisierungsprozesses. Induziert man die cis-trans-Isomerisierung bei verschiedenen Temperaturen im Bereich des Schmelzpunktes, so erwartet man Änderungen des Differenzsignals aufgrund des Schmelzvorgangs. Die entsprechenden Differenzspektren sind in Abbildung 5.14 (links) gezeigt. Im Amid-I-Bereich erstreckt sich das Differenzsignal von etwa 1700 cm^{-1} bis 1570 cm^{-1} und hat eine charakteristische Struktur aus zwei Maxima und einem Minimum (bzw. umgekehrt im Falle der Rückisomerisierung). Mit steigender Temperatur nimmt auch die Intensität des Differenzsignals zu,

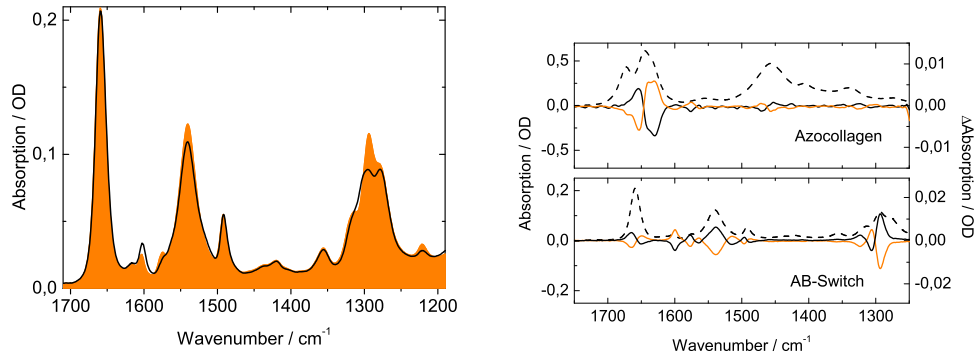


Abbildung 5.13: Links: Spektren der Isomere des trans-(orange) und cis-AB-Schalters. Rechts: Differenzspektren der Proben nach Belichtung, die trans → cis-Richtung ist in schwarz, die entgegengesetzte Richtung in orange eingezeichnet.

was in Abbildung 5.14 (rechts) anhand der Intensität der drei Extrema gezeigt ist. Am Schmelzpunkt ($T_M = 55^\circ\text{C}$) ist die Änderung maximal und nimmt bei noch höheren Temperaturen wieder ab.

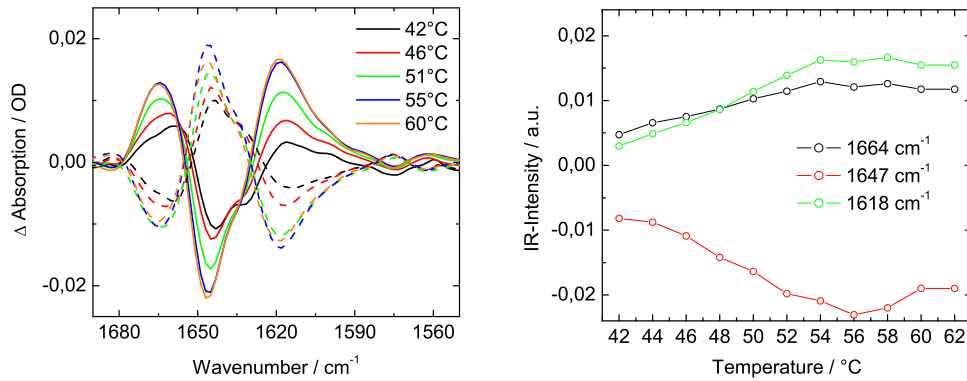


Abbildung 5.14: Links: Temperaturabhängige Isomerisierung des Azokollagens in EG:D₂O (1:1). Die durchgezogenen Linien entsprechen der trans- nach cis-Isomerisierungsrichtung die gestrichelten Linien der Rückisomerisierung. Rechts: Intensität der Absorptionsänderung als Funktion der Temperatur.

Vergleich der Differenzbanden

Vergleicht man die lichtinduzierte Isomerisierung bei unterschiedlichen Temperaturen im Bereich zwischen 40°C und 60°C (Abbildung 5.14), so erkennt man, dass sich im Wesentlichen die Amplituden der Differenzbanden verändern. Diese Beobachtung deckt sich mit den Absorptionsmessungen im sichtbaren Spektralbereich (Abbildung 5.9), welche zeigen, dass bei höheren Temperaturen ein größerer Anteil des cis-Isomers gebildet wird. Dass sich die Strukturänderungen auch qualitativ unterscheiden, zeigen die leichten Verschiebungen in der Struktur der FTIR-Differenzbanden. Ein Vergleich mit der Isomerisierung bei Raumtemperatur (Abbildung 5.15) verdeutlicht dies besser: Die Amplituden der Differenzbanden bei 1654 cm⁻¹ (bzw. 1665 cm⁻¹) und 1641 cm⁻¹ (bzw. 1644 cm⁻¹) nehmen etwa um das Vierfache zu, wenn die Temperatur von 20°C auf 55°C erhöht wird. Gleichzeitig wird die bei 20°C kaum sichtbare Differenzbande bei 1599 cm⁻¹ stark ausgeprägt und das Maximum verschiebt sich nach 1620 cm⁻¹. Die Lage der Extrema und die jeweiligen Amplituden sind in Tabelle 5.4 zusammengefasst.

Lichtind. bei RT		Lichtind. bei 55°C		Tempind.	
Freq. / cm ⁻¹	Ampl. / a.u.	Freq. / cm ⁻¹	Ampl. / a.u.	Freq. / cm ⁻¹	Ampl. / a.u.
1654	0,004	1665	0,013	1660	0,066
1641	-0,005	1646	-0,021	1643	-0,148
1630	-0,007	1633	-0,006	1633	-0,124
1599	0,0002	1620	0,016	1614	0,032

Tabelle 5.4: Lage und Amplitude der Differenzbanden der Amid-I-Region.

Vergleicht man die beobachteten Absorptionsänderungen mit der in Tabelle 5.3 gemachten Bandenzuordnung, so sieht man, wie die Beiträge, die durch Wasserstoffbrücken zum Lösungsmittel charakterisiert sind, bei der Entfaltung zunehmen (positive Differenzbande um 1660 cm⁻¹), wohingegen die Bande um 1645 cm⁻¹, die intramolekulare Wasserstoffbrücken zugeordnet wird, beim Entfalten an Intensität verliert (negative Differenzbande). Dies macht deutlich, dass durch die Isomerisierung eine (zumindest partielle) Entfaltung der Tripelhelix induziert wird. Der Effekt vergrößert sich, wie zu erwarten, in der Nähe der Schmelztemperatur.

In Abbildung 5.15 ist unten das FTIR-Differenzspektrum der Azokollagenprobe gezeigt, welches durch Erhitzen (ohne zusätzliches Belichten) erhalten wird. Dabei wurde das FTIR-Spektrum bei der Starttemperatur (10°C) von dem Spektrum bei der höchsten eingestellten Temperatur (86°C) abgezogen. Man findet ähnliche Differenzbanden, wie die durch Isomerisierung des Schalters induzierten, allerdings ändern sich die relativen Amplituden (vgl. Tabelle 5.4), so dass am stärksten ausgeprägt der Beitrag durch die Abnahme intramolekularer Wasserstoffbrücken hervortritt. Bei einer Temperaturerhöhung auf etwa 90°C, kann eine fortgeschrittene Entfaltung der Tripelhelix angenommen werden. Die Differenzbanden zwischen den Spektren bei 86°C und nach dem Abkühlen auf 10°C zeigen im Amidbereich eine deutliche Symmetrie zum Differenzspektrum der Aufheizphase und lassen die Vermutung zu, dass die tripelhelikale Struktur beim Abkühlen wieder ausgebildet wird. Im Bereich zwischen 1580 cm⁻¹ und 1460 cm⁻¹ weisen die Differenzbanden allerdings eine Asymmetrie auf, deren Ursprung noch nicht geklärt ist.

Der Vergleich der temperaturinduzierten und der lichtinduzierten Differenzbanden zeigt, dass durch die Isomerisierung des Schalters eine Strukturänderung in der Tripelhelix hervorgerufen wird, die der beim Schmelzen vergleichbar ist. Diese ist stärker ausgeprägt, wenn die trans → cis-Isomerisierung in der Nähe der Schmelztemperatur induziert wird. Für anstehende zeitaufgelöste Messungen legen diese Ergebnisse die Durchführung der Experimente bei 50 bis 60°C nahe, da in diesem Temperaturbereich eine

maximale Strukturänderung durch Isomerisierung erwartet wird und die Probe schnell regeneriert, da die Entfaltung nicht vollständig ist, was optimale Voraussetzungen für diese Art von Messung darstellt.

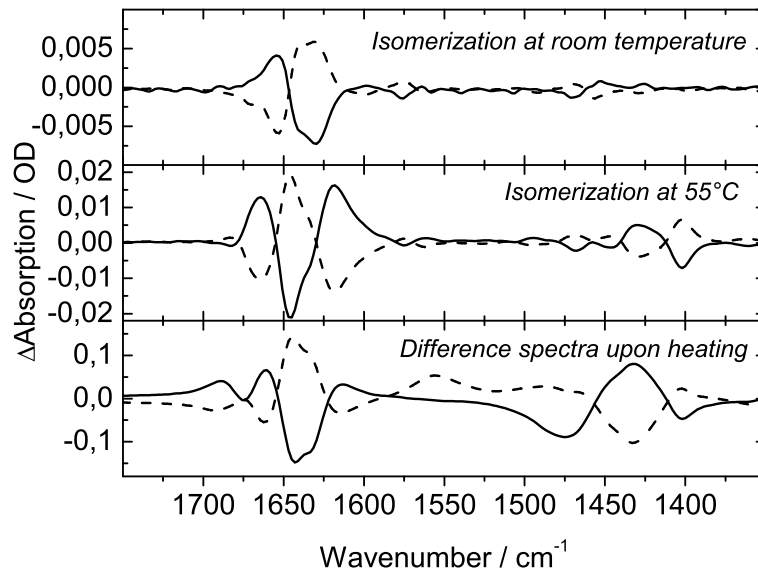


Abbildung 5.15: Vergleich der Differenzspektren, oben: Differenzspektren nach Isomerisierung bei Raumtemperatur; mitte: Isomerisierung bei 55°C; unten: durchgezogene Linie: $T_{max}=86^{\circ}C - T_{Start}=10^{\circ}C$, gestrichelte Linie: $T_{Ende}=10^{\circ}C - T_{max}=86^{\circ}C$.

5.2.2 Zeitaufgelöste Messungen

Geplant waren zeitaufgelöste Messungen im sichtbaren und infraroten Spektralbereich. Nach Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs von trans-Azobenzol bei 350 nm, kann im Bereich zwischen 340 und 700 nm die Dynamik des Azobenzolschalters untersucht werden. Dieser Bereich ist allerdings nicht sensitiv für strukturelle Änderungen des Peptids. Daher sind ergänzende Messungen im struktursensitiven Bereich von 1200 cm^{-1} bis 1750 cm^{-1} wünschenswert. Das bei Anreg-Abtast-Experimenten realisierbare Zeitfenster von wenigen hundert Femtosekunden bis zu etwa zwei Nanosekunden dient allerdings nur der Aufnahme der frühen Strukturänderungen, die der Azobenzolisomerisierung folgen. Langsamere Strukturänderungen, die sich bis in den Millisekundenbereich erstrecken können, müssen mittels weiterer Methoden untersucht werden. Hierzu kommen Nanosekunden-Flash-Photolyse-Experimente, Step-Scan-FTIR oder femtosekunden-IR Experimente mit Synchronisation von zwei Lasern in Frage. Im Rahmen dieser Arbeit werden nur zeitaufgelöste Messungen im spektralen Bereich von 340 nm bis 650 nm, sowie im Zeitfenster bis zu 1,5 ns vorgestellt. Alle weiterführenden Untersuchungen im mittleren Infrarotbereich sowie zu längeren Verzögerungszeiten hin, sind Gegenstand zukünftiger Arbeiten. Die Konzentration der Proben wurde der jeweiligen Messmethode angepasst. Bei Anreg-Abtast-Experimenten im Sichtbaren wurde die Absorption bei der Anregwellenlänge auf etwa 1 OD eingestellt. Dies entspricht einer Konzentration von etwa 1 mM.

