



Dispergierte Fluoreszenzspektroskopie an Heteroaromaten und deren Cluster in der Gasphase

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Vorgelegt von

Ke Feng

aus Zhejiang

April 2009

Aus dem Institut für Physikalische Chemie I

Der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. K. Kleinermanns

Koreferent: PD. Dr. M. Schmitt

Tag der Mündlichen Prüfung: 14.07.2009

Die vorliegende Dissertation habe ich eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den 30.04.2009

Ke Feng

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand im Zeitraum Oktober 2005 bis April 2009 im Institut für Physikalische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Karl Kleinermanns.

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Karl Kleinermanns danke ich für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die Möglichkeit in seinem instrumentell hervorragend ausgestatteten Institut meine Dissertation anfertigen zu können. Besonders bedanken möchte ich mich bei ihm für das entgegengebrachte Vertrauen und die gegebene Freiheit zum selbstständigen Arbeiten.

Herrn PD. Dr. Michael Schmitt danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens wie auch für seine Unterstützung. Das wohltuende Interesse an meiner Arbeit und die damit verbundenen anregenden Diskussionen haben mir in vielfältiger Weise geholfen.

Dr. Thomas Häber möchte ich für die stete Diskussionsbereitschaft und insbesondere Anregungen rund um technische Fragen danken.

Dr. Kai Seefeld danke ich für das tolle Büroklima und die intensive Einarbeitung in Theorie und Praxis.

Matthias Busker danke ich für die vielen lustigen Stunden im Labor und seine Hilfe bei verschiedenen Messungen.

Gernot Engler und Andreas Funk danke ich für die Hilfe beim Kampf gegen Rechnungen.

Ich danke Klaus Kelbert und Dieter Marx für die Ideen, die perfekte Ausführung aller Arbeiten und die freundschaftliche Kooperation.

Meiner Bürokollege Michaela Braun danke ich für das heitere Büroklima und das kritische Korrekturlesen meiner Arbeit. Meinen Kollegen, Lars Biemann, Daniel Ogermann, Thorsten Wilke, Katharina Hunger, Thi Bao Chau und Christian Brand danke ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die interessanten Fragen, Diskussionen und Anregungen.

Bei allen meinen Arbeitskollegen, die hier nicht namentlich aufgeführt wurden, möchte ich mich herzlich für die außerordentlich freundschaftliche Atmosphäre bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie in China sowie meinen Freunden, die mir stets Rückhalt boten und immer an mich glaubten.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Fluoreszenz	8
2.1	Grundlagen der Laserinduzierten Fluoreszenz (LIF)	9
2.2	Dispergierte Fluoreszenzspektroskopie	11
3	Apparativer Aufbau	13
3.1	Einführung	13
3.2	Lasersysteme	15
3.2.1	Der Nd-YAG-Laser	15
3.2.2	Der Farbstofflaser	16
3.3	Molekularstrahlapparatur	17
3.3.1	Der Pumpenstand	17
3.3.2	Die Düseneinheit	17
3.4	Fluoreszenzdetektion	19
3.5	Kalibrierung des Gitters	20
4	Theorie zu den quantenchemischen Rechnungen	23
4.1	Schrödingergleichung	23
4.2	Die Born-Oppenheimer-Näherung	25

4.3	Das Hartree-Produkt	25
4.4	Das Hartree-Fock-Verfahren	27
4.5	Die Roothaan-Hartree-Fock-Gleichung	28
4.6	Dichtfunktionaltheorie	29
4.6.1	Das Theorem von Hohenberg und Kohn	30
4.6.2	Kohn-Sham-Gleichungen	31
4.7	Die Möller-Plesset-Störungstheorie	33
4.8	Coupled-Cluster-Verfahren	35
5	Tryptamin	36
5.1	Abstract	38
5.2	Introduction	38
5.3	Techniques	41
5.3.1	Experimental methods	41
5.3.2	Theoretical methods	43
5.4	Results	44
5.4.1	Theoretical results	44
5.4.2	Laser induced fluorescence spectra of tryptamine	49
5.4.3	Rotationally resolved spectra of the vibronic bands	51
5.5	Fluorescence emission spectra	55
5.5.1	Emission spectra through the electronic origins	55
5.5.2	Emission spectra through excited vibronic bands	59
5.6	Discussion	61
5.6.1	Systematics of the vibrations on the ethylamine backbone	61
5.7	Conclusions	63
5.8	Supplementary Materials	64
6	Tryptamin(H₂O)₁	71
6.1	Abstract	73