Während der Messung wurde die Probe mit einer Quecksilber-Xenon-Lampe, deren Licht spektral gefiltert wurde², analog zu den bereits vorgestellten Messungen an Azobenzolderivaten, belichtet. Dadurch kann das Verhältnis der Isomere während der Messung konstant gehalten werden. Die Probe wurde in x-y-Richtung bewegt, so dass isomerisierte Moleküle nicht im Messbereich des nächsten Anregpulses lagen. Prinzipiell ist eine Messung dieser Probe im Durchflussverfahren wünschenswert, da die Rückfaltung langsam ist. Bei Durchführung der Experimente bei Raumtemperatur kann allerdings nicht von einer vollständigen Entfaltung ausgegangen werden, so dass die Probe hinreichend schnell in ihren Ausgangszustand zurückkehrt, was die Anwendung des Verschiebens, welches wesentlich weniger Probenvolumen erfordert, rechtfertigt.

Ergebnisse der Anreg-Abtast-Experimente im Sichtbaren

Anregung des $\pi\pi^$ -Übergangs bei 340 nm*

Eine Übersicht über den zeitlichen Verlauf der Absorptionsänderung nach Anregung in der $\pi\pi^*$ -Bande bei 340 nm, gibt Abbildung 5.16. Bei dem Photoschalter handelt es sich um ein symmetrisch 4,4'-substituiertes Azobenzolderivat. Eine Amidbindung, welche direkt an den Phenylringen über die Carboxyunktionalität angebracht wurde, hat elektronenziehenden Einfluss auf die Phenylringe. Die Absorption des angeregten Zustands nach Anregung in der $\pi\pi^*$ -Bande ist, vergleichbar mit 4,4'-Azodi(benzoessäuremethylester), welcher in Kapitel 4.3.3 vorgestellt wurde, strukturiert mit mehreren ESA-Maxima. Diese zerfallen auf unterschiedlichen Zeitskalen. Die Eigenschaften dieser Klasse von Photoschaltern sind also auch in diesem System erhalten und hängen ausschließlich von den direkt am Phenylring angebrachten Gruppen ab. Im direkten Vergleich des reinen Schalters mit der Azokollagenprobe fällt vor allem das ausgeprägtere Grundzustandsbleichen des AB-Schalters auf. Sehr frühe Prozesse zu Verzögerungszeiten von weniger als 400 fs sind zum Teil noch von der Dynamik des Lösungsmittels überlagert. Die Gegenüberstellung zweier Transienten bei 355 nm, also im Bereich des Grundzustandsbleichens und bei 443 nm, im Bereich der Absorption des angeregten Zustands (ESA) (Abbildung 5.17), verdeutlicht sowohl das gehemmte Auftreten des Grundzustandsbleichens (GSB) im Falle der Azokollagenprobe, wie auch die Ähnlichkeiten in der Dynamik. Man erkennt deutlich, dass die Schalterdynamik kaum vom Peptidteil der Probe beeinflusst wird. Die Absorptionsänderungen sind nach mehreren 10 ps nahezu vollständig abgeklungen. Dies wird auch bei einer detaillierteren Analyse

²Glasfilter der Firma Schott, BG3 + GG420 zur Belichtung der $\pi\pi^*$ -Bande

bestätigt.

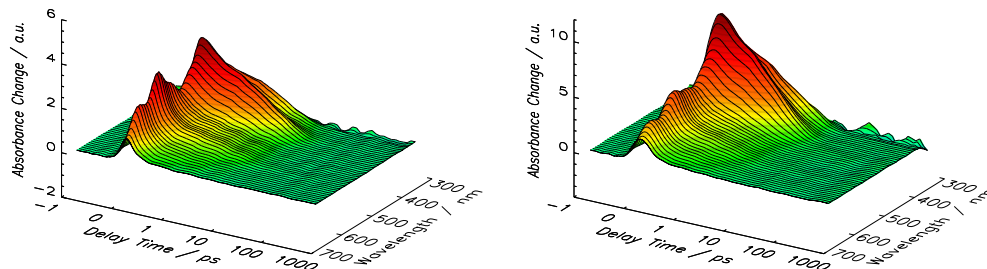


Abbildung 5.16: 3d-Abbildungen von Azokollagen (links) und Schalter (rechts) nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm.

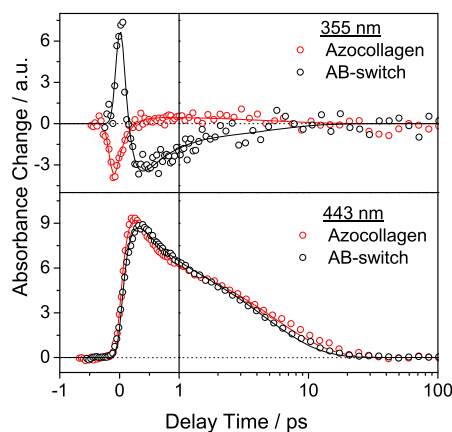


Abbildung 5.17: Vergleich der Transienten des AB-Schalters und des Azokollagens nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm. Zum besseren Vergleich wurden die Transienten des Azokollagens skaliert (oben mit einem Faktor 2,5, unten mit einem Faktor 2,8).

Eine globale Fitanalyse, bei der sowohl der AB-Schalter, als auch das Azokollagen, mit insgesamt vier exponentiellen Zerfällen angepasst wurden, ergab, dass die Kinetik des Photoschalters in beiden Proben vergleichbar ist. Die langsame Zerfallszeit ist im Falle des Azokollagens ($\tau_D=6,4$ ps) etwas verzögert gegenüber dem reinen AB-Schalter ($\tau_D=4,7$ ps). Das Ergebnis der globalen Fitanalyse ist graphisch in Abbildung 5.18 (links) dargestellt. Die Anregung in der $\pi\pi^*$ -Bande führt zu einer Population des zweiten angeregten Zustands. Dieser wird mit $\tau_1 \sim 200$ fs schnell entvölkert und die ESA im Spektralbereich zwischen 500 nm und 650 nm verschwindet. Dabei wird hauptsächlich der erste angeregte Zustand populiert, welcher spektral durch zwei ESA-Maxima bei etwa 370 nm und 430 nm charakterisiert ist. Der Übergang vom ersten angeregten in den Grundzustand wird durch die beiden Zerfallszeiten $\tau_2=0,4$ ps und $\tau_3 \sim 5$ ps beschrieben. Diese haben etwa gleichen Anteil am Zerfall der ESA und der Vergleich zwischen beiden Proben zeigt, dass auch die spektrale Charakteristik sehr ähnlich ist.

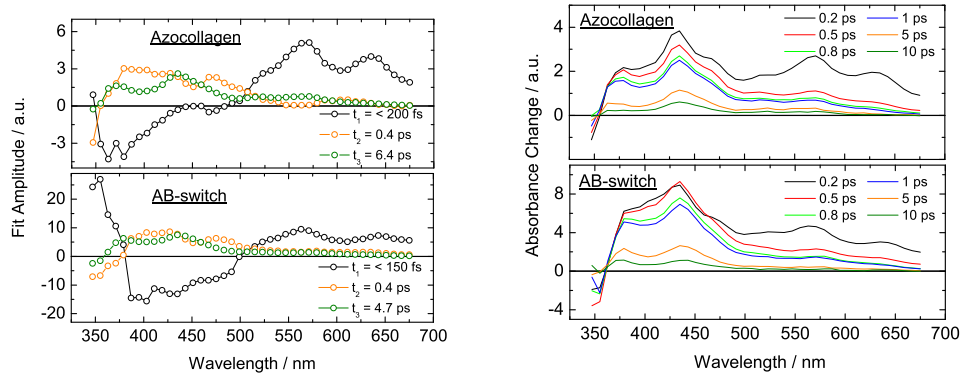


Abbildung 5.18: Links: Zerfallsassoziierte Spektren von Azokollagen (oben) und Schalter (unten) nach Anregung mit $\lambda_{exc}=340$ nm. Rechts: Transiente Spektren des Azokollagens (oben) und des Schalters (unten) bei ausgewählten Verzögerungszeiten.

Die strukturierte ESA beider Proben und ihre zeitliche Entwicklung lässt sich bei der Betrachtung der transienten Spektren zu ausgewählten Verzögerungszeiten (Abbildung 5.18, rechts) nachvollziehen. Bei $\tau_{delay}=0,2$ ps sind Maxima bei 370 nm, 430 nm, 570 nm und 640 nm zu erkennen. Bereits nach 0,5 ps ist die Struktur im längerwelligen Spektralbereich nahezu verschwunden. Die Maxima bei 370 nm und 430 nm sind auch bei $\tau_{delay}=10$ ps noch ausgeprägt.

Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs bei 480 nm

Die 3d-Darstellungen nach Anregung der $n\pi^*$ -Bande bei 480 nm sind in Abbildung 5.19 gezeigt. Die optische Dichte beider Proben lag im Bereich von 0,2 OD bei 480 nm. Im Bereich um die Anregungswellenlänge sind die Daten aufgrund des erhöhten Streulichtanteils stark verrauscht, der blaue Bereich zwischen den beiden ESA-Banden ist auf Streulicht zurückzuführen. Wie schon bei den AB-Derivaten erläutert wurde, ist die ESA nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs weniger strukturiert und durch zwei Maxima gekennzeichnet.

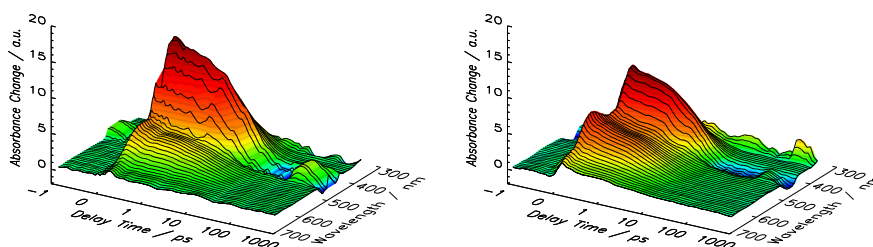


Abbildung 5.19: 3d-Abbildung von Azokollagen (links) und dem Azoschalter (rechts) nach Anregung mit $\lambda_{exc}=480$ nm. Die Transienten um die Anregungswellenlänge sind stark verrauscht und wurden zum Teil gelöscht.

Die Daten können mittels globaler Fitanalyse mit vier exponentiellen Zerfällen angepasst werden. Wichtig für die Isomerisierung sind die Zerfallszeiten in der Größenordnung von 0,5 ps und 5 ps. Beide beschreiben den Übergang vom ersten angeregten in den elektronischen Grundzustand. Das Ergebnis der globalen Fits ist in Abbildung 5.20 (links) dargestellt. Im Bereich um die Anregungswellenlänge wurden einige Kanäle wegen des Streulichtanteils nicht berücksichtigt. Das zerfallsassoziierte Spektrum zu $\tau_1 \sim 0,5$ ps hat eine deutlich kleinere Amplitude als das zu τ_2 gehörige DAS. Es weist zwei Bereiche von 360 nm bis 430 nm und von 500 nm bis 650 nm auf. Das Maximum zu τ_2 ist demgegenüber in den längerwelligen Spektralbereich verschoben und dominiert den Zerfall der ESA zwischen 370 nm und 500 nm. Die zeitliche Entwicklung der ESA lässt sich leichter anhand transientser Spektren zu verschiedenen Verzögerungszeiten verfolgen (Abbildung 5.20, rechts).

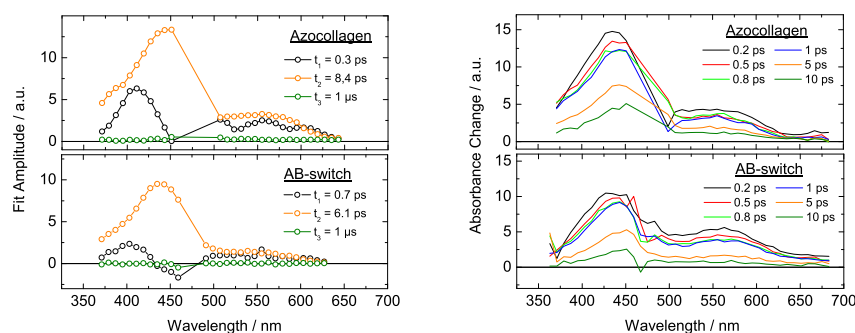


Abbildung 5.20: Links: Zerfallsassoziierte Spektren von Azokollagen (oben) und Schalter (unten) nach Anregung mit $\lambda_{exc}=480$ nm. Rechts: Absorptionsänderungen des Azokollagens (oben) und des Schalters (unten) zu ausgewählten Verzögerungszeiten.

Einfluss der Temperatur auf die Dynamik

In statischen Messungen zeigte sich bereits, dass die Isomerisierung bei Temperaturerhöhung von Raumtemperatur zum Schmelzpunkt hin, effizienter verläuft. Inwiefern auch die schnelle Dynamik von der Temperatur beeinflusst wird, sollte mittels temperaturabhängiger zeitaufgelöster Messungen im Sichtbaren überprüft werden. Für diese Messungen wurde eine temperierbare Küvettenhalterung entworfen, in welche die auch für andere Messungen verwendeten 1 mm Quarzglasküvetten eingebracht werden können. Die Halterung wurde so konzipiert, dass die Bewegung der Probe in x-y-Richtung weiterhin gewährleistet wurde. Eine Beschreibung der Küvettenhalterung findet sich in Kapitel 2.1. Es wurden zwei Messungen durchgeführt, eine bei 55°C, die andere bei 65°C. Angeregt wurde der $\pi\pi^*$ -Übergang mit $\lambda_{exc}=340$ nm. Aufgrund nicht exakt reproduzierbarer Bedingungen, können diese Messungen nicht mit den früher durchgeführten Messungen bei Raumtemperatur verglichen werden.

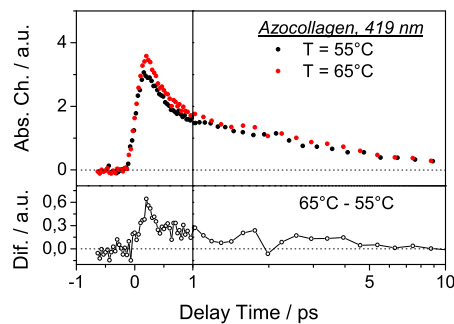


Abbildung 5.21: Oben: Vergleich der Messungen bei 55°C bzw. 65°C bei einer Wellenlänge ($\lambda_{probe}=419$ nm). Unten: Differenzsignal aus den beiden Messungen.

Wie in Abbildung 5.21 bei $\lambda_{probe}=419$ nm gezeigt ist, unterscheidet sich die Amplitude zu kurzen Zeiten hin in Abhängigkeit von der Temperatur.

Um den Einfluss der Temperatur auf die Schaltdynamik eindeutig zu klären sind allerdings weitere Messreihen notwendig, bei denen unter vergleichbaren Bedingungen im Bereich von Raumtemperatur bis zur Schmelztemperatur gemessen wird.

5.3 Evaluation der thermodynamischen Größen

5.3.1 Auswertung der CD-Messungen

Es gibt unterschiedliche Verfahren, die thermodynamischen Parameter aus den CD-Daten zu extrahieren, wobei grundsätzlich nur dann eine einfache Auswertung möglich ist, wenn ein Zweizustandsmodell (gefaltet und ungefaltet) zu Grunde gelegt wird. Im Folgenden soll die Auswertung anhand der beiden in Kapitel 2.3.3 vorgestellten Methoden vorgenommen werden, mittels derer die Schmelztemperatur, die Enthalpie, die Entropie und die Freie Energie extrahiert wurden.

Auswertung anhand des Verhältnisses von gefaltetem zu ungefaltetem Peptid

Ausgehend von der CD-Schmelzkurve, die bei 225 nm aufgezeichnet wurde (Abbildung 5.22 links), wird der gemessene Kurvenverlauf zunächst geglättet³. Das Intensitätsmaximum wird mit dem Zustand "vollständig tripelhelikal" gleichgesetzt. Da das Signal für den vollständig entfalteten Zustand auf Null zurückgeht, kann der Anteil an gefaltetem Kollagen (F) aus Gl. (2.17) berechnet werden und kann Werte zwischen null und eins annehmen, wie rechts in Abbildung 5.22 gezeigt ist.

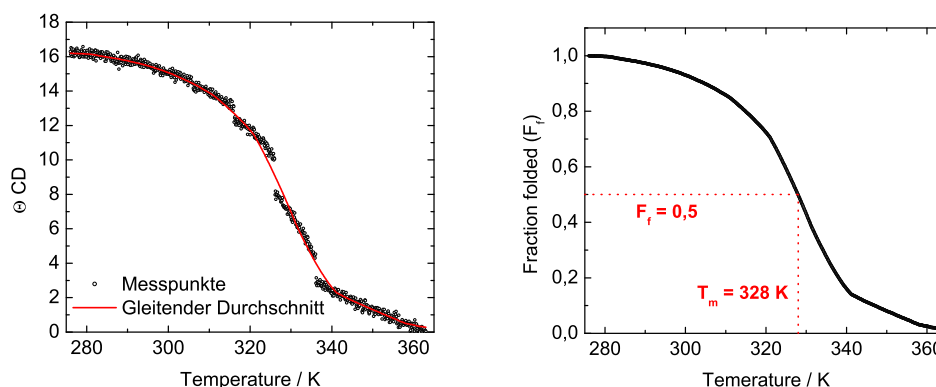


Abbildung 5.22: Links: Schmelzkurve aus einer zirkulardichroismus Messung bei 225°C. Die geglättete Funktion ist in rot eingezeichnet. Rechts: Umrechnung von Θ in den Anteil an gefaltetem Kollagen und die abgelesene Schmelztemperatur (T_m) bei 328 K.

Die Schmelztemperatur T_m wird am Punkt $F=0,5$ abgelesen und beträgt 328 K (55°C).

Wie im Methodenteil bereits erläutert, weichen die Funktionswerte bei einer Auftragung von $\ln K$ als Funktion von $\left(\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T}\right)$ nach Gl. (2.22) an den Rändern des Messbereichs stark vom linearen Verhalten ab, so dass in der hier gezeigten Auswertung nur Werte von etwa ± 5 K um den Schmelzpunkt berücksichtigt wurden. Die Auftragung sowie die lineare Regression sind in Abbildung 5.23 gezeigt. Die Daten werden durch die Geradengleichung (5.3) beschrieben.

$$Y = -1,098(\pm 0,002) \cdot X - 28373(\pm 57) \quad (5.3)$$

Somit ergibt sich ΔH° aus dem Achsenabschnitt und ΔS° aus Gl. (2.20). ΔG° kann dann mittels Gl. (2.18) berechnet werden.

$$\Delta H^\circ = -28373 \text{ K} \cdot 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} = -236 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \quad (5.4)$$

³Zur Glättung der Daten wurde ein gleitender Durchschnitt des Softwarepakets Origin Pro 7.5 gewählt, bei dem einhundert Datenpunkten zur Berechnung eines geglätteten Datenpunkts herangezogen wurden.

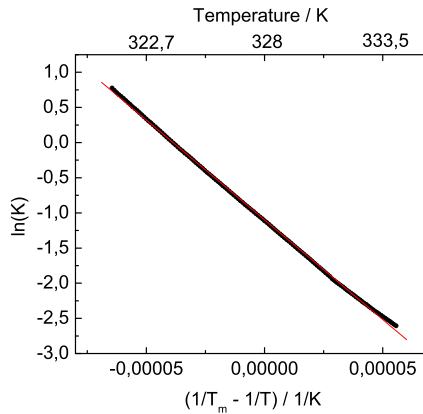


Abbildung 5.23: Auftragung von $\ln(K)$ als Funktion der Temperatur. Eine linearer Zusammenhang wird nur in der Nähe des Schmelzpunktes (T_m) gefunden. In rot ist die lineare Anpassung der Daten gezeigt. Oben sind die den aufgetragenen Werten entsprechenden Temperaturen angegeben.

$$\Delta S^\circ = \frac{-236 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} - (328 \text{ K} \cdot 8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \cdot (-1,098))}{328 \text{ K}} = -710 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \quad (5.5)$$

ΔG°_{298} ist dann nach Gl. (2.18) etwa -11 kJ/mol

Auswertung mittels CD-Schmelzkurve und ihrer ersten Ableitung

Bei diesem Verfahren wird die Schmelzkurve im gesamten Messbereich für die Auswertung berücksichtigt und nicht auf Datenpunkte in einem kleinen Temperaturintervall um die Schmelztemperatur reduziert. Das gleichzeitige Anpassen der ersten Ableitung der Schmelzkurve verringert die Zahl der Unbekannten und verbessert so das Ergebnis des Fits. Auch hier wurde die Anpassung für die geglätteten Daten vorgenommen und ist in Abbildung 2.28 links für die CD-Schmelzkurve und rechts für ihre erste Ableitung gezeigt.

Aus diesem Verfahren wurde eine Schmelztemperatur von 329 K ermittelt. Die Enthalpie ΔH° beträgt -140 kJ/mol, für die Freie Energie ΔG° wurde ein Wert von -11 kJ/mol ermittelt. Die Entropie kann in guter Näherung durch Gl. (2.18) berechnet werden. Es resultiert ein Wert von etwa -460 J/molK.

Die resultierenden thermodynamischen Größen sind in Tabelle 5.5 zusammengefasst. Der Schmelzpunkt stimmt bei beiden Methoden gut überein und liegt bei etwa 328 K (55°C). Für die Freie Enthalpie ΔH° , die Entropie ΔS° und die Freie Energie ΔG° weichen die Ergebnisse allerdings um etwa einen Faktor zwei voneinander ab.

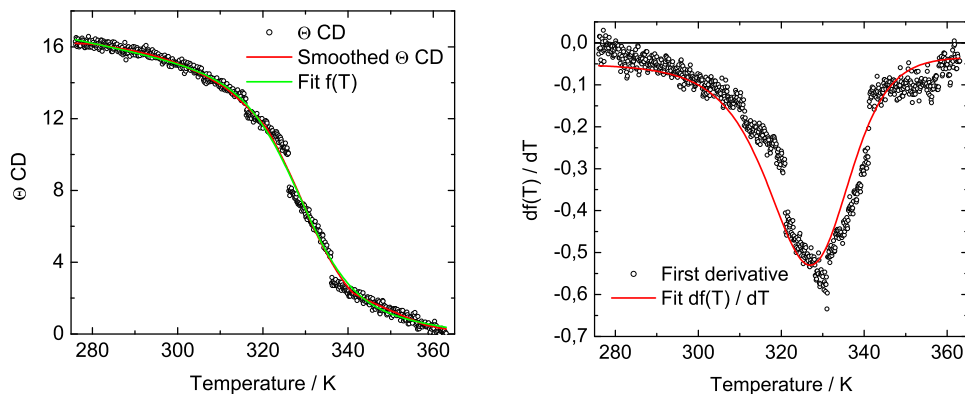


Abbildung 5.24: Links: CD-Daten (offene Kreise), sowie geglättete Daten (rote Linie) und das graphische Ergebnis der Fitfunktion nach Gl. (2.24). Rechts: Erste Ableitung der geglätteten CD-Daten, sowie das Ergebnis des Fits nach Gl. (2.28).