6.2	Introduction	73
6.3	Experimental and Theoretical Methods	74
6.4	Results and Discussion	76
6.5	Supplementary Materials	83
7	2-Aminopurin	85
7.1	Abstract	87
7.2	Introduction	87
7.3	Experimental section	90
7.4	Results	92
7.4.1	Laser induced fluorescence spectrum of 2-Aminopurine	92
7.4.2	Fluorescence emission spectra	93
7.4.3	Delayed ionization of 2-aminopurine	96
7.5	Discussion	97
8	Nichtveröffentliche Ergebnisse	100
8.1	1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol	100
8.1.1	Einführung	100
8.1.2	Experiment und theoretische Methoden	102
8.1.3	LIF-Spektrum des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol	103
8.1.4	Dispergiertes Fluoreszenzspektrum des 0^0_0 -Übergangs von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol	104
8.1.5	Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol	108
8.1.6	Diskussion	112
8.2	Weitere Systeme	113
8.2.1	Trp-Gly-OMe	113
8.2.2	2-Aminopurin-Wasser-Cluster	113
8.2.3	Vibronische Banden von 2,3-Dimethylindol	114

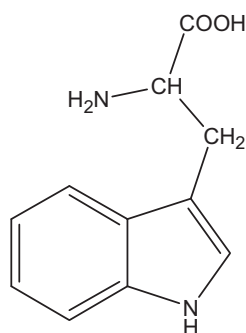
8.2.4	Ac-Val-Phe-OMe	114
8.2.5	Benzol-Acetylen-Cluster	114
8.2.6	3-Hydroxyflavon	115
9	Zusammenfassung	116
	Literaturverzeichnis	120
	Abbildungsverzeichnis	128
	Tabellenverzeichnis	132
	Liste der verwendeten Abkürzungen	135

Kapitel 1

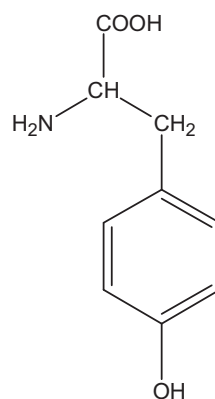
Einleitung

Tryptamin und Tryptamin(H₂O)₁

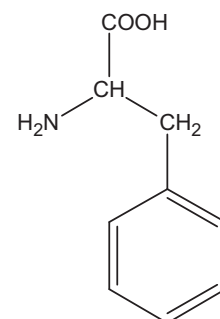
Proteine gehören zu den häufigsten und vielfältigsten Grundbausteinen aller Zellen. Es gibt z.B. im menschlichen Körper schon mehr als zehntausend verschiedene Proteine, die unterschiedliche Funktionen übernehmen. Aufgrund der vielfältigen Funktionen der Proteine bei den verschiedensten Prozessen ist die intensive Erforschung der Proteine von zentralem Interesse. Die molekularen Untereinheiten der Proteine bilden 22 Aminosäuren, die aufgrund ihrer Unterschiede in Größe, Gestalt, Ladung und Fähigkeit, Wasserstoffbrücken zu bilden, für die dreidimensionale Struktur der Proteine verantwortlich sind. Die drei aromatischen Aminosäuren: Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin, die in der Abbildung 1.1 dargestellt sind, können im UV-Bereich Fluoreszenzstrahlung emittieren.



Tryptophan



Tyrosin



Phenylalanin

Abbildung 1.1: Die 2D-Strukturen der drei aromatischen Aminosäuren in Proteinen.

Von diesen drei Aminosäuren absorbiert Tryptophan im UV-Bereich am stärksten und besitzt die höchste Fluoreszenzquantenausbeute. Somit werden Tryptophan und Tryptophan-Analoga am häufigsten mittels Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Dabei sind schwache Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrückenbindungen und einfache Dispersionskräfte zwischen der Seitenkette und dem Indolchromophor, der in der Abbildung 1.2 dargestellt ist, von elementarer Bedeutung für das Verständnis der Faltung der entsprechenden Peptide. Sie bestimmen neben den klassischen chemischen (kovalenten oder ionischen) Bindungen die Struktur des Moleküls und auch die relative Anordnung von Molekülen zueinander.

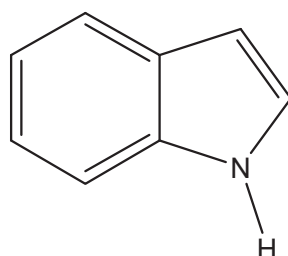


Abbildung 1.2: Die 2D-Struktur von Indol.

Die dispergierte Fluoreszenzspektroskopie ist im Vergleich zu den anderen Technologien ein wichtiges Hilfsmittel für die Untersuchung von Schwingungsübergängen im sehr niederfrequenten Bereich (Terahertz Bereich), um Erkenntnisse über die Wechselwirkungen zwischen der Seitenkette und dem Indolchromophor zu erlangen. Als ein Tryptophan-Analog werden die niederfrequenten Schwingungen von Tryptamin und dem Wasserclustersystem Tryptamin(H_2O)₁ im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Mit Hilfe der Addition eines einzelnen Wassermoleküls an Tryptamin wird die Verhaltensänderung bei Wechselwirkung mit einer Umgebung studiert.