	Methode 1 Arrhenius-Auftragung	Methode 2 Fit Daten und erste Ableitung
Schmelztemperatur T_m	328 K	329 K
Enthalpie ΔH°	-236 kJ/mol	-140 kJ/mol
Entropie ΔS°	- 710 J/molK	-460 J/molK
Freie Energie ΔG°	-24 kJ/mol	-11 kJ/mol

Tabelle 5.5: Zusammenfassung der thermodynamischen Parameter, die jeweils nach Methode 1 und 2 ermittelt wurden. Die Peptidkonzentration betrug etwa $c_0 = 2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

5.3.2 Auswertung der FTIR-Messungen

Auch aus den um die Lösungsmittelabsorption korrigierten FTIR-Intensitäten bei 1645 cm^{-1} wurde die "Arrhenius-analoge"-Auswertung, sowie die Auswertung der Daten und ihrer ersten Ableitung, zur Ermittlung der thermodynamischen Größen vorgenommen. Die Konzentration der Probe betrug etwa 20 g/l , was dem Zehnfachen der Probenkonzentration bei den CD-Messungen entspricht.

Da in diesem Bereich sowohl das Trimer als auch das Monomer absorbieren, errechnet sich der Anteil an gefaltetem Protein (F) unter der Annahme, dass die maximale Intensität I_{max} dem Beitrag ausschließlich gefalteter Probe und der minimale Beitrag I_{min} ausschließlich entfalteter Probe entspricht, aus Gl. (5.6).

$$F_f = \frac{I_0 - I_{min}}{I_{max} - I_{min}} \quad (5.6)$$

Die Schmelztemperatur wird wie in Abbildung 5.25 bei $F_f = 0,5$ abgelesen und ergibt einen Wert $T_m = 334\text{ K}$ (61°C).

Die restliche Auswertung wurde völlig analog zu den CD-Daten durchgeführt. Die Arrhenius-analoge Auftragung ist in Abbildung 5.25 (links) gezeigt.

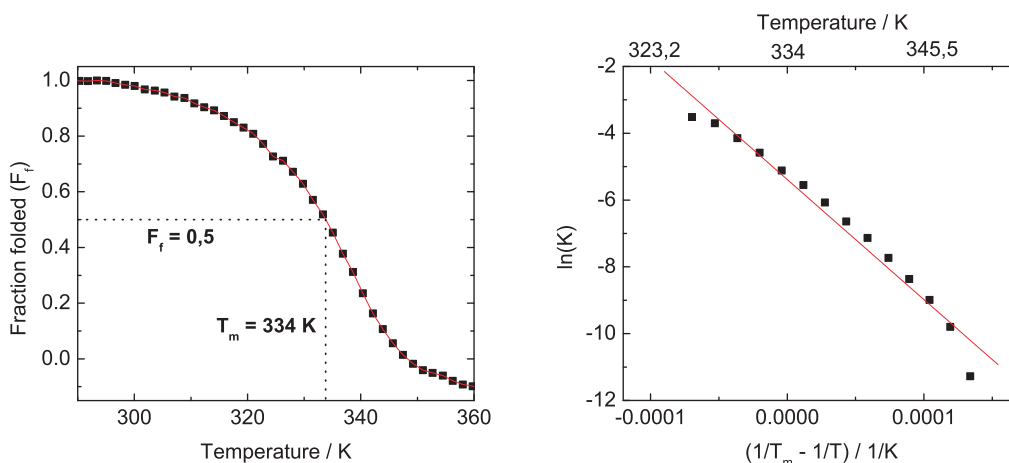


Abbildung 5.25: Links: FTIR-Intensität bei 1645 cm^{-1} (Kästchen), sowie die interpolierten Daten (rote Linie). Bei $F_f = 0,5$ wurde der Schmelzpunkt abgelesen. Rechts: Arrhenius-Auftragung (Kästchen) und die lineare Anpassung der Daten (rote Linie).

Die lineare Anpassung wird durch Gl. (5.7) beschrieben und ist in Abbildung 5.25 (rechts) dargestellt.

$$\ln(K_{eq}) = -35950\text{ K} \cdot \left(\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T} \right) - 5,4 \quad (5.7)$$

Damit erhält man eine Enthalpie $\Delta H^\circ = -300\text{ kJ/mol}$, eine Entropie $\Delta S^\circ = -850\text{ J/molK}$ und eine Freie Energie bei Raumtemperatur $\Delta G^\circ_{298} = -47\text{ kJ/molK}$. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.6 zusammengefasst.

Die Auswertung der Schmelzkurve aus den FTIR-Daten bei 1645 cm^{-1} wurde ebenfalls aus den Differenzspektren (T_0 -T) mit der Methode der Anpassung der Schmelzkurve und ihrer ersten Ableitung vorgenommen (Abbildung 5.26, links). Es ergibt sich eine Schmelztemperatur $T_m = 339\text{ K} = 66^\circ\text{C}$. Die ermittelte Enthalpie beträgt -140 kJ/mol , die Freie Energie ΔG° beträgt -15 kJ/mol . Die nach Gl. (2.18) berechnete Entropie ΔS° ist somit -460 kJ/mol .

Eine Gegenüberstellung mit den Ergebnissen aus der ersten Auswertung findet sich in Tabelle 5.6.

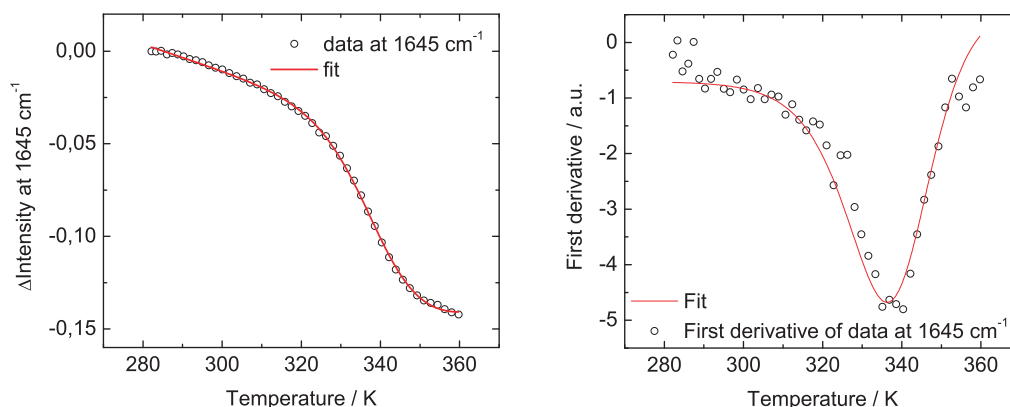


Abbildung 5.26: Links: FTIR-Daten der Absorptionsänderung bei 1645 cm^{-1} (offene Kreise), sowie das graphische Ergebnis der Analyse nach Gl. (2.24). Rechts: Erste Ableitung der FTIR-Daten, sowie das Ergebnis des Fits nach Gl. (2.28).

	Methode 1 Arrhenius-Auftragung	Methode 2 Fit Daten und erste Ableitung
Schmelztemperatur T_m	334 K	339 K
Enthalpie ΔH°	-300 kJ/mol	-140 kJ/mol
Entropie ΔS°	-850 J/molK	-460 J/molK
Freie Energie ΔG°	-47 kJ/mol	-15 kJ/mol

Tabelle 5.6: Zusammenfassung der thermodynamischen Parameter, die jeweils nach Methode 1 und 2 ermittelt wurden. Die Peptidkonzentration betrug etwa $c_0 = 20\text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Die thermodynamischen Größen Schmelztemperatur (T_m), Enthalpie ΔH° , Entropie ΔS° und Freie Energie ΔG° wurden mittels zweier unterschiedlicher Datensätze (der CD-Schmelzkurve und der FTIR-Schmelzkurve) und anhand zweier Verfahren bestimmt. Bei den CD-Messungen beträgt die Schmelztemperatur etwa 55°C bei einer Probenkonzentration von ungefähr 2 g/l . Bei den FTIR-Messungen, die bei einer Probenkonzentration von ungefähr 20 g/l durchgeführt wurden, liegt die Schmelztemperatur im Bereich von 61 bis 65°C . Enthalpie, Entropie und Freie Energie weichen zwischen beiden Datensätzen und beiden Auswertungsmethoden deutlich voneinander ab, liegen aber grundsätzlich in der Größenordnung, die man für Kollagen-Modellpeptide erwarten würde [13].

5.4 Zusammenfassung

Mittels statischer Messungen sollte die

- Bildet die azobenzolmodifizierte Kollagensequenz eine stabile Tripelhelix?
- Welches Lösungsmittel ist zur Durchführung zeitaufgelöster Experimente geeignet?
- Ist der Azobenzolschalter in der Azokollagenprobe noch funktionsfähig und ist seine Dynamik vergleichbar mit dem freien Schalter?
- Wie sollten zeitaufgelöste Messungen optimiert werden, im Hinblick darauf, dass eine maximale Strukturänderung in der Probe nach der Isomerisierung des Schalters erzielt wird.

Die Charakterisierung der thermodynamischen Eigenschaften der Probe stand im Vordergrund der statischen Messungen. Aus den CD-Messungen konnte abgeleitet werden, dass die Probe im gewählten Lösungsmittelgemisch aus gleichen Anteilen von Ethylenglykol und Wasser eine tripelhelikale Struktur bildet. Deren charakteristisches CD-Signal bei 225 nm verschwindet beim Aufheizen auf 90°C vollständig, was die Entfaltung der Tripelhelix in Monomere anzeigt. Die Schmelztemperatur liegt bei den gewählten Bedingungen und einer Monomerkonzentration von etwa 2 g/l bei 55°C. Dieser Wert ist stark abhängig vom gewählten Lösungsmittel. Das Referenzpeptid Ac-(Pro-Hyp-Gly)₇-Gly-Gly-NH₂, welches keinen optischen Schalter enthält, ist im Gegensatz zur azobenzolmodifizierten Probe, in Wasser löslich, wo eine Schmelztemperatur von 43°C [55], ermittelt wurde. Der stabilisierende Einfluss von Ethylenglykol erklärt den 12°C höheren Schmelzpunkt des Azokollagens.

Die Auswertung der mittels FTIR-Spektroskopie erhaltenen Schmelzkurve ergab einen deutlich höheren Schmelzpunkt von etwa 65°C, bei einer Monomerkonzentration von ungefähr 20 g/l. Anhand dieser beiden unterschiedlichen Methoden kann der Schmelzpunkt der Tripelhelix für die geplanten zeitaufgelösten Messungen anhand der Probenkonzentration abgeschätzt und berücksichtigt werden.

Die Evaluation von Enthalpie, Entropie und Freier Energie lieferte Werte, die eine starke Abhängigkeit von der gewählten Auswertungsmethode zeigten.