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

Die Interpretation von Tryptophan- bzw. Tryptophan Analoga-Fluoreszenzspektren wird jedoch durch die Überlagerung der Absorption zweier elektronisch angeregter Zustände, 1L_b und 1L_a , erschwert. Dabei ist der Indolchromophor aufgrund des aromatischen π -Systems für die Absorptions- und photochemischen Eigenschaften verantwortlich. Durch eine selektive Methylierung des Indol-Chromophors an Positionen 2 und 3 wird der 1L_a -Zustand weiter als der 1L_b -Zustand rotverschoben, so dass diese beiden elektronischen Zustände noch näher zusammen liegen. Zur genaueren Untersuchung dieser elektronischen Eigenschaft wird in dieser Arbeit das Fluoreszenzanregungsspektrum und die dispergierten Fluoreszenzspektren des Indol-Derivates, 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol, untersucht.

2-Aminopurin

Neben Proteinen tragen RNA und DNA wichtige biologische Funktionen. Nucleobasen sind ein zentraler Bestandteil von Nucleotiden, die Monomere Einheiten von RNA und DNA sind. Um die besondere Photostabilität der DNA-Bausteine gegen UV-Strahlung zu verstehen, wird in dieser Arbeit 2-Aminopurin als Adenin-Isomer in der Gasphase untersucht. Ein großer Vorteil der dispergierten Fluoreszenzspektroskopie gegenüber anderen Flüssigphase Methoden ist, dass die dispergierte Fluoreszenzspektroskopie auf die Untersuchung isolierter Moleküle bei tiefen Temperaturen zielt, so dass die Quantenzustände eines Moleküls ohne jegliche äußere Einflüsse genau studiert werden können.

Kapitel 2

Fluoreszenz

Die beiden folgenden laserspektroskopischen Messmethoden werden im Rahmen dieser Arbeit in Kombination mit der Molekularstrahltechnik angewendet, die anschließend näher beschrieben werden:

- Laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie
(Fluoreszenzanregungsspektroskopie)
- Dispergierte Fluoreszenzspektroskopie
(SVLF(single vibronic level fluorescence))

Die laserinduzierten und dispergierten Fluoreszenzspektren der Substanzen werden gemessen, um die Schwingungsfrequenzen sowohl des elektronischen Grund- als auch des elektronisch angeregten Zustands zu bestimmen. Durch die Kombination der Ergebnisse aus beiden Experimenten werden umfangreiche Aussagen über die untersuchten Moleküle ermöglicht.

2.1 Grundlagen der Laserinduzierten Fluoreszenz (LIF)

Durch Absorption von Licht werden die Moleküle aus einem Niveau des elektronischen Grundzustandes in energetisch höhere Zustände angeregt. Im Molekularstrahl sind durch adiabatische Expansion in Düsenstrahlen lediglich der Vibrationsgrundzustand und die untersten Rotationszustände besetzt, aus denen eine diskrete Anregung vibronischer Zustände erfolgt. Anschließend werden die Signale mittels eines Monochromators durch spektral zerlegte Fluoreszenz detektiert.

Bei der Fluoreszenzanregungsspektroskopie wird die Wellenlänge des Anregungslasers durchgestimmt. Die aus dem angeregten Zustand emittierte Gesamtfluoreszenz wird unabhängig von der Wellenlänge aufgenommen. Ein Fluoreszenzanregungsspektrum ist das Analogon eines elektronischen Absorptionsspektrums.

Das Verfahren der Fluoreszenzanregungsspektroskopie ist in Abbildung 2.1 skizziert. Das spektral zerlegt aufgenommene Fluoreszenzlicht wird durch die Kreise veranschaulicht.