Die Isomerisierung des Photoschalters konnte in der Azokollagenprobe bei Raumtemperatur realisiert werden. Absorptionsmessungen im nahen UV und sichtbaren Spektralbereich ergaben, dass der Schalter auch nach Einbau in die Kollagenstränge funktionsfähig ist und die elektronischen Übergänge nicht durch den Peptidteil beeinflusst werden. Im photostationären Zustand liegt, unter den gewählten Bedingungen, ein trans:cis-Verhältnis von etwa 60:40 vor.

Wird die Isomerisierung FTIR-spektroskopisch verfolgt, so findet man deutliche Differenzbanden im Amid-I-Bereich, die darauf hinweisen, dass die Isomerisierung des Schalters sich auf die Struktur der Tripelhelix auswirkt. Die induzierten Strukturänderungen erwiesen sich als vollständig reversibel bei Raumtemperatur.

Um die Auswirkungen der Isomerisierung auf das Peptidrückgrat zu erhöhen wurden Messungen im Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zur Schmelztemperatur durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass der photostationäre Zustand mit zunehmender Temperatur in Richtung des cis-Isomers verschoben wird. Die Strukturänderungen im Amid-I-Bereich nehmen an Intensität zu und signalisieren die (zumindest teilweise) Entfaltung der Tripelhelix, wie sie auch anhand von Schmelzkurven gezeigt wurde.

Der Vergleich der Differenzspektren nach Schmelzen der Probe bzw. nach Isomerisierung zeigt, dass beide Verfahren ähnliche Strukturänderungen induzieren. Die Isomerisierung, insbesondere bei der Übergangstemperatur, führt also zu einer Entfaltung. Diese ist reversibel.

Die zeitaufgelösten Messungen im sichtbaren Spektralbereich zeigen vor allem, dass eine Isomerisierung des Azobenzolschalters auch bei Anbindung an das Peptid, ohne Veränderung der Dynamik,

möglich ist. Die ermittelten Zeitkonstanten nach Isomerisierung bei Raumtemperatur sind vergleichbar mit denen von reinem Azobenzol.

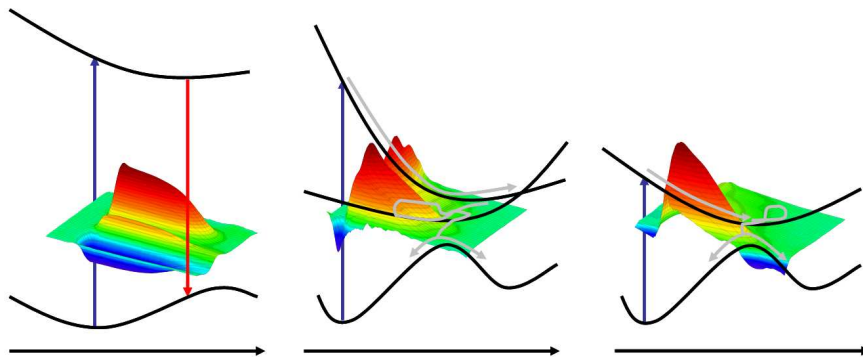
Die Dynamik des Schalters zeigte in der Azokollagenprobe keine Sensitivität auf die Umgebungstemperatur. Die Messung sollte aber in einem zukünftigen Experiment für einen größeren Temperaturbereich wiederholt werden.

Die Messungen bestätigen die Funktionalität des Schalters, zusammen mit den statischen Messungen konnte außerdem gezeigt werden, dass die Isomerisierung eine (auf jeden Fall teilweise) Entfaltung der Probe induziert und die Strukturänderungen in der Nähe der Schmelztemperatur am größten sind.

Besondere Bedeutung haben diese Befunde für die geplanten zeitaufgelösten Messungen. Zur Optimierung lichtinduzierter Strukturänderungen sollten diese Messungen in der Nähe der Schmelztemperatur durchgeführt werden.

Kapitel 6

Zusammenfassung



Zunächst wurde die Fluoreszenz der organischen Verbindung "Pigment Yellow 101" untersucht. P.Y. 101 und ein Derivat mit zusätzlichen Methylgruppen an den Azin-Kohlenstoffatomen, wurden mit zwei Derivaten verglichen, die keine Hydroxygruppen tragen und nicht fluoreszieren. Es konnte gezeigt werden, dass die Fluoreszenz bei diesen Verbindungen eine intrinsische Eigenschaft ist, die von der Reihenfolge der angeregten Zustände bestimmt wird. Bei Derivaten mit Hydroxygruppe entspricht der niedrigste angeregte Zustand einem $\pi\pi^*$ -Übergang, welcher hauptsächlich durch Fluoreszenz zurück in den Grundzustand gelangt. Verdrehte Molekülgeometrien und ein keto-enol-analoger Protonentransfer verkomplizieren die Dynamik und führen zu einem Intermediat, welches auf der Zeitskala von Mikrosekunden bis Millisekunden zurück in die Grundzustandskonformation gelangt. Bei den Verbindungen ohne Hydroxygruppe fehlt die stabilisierende Wasserstoffbrücke, die zur Absenkung des entsprechenden Zustands führt, so dass bei diesen Derivaten der unterste angeregte Zustand einem $n\pi^*$ -Übergang entspricht, der optisch verboten ist und somit nicht direkt populiert wird. Bei der Anregung wird ein höher angeregter Zustand bevölkert, der in den niedrigsten angeregten Zustand relaxiert, welcher über eine konische Durchschneidung schnell und strahlungsfrei erreicht werden kann. Der niedrigste angeregte Zustand schneidet seinerseits den Grundzustand, so dass auch die Repopulierung des Ausgangszustands schnell, effizient und strahlungslos abläuft.

Eine ganz andere Art der Photochemie wird bei Azobenzol (AB) und AB-Derivaten beobachtet. Durch Isomerisierung um die N-N-Doppelbindung wird bei dieser Klasse von Verbindungen ein Photoprodukt gebildet, das cis-Isomer. Die Quantenausbeute der Isomerisierung ist dabei abhängig davon, welcher elektronische Übergang angeregt wurde. Substituenten am AB üben unterschiedlichen Einfluss auf die elektronischen Eigenschaften aus: Elektronegative Gruppen in meta-Position zur Diazobrücke verändern die Lage der Absorptionsbanden kaum, ebensowenig die Rate der thermischen Rückisomerisierung und auch die Dynamik nach Photoanregung zeigt keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit vom Substituenten und kann in Analogie an unsubstituiertes AB wie folgt interpretiert werden: Nach Anregung des $n\pi^*$ -Übergangs zerfällt der angeregte Zustand biexponentiell. Eine schnelle Zerfallszeit in der Größenordnung von einer Pikosekunde beschreibt die Geometrieänderung aus der Franck-Condon-Region heraus in Richtung des Potentialminimums. Eine zweite Zerfallszeit von drei bis fünf Pikosekunden korreliert mit der eigentlichen Isomerisierung und dem Übergang in den elektronischen Grundzustand entlang einer konischen Durchschneidung. Diese Prozesse sind zeitlich voneinander abgegrenzt, überlagern aber spektral.

Die Anregung des $\pi\pi^*$ -Übergangs, dem optisch erlaubten Übergang, führt zur Population des zweiten angeregten Zustands. Eine Geometrieänderung aus der Franck-Condon-Region in Richtung des Potentialminimums führt zu einer Kreuzung mit einem Zustand, der als doppelt angeregter Zustand S(DE) bezeichnet wird und der bei größeren N-N-Abständen der zweitniedrigste angeregte Zustand ist. Dessen Potentialminimum ist durch eine verdrehte Geometrie gekennzeichnet. Entlang einer konischen Durchschneidung wird schnell und effizient der erste angeregte Zustand populiert. Dieser Prozess zeigt sich bei den zeitaufgelösten Messungen in einer schnellen Zerfallszeit, die nur wenige hundert Femtosekunden beträgt. Die nun folgenden Prozesse finden im ersten angeregten Zustand statt und sind vergleichbar mit den Prozessen nach $n\pi^*$ -Anregung. Der Hauptunterschied zwischen den beiden Dynamiken im S_1 -Zustand ist die Ausgangsgeometrie, mit der die Moleküle diesen Zustand populieren (Franck-Condon-Bereich bei direkter Anregung, bzw. eine große Bandbreite an Geometrien nach dem S_2 - S_1 -Übergang), sowie die Schwingungsenergie die das System jeweils besitzt. Auch nach ursprünglicher S_2 -Anregung können zwei Zerfallszeiten dem ersten angeregten Zustand zugeordnet werden, die analog der direkten Population als Geometrieänderung in Richtung des Potentialminimums und Isomerisierung bzw. Rückkehr in den Grundzustand interpretiert werden und in der Größenordnung von einer bzw. fünf Pikosekunden liegen. Eine zusätzliche lange Zerfallszeit von über zehn Pikosekunden, die bei einigen Derivaten nach $\pi\pi^*$ -Anregung auftritt kann in Analogie zu Messungen an reinem AB, Kühlprozessen im elektronischen Grundzustand zugeordnet werden.

Die Interpretation der Ergebnisse von para-substituierten Azobenzolderivaten erfolgt analog, allerdings

ist die Dynamik bei symmetrischer Substitution mit elektronegativen Gruppen etwas schneller gegenüber der 3,3'-Anordnung.

3,3'-APB ist die einzige hier untersuchte Verbindung, welche eine modifizierte Dynamik gegenüber den anderen Derivaten aufweist. Unabhängig vom angeregten Übergang wurde eine lange Zeit von 42 ps gefunden, die anhand ihrer spektralen Charakteristik dem S_1 -Zustand zugeordnet wird. Eine Interpretation anhand theoretischer Arbeiten steht noch aus, allerdings kann hier über eine stark verdrehte Geometrie, die durch Ladungstransfer stabilisiert wird, spekuliert werden.

Die Modifizierung von Peptiden mit Azobenzol stellt einen Weg dar, zeitlich synchronisiert, eine Störung in der Struktur zu induzieren. Dieses Konzept wurde bereits erfolgreich zur Untersuchung der Faltung zyklischer Peptide eingesetzt. Modifizierte Kollagenstränge sind eine Erweiterung dieses Prinzips, da sie eine Möglichkeit darstellen, die Tertiärstruktur eines Peptids zu adressieren. Für das vorliegende Azokollagen konnte gezeigt werden, dass die gewählte Aminosäuresequenz auch nach Anbringen der Azobenzolklammer zu gefaltetem Kollagen führt, welches thermodynamisch stabil ist. Der Schmelzpunkt der Tripelhelix liegt in einem eins zu eins Gemisch von Ethylenglykol und Wasser bei einer Probenkonzentration von etwa 2 g/l bei 55°C. Die Isomerisierung des Azobenzols induziert eine Störung der Tertiärstruktur, die zur teilweisen Entfaltung der Tripelhelix führt, was ein reversibler Prozess ist. Eine vollständige Entfaltung findet erst bei Temperaturen oberhalb des Schmelzpunkts statt. Nahe an der Schmelztemperatur wird der Effekt der Isomerisierung am effizientesten, kann aber immer noch als reversibel angenommen werden, was optimale Bedingungen für die Untersuchung des Faltungsprozesses mittels zeitaufgelöster Infrarotspektroskopie darstellt. Zeitaufgelöste Messungen im sichtbaren Spektralbereich zeigten, dass die Schalterdynamik durch Anbringung an das Peptid nicht signifikant im Vergleich zum reinen AB-Schalter verändert wird. Das photostationäre Gleichgewicht ist aber bei Raumtemperatur in Richtung des trans-Isomers verschoben. Untersuchungen bei höheren Temperaturen zeigten keinen Einfluss auf die Dynamik des Schalters. Dieser sollte bei Experimenten im mittleren Infraroten, einem Bereich der sensitiv für das Peptid ist, deutlich zu erkennen sein und stellt so einen Weg dar, die Entfaltung einer Tripelhelix zeitaufgelöst zu untersuchen.

Literaturverzeichnis

- [1] Arlee Smith (2000). SNLO. Sandia national Laboratories Albuquerque. <http://www.sandia.gov/imrl/XWEB1128/xtal.htm>.
- [2] R. R. Alfano and S. L. Shapiro. Emission in the region 4000 to 7000 Å via four-photon coupling in glass. *Phys Ref Lett*, 24(11):584–587, 1970.
- [3] D. R. Armstrong, J. Clarkson, and W. E. Smith. Vibrational analysis of trans-azobenzene. *J Phys Chem*, 99(51):17825–17831, 1995.
- [4] A. Bachmann, T. Kiefhaber, S. Boudko, J. Engel, and H. P. Bächinger. Collagen triple-helix formation in all-trans chains proceeds by a nucleation/growth mechanism with a purely entropic barrier. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(39):13897–13902, 2005.
- [5] R. Behrendt, C. Renner, M. Schenk, Wang, J. Wachtveitl, D. Oesterhelt, and L. Moroder. Photomodulation of the conformation of cyclic peptides with azobenzene moieties in the peptide backbone. *Angew Chem Int Ed Engl*, 38(18):2771–2774, 1999.
- [6] J. Bella, M. Eaton, B. Brodsky, and H. M. Berman. Crystal and molecular structure of a collagen-like peptide at 1.9 Å resolution. *Science*, 266(5182):75–81, 1994.
- [7] Zs. Bor and B. Rácz. Group velocity dispersion in prisms and its application to pulse compression and travelling-wave excitation. *Opt Comm*, 54(3):165 – 170, 1985.
- [8] M. Born and R. Oppenheimer. Zur quantentheorie der molekeln. *Annalen der Physik*, 389(20):457–484, 1927.
- [9] P. Bortolus and S. Monti. Cis-trans photoisomerization of azobenzene. solvent and triplet donors effects. *J Phys Chem*, 83(6):648–652, 1979.
- [10] C. Boulègue, H. J. Musiol, M. G. Götz, C. Renner, and L. Moroder. Natural and artificial cystine knots for assembly of homo- and heterotrimeric collagen models. *Antioxid Redox Signal*, 10(1):113–125, 2008.
- [11] R. C. Boyd. *Nonlinear Optics*. Elsevier, 2003.
- [12] J. Bredenbeck, J. Helbing, A. Sieg, T. Schrader, W. Zinth, C. Renner, R. Behrendt, L. Moroder, J. Wachtveitl, and P. Hamm. Picosecond conformational transition and equilibration of a cyclic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(11):6452–6457, 2003.
- [13] J. Buchner and T. Kiefhaber, editors. *Protein Folding Handbook*, volume 1-5. Wiley-VCH, Weinheim, 2005.
- [14] A.V. Buevich, Q.-H. Dai, X. Liu, B. Brodsky, and J. Baum. Site-specific NMR monitoring of cis-trans isomerization in the folding of the proline-rich collagen triple helix. *Biochem*, 39(15):4299–4308, 2000.

- [15] S. A. Cadamuro, R. Reichold, U. Kusebauch, H. J. Musiol, C. Renner, P. Tavan, and L. Moroder. Conformational properties of 4-mercaptoproline and related derivatives. *Angew Chem Int Ed Engl*, 47(11):2143–2146, 2008.
- [16] V. C. Chan, J. A. Ramshaw, A. Kirkpatrick, K. Beck, and B. Brodsky. Positional preferences of ionizable residues in gly-x-y triplets of the collagen triple-helix. *J Biol Chem*, 272(50):31441–31446, 1997.
- [17] C.-W. Chang, Y.-C. Lu, T.-T. Wang, and E.W.-G. Diau. Photoisomerization dynamics of azobenzene in solution with S_1 excitation: A femtosecond fluorescence anisotropy study. *J Am Chem Soc*, 126(32):10109–10118, 2004.
- [18] I. Conti, M. Garavelli, and G. Orlandi. The different photoisomerization efficiency of azobenzene in the lowest $n\pi^*$ and $\pi\pi^*$ singlets: the role of a phantom state. *J Am Chem Soc*, 130(15):5216–5230, 2008.
- [19] I. Conti, F. Marchioni, A. Credi, G. Orlandi, G. Rosini, and M. Garavelli. Cyclohexenyl-phenyldiazene: a simple surrogate of the azobenzene photochromic unit. *J Am Chem Soc*, 129(11):3198–3210, 2007.
- [20] C.R. Crecca and A.E. Roitberg. Theoretical study of the isomerization mechanism of azobenzene and disubstituted azobenzene derivatives. *J Phys Chem A*, 110(26):8188–8203, 2006.
- [21] R. de Vivie-Riedle, V. De Waele, L. Kurtz, and E. Riedle. Ultrafast excited-state proton transfer of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzothiazole: Theoretical analysis of the skeletal deformations and the active vibrational modes. *J Phys Chem A*, 107(49):10591–10599, 2003.
- [22] E. W. G. Diau. A new trans-to-cis photoisomerization mechanism of azobenzene on the $S_1(n\pi^*)$ surface. *J Phys Chem A*, 108(6):950–956, 2004.
- [23] A. Dreuw, J. Plötner, L. Lorenz, J. Wachtveitl, J.E. Djanhan, J. Brüning, T. Metz, M. Bolte, and M. U. Schmidt. Molecular mechanism of the solid-state fluorescence behavior of the organic pigment yellow 101 and its derivatives. *Angew Chem Int Ed Engl*, 44(47):7783–7786, 2005.
- [24] J. Engel, H. T. Chen, D. J. Prockop, and H. Klump. The triple helix \rightleftharpoons coil conversion of collagen-like polytripeptides in aqueous and nonaqueous solvents. comparison of the thermodynamic parameters and the binding of water to (1-pro-l-pro-gly) $_n$ and (1-pro-l-hyp-gly) $_n$. *Biopolymers*, 16(3):601–622, 1977.
- [25] J. Engel and D. J. Prockop. The zipper-like folding of collagen triple helices and the effects of mutations that disrupt the zipper. *Annu Rev Biophys Biophys Chem*, 20(1):137–152, 1991.
- [26] E. Fischer, M. Frankel, and R. Wolovsky. Wavelength dependence of photoisomerization equilibria in azocompounds. *J Chem Phys*, 23(7):1367–1367, 1955.
- [27] G. Fischer. Chemical aspects of peptide bond isomerisation. *Chem Soc Rev*, 29:119–127, 2000.
- [28] B. Fonrobert. *Untersuchungen im infraroten Spektralsbereich zur Aufklärung der Strukturdynamik von Biopolymeren*. PhD thesis, Fakultät der Physik der LMU-München, 2003.
- [29] R. L. Fork, O. E. Martinez, and J. P. Gordon. Negative dispersion using pairs of prisms. *Opt Lett*, 9(5):150–152, 1984.
- [30] T. Fujino and T. Tahara. Picosecond time-resolved raman study of trans-azobenzene. *J Phys Chem A*, 104(18):4203–4210, 2000.

- [31] W. Fuß, C. Kosmidis, W. E. Schmid, and S. A. Trushin. The photochemical cis-trans isomerization of free stilbene molecules follows a hula-twist pathway. *Angew Chem Int Ed Engl*, 43(32):4178–4182, 2004.
- [32] G. M. Gale, M. Cavallari, and F. Hache. Femtosecond visible optical parametric oscillator. *J Opt Soc Am B*, 15(2):702–714, 1998.
- [33] V. Gauba and J. D. Hartgerink. Surprisingly high stability of collagen abc heterotrimer: evaluation of side chain charge pairs. *J Am Chem Soc*, 129(48):15034–15041, 2007.
- [34] A. George and A. Veis. Ftirs in water demonstrates that collagen monomers undergo a conformational transition prior to thermal self-assembly in vitro. *Biochem*, 30(9):2372–2377, 1991.
- [35] C. V. Gortner and R. A. Gortner. The stereomeric azobenzenes. *Journal of the american chemical society*, 32:1294–1296, 1910.
- [36] P. Hamm, S. M. Ohline, and W. Zinth. Vibrational cooling after ultrafast photoisomerization of azobenzene measured by femtosecond infrared spectroscopy. *J Chem Phys*, 106(2):519–529, 1997.
- [37] L. P. Hammett. The effect of structure upon the reactions of organic compounds. benzene derivatives. *J Am Chem Soc*, 59(1):96–103, 1937.
- [38] G. S. Hartley. The cis-form of azobenzene and the velocity of the thermal cis → trans-conversion of azobenzene and some derivatives. *J Chem Soc*, pages 633–642, 1938.
- [39] R. Huber. *Elektronentransfer an Farbstoff-Halbleiter-Grenzflächen*. PhD thesis, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.
- [40] J. A. Ihalainen, J. Bredenbeck, R. Pfister, J. Helbing, L. Chi, I. H. M. van Stokkum, G. A. Woolley, and P. Hamm. Folding and unfolding of a photoswitchable peptide from picoseconds to microseconds. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(13):5383–5388, 2007.
- [41] H. Itoh, H. Nishioka, X. Liang, and H. Asanu. Development of photoresponsive RNA towards photoswitching of RNA functions. *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, (51):171–172, 2007.
- [42] S. Z. Janicki and G. B. Schuster. A liquid crystal opto-optical switch: Nondestructive information retrieval based on a photochromic fulgide as trigger. *J Am Chem Soc*, 117(33):8524–8527, 1995.
- [43] I. Jelesarov and H. R. Bosshard. Thermodynamic characterization of the coupled folding and association of heterodimeric coiled coils (leucine zippers). *J Mol Biol*, 263(2):344–358, 1996.
- [44] G. Jones, W. R. Jackson, C. Y. Choi, and W. R. Bergmark. Solvent effects on emission yield and lifetime for coumarin laser dyes. requirements for a rotatory decay mechanism. *J Phys Chem*, 89(2):294–300, 1985.
- [45] J. D. Kafka and T. Baer. Prism-pair dispersive delay lines in optical pulse compression. *Opt Lett*, 12(6):401–403, 1987.
- [46] M. Kasha. Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Discussions of the Faraday Society*, (9):14–19, 1950.
- [47] M. Kojima, S. Nebashi, K. Ogawa, and N. Kurita. Effect of solvent on cis to trans isomerization of 4-hydroxyazobenzene aggregated through intermolecular hydrogen bonds. *J Phys Org Chem*, 18(10):994–1000, 2005.

- [48] F. O. Koller, R. Reho, T. E. Schrader, L. Moroder, J. Wachtveitl, and W. Zinth. Infrared studies of small azobenzene peptides: unexpectedly slow reactions on the time range of minutes. *J Phys Chem B*, 111(35):10481–10486, 2007.
- [49] F. O. Koller, W. J. Schreier, T. E. Schrader, S. Malkmus, C. Schulz, S. Dietrich, K. Rück-Braun, and M. Braun. Ultrafast ring-closure reaction of photochromic indolylfulgimides studied with uv-pump-IR-probe spectroscopy. *J Phys Chem A*, 112(2):210–214, 2008.
- [50] F. O. Koller, W. J. Schreier, T. E. Schrader, A. Sieg, S. Malkmus, C. Schulz, S. Dietrich, K. Rück-Braun, W. Zinth, and M. Braun. Ultrafast structural dynamics of photochromic indolylfulgimides studied by vibrational spectroscopy and DFT calculations. *J Phys Chem A*, 110(47):12769–12776, 2006.
- [51] S. A. Kovalenko, A. L. Dobryakov, J. Ruthmann, and N. P. Ernsting. Femtosecond spectroscopy of condensed phases with chirped supercontinuum probing. *Phys Rev A*, 59(3):2369–2384, 1999.
- [52] I. Z. Kozma, P. Baum, S. Lochbrunner, and E. Riedle. Widely tunable sub-30 fs ultraviolet pulses by chirped sum frequency mixing. *Optics Express*, 11(23):3110–3115, 2003.
- [53] C. Krejtschi. *Zeitaufgelöste infrarot-Messungen zur Untersuchung der Konformationsdynamik von Peptiden mit Laserinduziertem Temperatursprung*. PhD thesis, JWG-Universität Frankfurt am Main, 2007.
- [54] U. Kusebauch. *Synthese und biophysikalische Charakterisierung von photoschaltbaren Kollagenmodellpeptiden*. PhD thesis, Fakultät für Biowissenschaften, Pharmazie und Psychologie der Universität Leipzig, 2006.
- [55] U. Kusebauch, S. A. Cadamuro, H. J. Musiol, M. O. Lenz, J. Wachtveitl, L. Moroder, and C. Renner. Photocontrolled folding and unfolding of a collagen triple helix. *Angew Chem Int Ed Engl*, 45(42):7015–7018, 2006.
- [56] H.G. Küttner, H.L. Selzle, and E.W. Schlag. Messung absoluter Quantenausbeuten von Quantenwandlern. *Zeitschrift Naturforschung*, 29:224–229, 1974.
- [57] H. Langhals, T. Potrawa, H. Nöth, and G. Linti. The influence of packing effects on the solid-state fluorescence of diketopyrrolopyrroles. *Angew Chem Int Ed Engl*, 28:478–480, 1989.
- [58] Yu. A. Lazarev, B. A. Grishkovsky, and T. B. Khromova. Amide I band of IR spectrum and structure of collagen and related polypeptides. *Biopolymers*, 24:1449–1478, 1985.
- [59] I. K. Lednev, T. Q. Ye, P. Matousek, M. Towrie, P. Foggi, F. V. R. Neuwahl, S. Umapathy, R. E. Hester, and J. N. Moore. Femtosecond time-resolved uv-visible absorption spectroscopy of trans-azobenzene: dependence on excitation wavelength. *Chem Phys Letters*, 290(1-3):68–74, 1998.
- [60] M. O. Lenz. *Kurzzeitspektroskopische Untersuchungen photoinduzierter Ladungstransferreaktionen*. PhD thesis, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, 2005.
- [61] X. Liang, H. Asanuma, and M. Komiyama. Photoregulation of DNA triplex formation by azobenzene. *J Am Chem Soc*, 124(9):1877–1883, 2002.
- [62] H. Liu, J. Yao, and A. Puri. Second and third harmonic generation in BBO by femtosecond Ti:sapphire laser pulses. *Opt Comm*, 109(1-2):139–144, 1994.
- [63] X. Liu, D.L. Siegel, P. Fan, B. Brodsky, and J. Baum. Direct NMR measurement of the folding kinetics of a trimeric peptide. *Biochem*, 35(14):4306–4313, 1996.

- [64] S. Lochbrunner, A.J. Wurzer, and E. Riedle. Microscopic mechanism of ultrafast excited-state intramolecular proton transfer: A 30-fs study of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzothiazole. *J Phys Chem A*, 107(49):10580–10590, 2003.
- [65] M. Lorenc, M. Ziolk, R. Naskrecki, J. Karolczak, J. Kubicki, and A. Maciejewski. Artifacts in femtosecond transient absorption spectroscopy. *Appl Opt Phys B-Lasers And Optics*, 74(1):19–27, 2002.
- [66] L. Lorenz, J. Plötner, V. V. Matyilitsky, A. Dreuw, and J. Wachtveitl. Ultrafast photoinduced dynamics of pigment yellow 101: fluorescence, excited-state intramolecular proton transfer, and isomerization. *J Phys Chem A*, 111(43):10891–10898, 2007.
- [67] Yi. C. Lu, E. W. G. Diau, and H. Rau. Femtosecond fluorescence dynamics of rotation-restricted azobenzenophanes: new evidence on the mechanism of trans \rightarrow cis photoisomerization of azobenzene. *J Phys Chem A*, 109(10):2090–2099, 2005.
- [68] G. Mayer and A. Heckel. Biologically active molecules with a "light switch". *Angew Chem Int Ed Engl*, 45(30):4900–4921, 2006.
- [69] A. D. McNaught and A. Wilkinson., editors. *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 2 edition, 1997.
- [70] A. M. Müller, S. Lochbrunner, W. E. Schmid, and W. Fuß. Low-temperature photochemistry of previtamin d: A hula-twist isomerization of a triene. *Angew Chem Int Ed Engl*, 37(4):505–507, 1998.
- [71] H. Mustroph. Ein modifiziertes Inkrementsystem zur Berechnung der Absorptionsmaxima mehrfach substituierter Azobenzene. *Journal für praktische Chemie*, 329:157–161, 1987.
- [72] H. Mustroph and J. Epperlein. Empirische, an Azobenzenen gewonnene Absorptionsinkremente und ihre Beziehung zu Reaktivitätskonstanten, spektroskopischen Substituentenkonstanten und Ionisierungspotentialen. *Journal für praktische Chemie*, 322:49–54, 1980.
- [73] H. Mustroph and J. Epperlein. Quantitative Beschreibung der Absorptionsmaxima mehrfach substituierter Azobenzene mit einem Inkrementsystem. *Journal für praktische Chemie*, 323:755–775, 1981.
- [74] T. Nägele, R. Hoche, W. Zinth, and J. Wachtveitl. Femtosecond photoisomerization of cis-azobenzene. *Chem Phys Letters*, 272(5-6):489–495, 1997.
- [75] C. Nagura, A. Suda, H. Kawano, M. Obara, and K. Midorikawa. Generation and characterization of ultrafast white-light continuum in condensed media. *Appl Opt*, 41(18):3735–3742, 2002.
- [76] P. H. Nguyen, Y. Mu, and G. Stock. Structure and energy landscape of a photoswitchable peptide: a replica exchange molecular dynamics study. *Proteins*, 60(3):485–494, 2005.
- [77] N. Nishimura, T. Sueyoshi, H. Yamanaka, E. Imai, S. Yamamoto, and S. Hasegawa. Thermal cis-to-trans isomerization of substituted azobenzenes ii. substituent and solvent effects. *Bull Chem Soc Jpn*, 49(5):1381–1387, 1976.
- [78] A. Noble. III. Zur Geschichte des Azobenzols und des Benzidins. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, 98(2):253–256, 1856.
- [79] J. Otsuki, K. Suwa, K.K. Sarker, and C. Sinha. Photoisomerization and thermal isomerization of arylazoimidazoles. *J Phys Chem A*, 111(8):1403–1409, 2007.

- [80] S. Park, T. E. Klein, and V. S. Pande. Folding and misfolding of the collagen triple helix: Markov analysis of molecular dynamics simulations. *Biophys J*, 93:4108–4115, 2007.
- [81] K. J. Payne and A. Veis. Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: Deconvolution of the amide I band for conformational studies. *Biopolymers*, 27(11):1749–1760, 1988.
- [82] A. V. Persikov, Y. Xu, and B. Brodsky. Equilibrium thermal transitions of collagen model peptides. *Protein Sci*, 13(4):893–902, 2004.
- [83] J. Plötner and A. Dreuw. Solid state fluorescence of pigment yellow 101 and derivatives: A conserved property of the individual molecules. *Phys Chem Chem Phys*, 8(10):1197–1204, 2006.
- [84] J. Plötner and A. Dreuw. Pigment yellow 101: A showcase for photo-initiated processes in medium-sized molecules. *Chem Phys*, 347(1-3):472–482, 2008.
- [85] B. Priewisch. *Photoschaltbare Aminosäuren - Synthese, photochrome Eigenschaften und Einbau in peptidische Grb2-SH2 Antagonisten*. PhD thesis, Technische Universität Berlin, 2006.
- [86] S. S. Raman, R. Parthasarathi, V. Subramanian, and T. Ramasami. Role of length-dependent stability of collagen-like peptides. *J Phys Chem B*, 112(5):1533–1539, 2008.
- [87] H. Rau. Further evidence for rotation in the $\pi\pi^*$ and inversion in the $n\pi^*$ photoisomerization of azobenzenes. *J Photochem*, 26:221–225, 1984.
- [88] H. Rau, G. Greiner, G. Gauglitz, and H. Meier. Photochemical quantum yields in the $A (+h\nu) \rightleftharpoons B (+h\nu, \delta)$ system when only the spectrum of A is known. *J Phys Chem*, 94(17):6523–6524, 1990.
- [89] S. Rehm, M. O. Lenz, S. Mensch, H. Schwalbe, and J. Wachtveitl. Ultrafast spectroscopy of a photoswitchable 30-amino acid de novo synthesized peptide. *Chem Phys*, 323:28–35, 2006.
- [90] M. Rehn and T. Pihlajaniemi. Type xv and xviii collagens, a new subgroup within the family of collagens. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 7(5):673 – 679, 1996.
- [91] C. Renner, R. Behrendt, S. Spörlein, J. Wachtveitl, and L. Moroder. Photomodulation of conformational states. i. mono- and bicyclic peptides with (4-amino)phenylazobenzoic acid as backbone constituent. *Biopolymers*, 54(7):489–500, 2000.
- [92] C. Renner and L. Moroder. Azobenzene as conformational switch in model peptides. *ChemBiochem*, 7(6):868–878, 2006.
- [93] E. Riedle, M. Beutter, S. Lochbrunner, J. Piel, S. Schenkl, S. Spörlein, and W. Zinth. Generation of 10 to 50 fs pulses tunable through all of the visible and the NIR. *Appl Opt Phys B-Lasers And Optics*, 71:457–465, 2000.
- [94] H. Satzger. *Untersuchung initialer Schritte der Peptidfaltung mit Ultrakurzzeitspektroskopie*. PhD thesis, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2004.
- [95] H. Satzger, C. Root, and M. Braun. Excited-state dynamics of trans- and cis-azobenzene after UV excitation in the $\pi\pi^*$ band. *J Phys Chem A*, 108(30):6265–6271, 2004.
- [96] H. Satzger, S. Spörlein, C. Root, J. Wachtveitl, W. Zinth, and P. Gilch. Fluorescence spectra of trans- and cis-azobenzene - emission from the franck-condon state. *Chem Phys Letters*, 372(1-2):216–223, 2003.

- [97] T. Schultz, J. Quenneville, B. Levine, A. Toniolo, T. J. Martínez, S. Lochbrunner, M. Schmitt, J. P. Shaffer, M. Z. Zgierski, and A. Stolow. Mechanism and dynamics of azobenzene photoisomerization. *J Am Chem Soc*, 125(27):8098–8099, 2003.
- [98] M. Schumacher, K. Mizuno, and H. P. Bächinger. The crystal structure of the collagen-like polypeptide (glycyl-4(R)-hydroxyprolyl-4(R)-hydroxyprolyl)₉ at 1.55 Å resolution shows up-puckering of the proline ring in the xaa position. *J Biol Chem*, 280(21):20397–20403, 2005.
- [99] N. Siampiringue, G. Guyot, S. Monti, and P. Bortolus. The cis → trans photoisomerization of azobenzene: an experimental re-examination. *J Photochem*, 37(1):185–188, 1987.
- [100] S. Spörlein. *Femtosekunden-Spektroskopie schnellster Strukturänderungen in Peptid-Chromophor-Komplexen*. PhD thesis, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2001.
- [101] S. Spörlein, H. Carstens, H. Satzger, C. Renner, R. Behrendt, L. Moroder, P. Tavan, W. Zinth, and J. Wachtveitl. Ultrafast spectroscopy reveals subnanosecond peptide conformational dynamics and validates molecular dynamics simulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(12):7998–8002, 2002.
- [102] O. Srinivas, N. Mitra, A. Surolia, and N. Jayaraman. Photoswitchable cluster glycosides as tools to probe carbohydrate-protein interactions: synthesis and lectin-binding studies of azobenzene containing multivalent sugar ligands. *Glycobiology*, 15(9):861–873, 2005.
- [103] T. Stafforst and D. Hilvert. Kinetic characterization of spiropyranes in aqueous media. *Chem Commun*, pages 287–288, 2008.
- [104] W. Steinle and K. Rück-Braun. Synthesis and characterization of novel bifunctional hemithioindigo chromophores. *Org Lett*, 5(2):141–144, 2003.
- [105] S. J. Strickler and Robert A. Berg. Relationship between absorption intensity and fluorescence lifetime of molecules. *J Chem Phys*, 37(4):814–822, 1962.
- [106] E. B. Treacy. Optical pulse compression with diffraction gratings. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, QE 5(9):454–458, 1969.
- [107] J. Wachtveitl, T. Nägele, B. Puell, W. Zinth, M. Krüger, S. Rudolph-Böhner, D. Oesterhelt, and L. Moroder. Ultrafast photoisomerization of azobenzene compounds. *J Photochem and Photobiology A: Chemistry*, 105(2-3):283–288, 1997.
- [108] J. Wachtveitl, S. Spörlein, H. Satzger, B. Fonrobert, C. Renner, R. Behrendt, D. Oesterhelt, L. Moroder, and W. Zinth. Ultrafast conformational dynamics in cyclic azobenzene peptides of increased flexibility. *Biophys J*, 86(4):2350–2362, 2004.
- [109] W. J. Wedemeyer, E. Welker, and H. A. Scheraga. Proline cis-trans isomerization and protein folding. *Biochem*, 41(50):14637–14644, 2002.
- [110] Y. Xu, M. Bhate, and B. Brodsky. Characterization of the nucleation step and folding of a collagen triple-helix peptide. *Biochem*, 41(25):8143–8151, 2002.
- [111] Y. Xu, T. Hyde, X. Wang, M. Bhate, B. Brodsky, and J. Baum. NMR and CD spectroscopy show that imino acid restriction of the unfolded state leads to efficient folding. *Biochem*, 42(29):8696–8703, 2003.
- [112] M. Yamada, M. Kondo, J. I. Mamiya, Y. Yu, M. Kinoshita, C. J. Barrett, and T. Ikeda. Photomobile polymer materials: towards light-driven plastic motors. *Angew Chem Int Ed Engl*, 47(27):4986–4988, 2008.

- [113] S. Yamamoto, N. Nishimura, and S. Hasegawa. Steric effects in azo compounds. the electric dipole moments and the absorption spectra of azobenzene derivatives. *Bull Chem Soc Jpn*, 44(8):2018–2025, 1971.
- [114] A. V. Zemskov, G. N. Rodionova, Tuchin Yu. g., and V. V. Karpov. IR spectra and structure of some azo dyes - p-azobenzene derivatives - in various aggregate states. *J Appl Spec*, 49:1020–1024, 1988.
- [115] G. Zimmerman, L. Y. Chow, and U. J. Paik. The photochemical isomerization of azobenzene. *J Am Chem Soc*, 80(14):3528–3531, 1958.

Publikationen und Präsentationen

• *Publikationen*

1. a) Dreuw, A., Plötner, J., Lorenz, L., Wachtveitl, J., Djahan, J.E., Metz, T., Bolte, M. and Schmidt, M.U., (2005) Molecular Mechanism of the Solid State Fluorescence Behaviour of the Organic Pigment Yellow 101 and Derivates *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 40, 7783-7786
b) Dreuw, A., Plötner, J., Lorenz, L., Wachtveitl, J., Djahan, J.E., Metz, T., Bolte, M. and Schmidt, M.U., (2005) Molekularer Mechanismus der Festkörperfluoreszenz des organischen Pigments Yellow und seiner Derivate *Angew. Chem.*, 117, 7961-7964
2. Lorenz L., Plötner J., Matylitsky V., Dreuw A. and Wachtveitl J., (2007) Ultrafast photoinduced dynamics of Pigment Yellow 101: fluorescence, excited state intramolecular proton transfer and isomerization *J. Phys. Chem. A*, 111, 10891-10898
3. Staudt, H., Köhler, T., Lorenz, L., Neumann, K., Verhoefen, M.-K., Wachtveitl, J., (2008) Time-resolved Spectroscopy on Pigment Yellow 101 in Solid State, *Chem. Phys.*, 347, 462-471

• *Publizierte Konferenzbeiträge*

1. Light-switchable folding/unfolding of the collagen triple helix with azobenzene-containing model peptides, Kusebauch, U., Lorenz, L., Cadamuro, S.A., et al., *Biopolymers* (2007), 88, 4 (Special Issue: Sp. Iss. SI), 532
2. Lorenz, L., Neumann, K., Kusebauch, U., Moroder, L. and Wachtveitl, J., (2009) Photodynamics of Collagen Model Peptides: Towards the monitoring of folding and unfolding of tertiary structures in real time, *Ultrafast Phenomena XVI*, (E. Riedle, R. Schoenlein eds.), Springer, Berlin/ Heidelberg/ New York (accepted)

• *Posterbeiträge*

1. Photodynamics of Collagen Model Peptides: Towards the monitoring of folding and unfolding of tertiary structures in real time, Lorenz, L., Neumann, K., Kusebauch, U., Moroder, L. and Wachtveitl, J., XVI International Conference on Ultrafast Phenomena, 9.-13. Juni, 2008, Stresa, Italy
2. Azobenzene mediated photomodulation of a collagen triple helix monitored by IR spectroscopy, Lorenz L, Kusebauch U, Wachtveitl J and Moroder L, 30th European Peptide Symposium (30EPS), 31. August - 5. September 2008, Helsinki, Finland

• *Vorträge*

1. Molecular mechanisms of fluorescence quenching of organic pigments, Lorenz L., Matylitsky V, Neumann K and Wachtveitl J, AMOP-Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, 13.-17. März, 2006, JWG-Universität Frankfurt Main

Danksagung

- *Meinem Chef*

Prof. Wachtveitl danke ich für das interessante Projekt und die Unterstützung, sowie für viele motivierende Diskussionen und die großen Freiräume für selbständiges Arbeiten.

- *Den Kooperationen*

Prof. Rück-Braun und Prof. Moroder danke ich für die Kooperation im Azobenzolschalter- bzw. Kollagenprojekt. Für die Proben, in denen ganz offensichtlich viel Doktorandenblut und -herz steckt, sowie für die fruchtbaren Diskussionen über die experimentellen Ergebnisse bedanke ich mich ganz herzlich.

Ebenso gilt mein Dank Prof. Dreuw und Jürgen Plötner, mit deren Hilfe es tatsächlich gelungen ist, viele der experimentellen Ergebnisse des Pigment Yellow Projekts zu verstehen.

- *Den Arbeitsgruppen*

Die enge Anbindung der Arbeitsgruppe Wachtveitl an die Gruppen von Prof. Stock, Prof. Dreuw, Prof. Hauser und Prof. Mäntele hat mir viele Möglichkeiten bereitgestellt, jedwede Frage mit dem richtigen Ansprechpartner zu erörtern. Vom guten Klima innerhalb der Gruppen und der steten Hilfsbereitschaft habe ich sehr profitiert.

- *Den einzelnen Mitgliedern*

Einige Namen dürfen nicht ungenannt bleiben. Karsten Neumann (KNeumann), Martin Lenz und Thomas Köhler haben mich in der damals noch sehr überschaubaren Arbeitsgruppe aufgenommen und dafür gesorgt, dass keine meiner Fragen unbeantwortet blieb.

Mirka Verhoefen hat mit mir zusammen die Frauenquote im Arbeitskreis deutlich erhöht und wir haben nach Kräften dafür gesorgt, dass diese neue Macht auch deutlich zu spüren ist. Heike Staudt, Nina Gildenhoff und Ute Förster danke ich für alle Fach- und Frauengespräche.

Victor Matylitsky, Sergiu Amarie und Lars Dworak sei ihr steter Einsatz an der sichtbaren Seite gedankt. Ihr habt viele meiner Messungen mit diversen Rüttel- und Schütteltricks gerettet.

Christian Weidemüller sei das Abfangen meiner Stimmungsschwankungen gedankt, sowie seine besänftigenden Worte, wenn das Praktikum für Mediziner mich in den Wahnsinn treiben wollte.

Carsten Krejtschi danke ich für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft, für die Automatisierung des Temperaturlaufs und für die Arbeit, die er in die Auswertung von Schmelzkurven investiert hat.

Dr. Rainer Hegger und Dr. Oliver Klein möchte ich für ihren Administratorenjob herzlich danken. Ohne eure Hilfe wären mutmaßlich sehr viele meiner Daten im Laufe meiner Doktorandenzeit verloren gewesen. Ihr habt Home, Bashrc und meine Quota gerettet.

- *Der Familie*

Meiner lieben Familie danke ich für die stete Unterstützung und für die Versuche, Verständnis für eine zehnjährige Ausbildung aufzubringen.

Liebe Eltern, ihr habt viel mitgemacht und es wird noch einiges mitzumachen geben, aber ich weiß ja, dass ihr das schafft. Ute, du bist und bleibst die beste große Schwester, die man sich wünschen kann.

- *Meinem Ehemann*

Rainer, Rainer, Rainer, wie soll ich deinen Beitrag in ein paar wenigen Zeilen würdigen? Du hast mich geschnappt und mich geheiratet, eine Familie mit mir gegründet und sagst (fast) immer das Richtige im richtigen Moment. Ohne dich wäre alles viel schwerer.

- *Weitere wichtige Personen*

Für die Zeit dieser Arbeit bedurfte es nicht all zu vieler Stützen, da die gewählten, die tonnen-schwere Last meiner unterschiedlichen Gemütsverfassungen zu tragen vermochten. Liebe Ellen,

dieser Absatz ist nur für dich. Ich werde deine unermüdliche Aufmunterung und Betreuung nie vergessen, ebenso wenig wie unsere rauschende Schussfahrt über das Wehr zwischen Weilburg und Runkel. Es ist nicht nur schön, sondern für mich unerlässlich, dass es dich gibt. Danke.

CURRICULUM VITAE

LISA LORENZ

ADRESSE

Lortzingring 11A
61118 Bad Vilbel
Tel.: 06101-9958791
Email: lorenz@theochem.uni-frankfurt.de

ZUR PERSON

geboren am 30. Januar 1979
in Bad Windsheim
verheiratet

AUSBILDUNG

- | | |
|---------------|--|
| 06/98 | Abitur am G.W.-Steller Gymnasium Bad Windsheim (Note 1,7) |
| 10/98 – 09/99 | Studium der Medizin an der FAU-Erlangen Nürnberg |
| 10/99 – 09/03 | Diplomstudium Chemie an der TU-Berlin (Note 1,2) |
| 12/03 – 07/04 | Diplomarbeit in Physikalischer Chemie an der TU-Berlin
Arbeitsgruppe Prof. Dr. P. Hildebrandt
Titel der Diplomarbeit:
<i>Schwingungsspektroskopische Untersuchung von selbstorganisierten Monoschichten aus bifunktionellen Thiolen</i> |
| 12/04 – 04/09 | Doktorand an der Goethe-Universität Frankfurt im Fachbereich Physik
Arbeitsgruppe Prof. Dr. J. Wachtveitl
Titel der Doktorarbeit:
<i>Schnelle Photodynamik von organischen Pigmenten und azobenzolbasierten Photoschaltern</i> |

LEHRAUFGABEN

Betreuung des Praktikums "Physik für Mediziner"