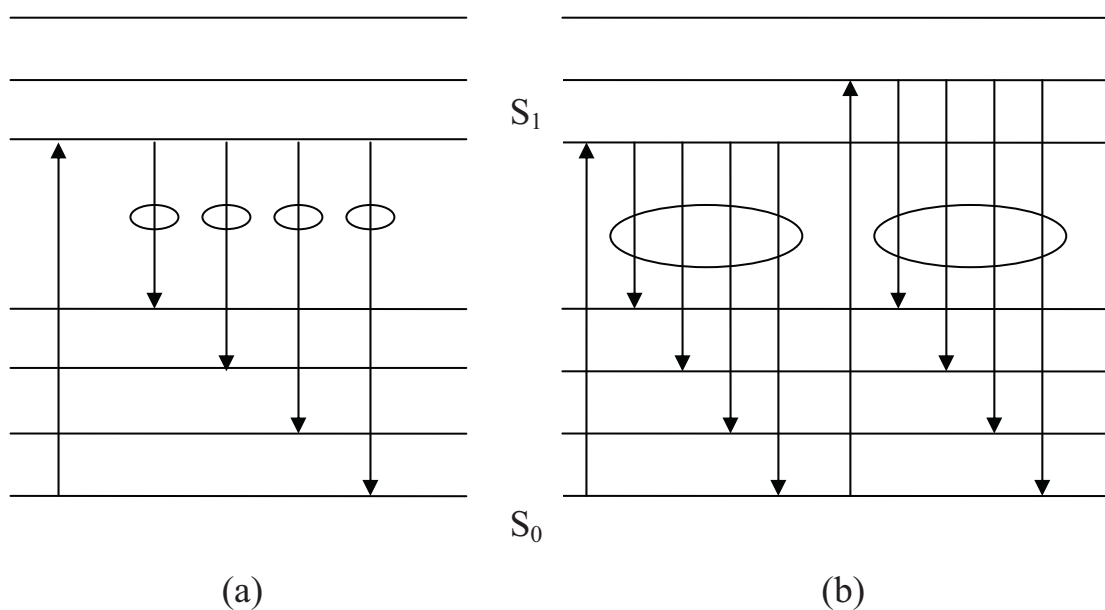


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der Fluoreszenzemissions- (a) und der Fluoreszenzabsorptionsspektroskopie (b).

Wie im folgenden Jablonski-Diagramm (Abbildung 2.2) zusammenfassend und übersichtlich dargestellt, können Moleküle durch Einstrahlung von Licht in energetisch höhere Zustände angeregt werden. Wenn zur Anregung schmalbandige Laser mit Abkühlung im Düsenstrahl benutzt werden, kann man die von den absorbierenden Molekülen emittierte Fluoreszenz als laserinduzierte Fluoreszenz (LIF) detektieren. Ein Fluoreszenzanregungsspektrum wird durch die detektierte Fluoreszenz in Abhängigkeit von der Anregungslaserfrequenz geliefert.

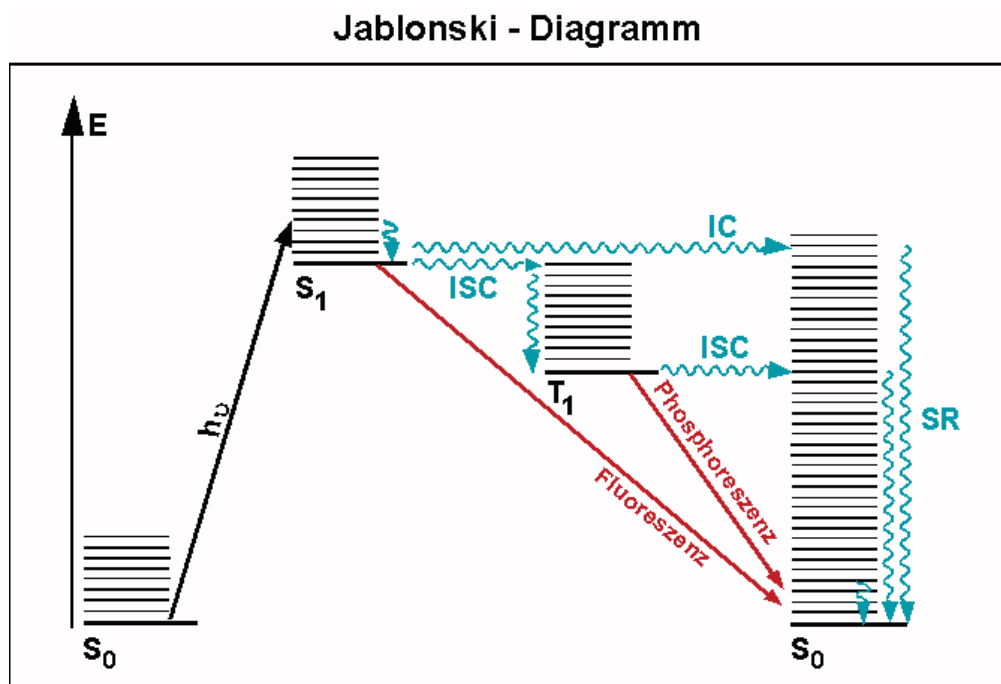


Abbildung 2.2: Jablonski-Diagramm photochemischer Prozesse. [1]

2.2 Dispergierte Fluoreszenzspektroskopie

Im Gegensatz zur Fluoreszenzanregungsspektroskopie wird die Laserwellenlänge bei der dispergierten Fluoreszenzspektroskopie auf einen gezielt ausgesuchten Übergang abgestimmt. Die Schwingungsfrequenzen des elektronischen Grundzustands können ermittelt werden, indem die Fluoreszenz einer selektiv angeregten vibronischen Überganges spektral aufgelöst wird. (Dies wird durch die Kreise in Abbildung 2.1 a veranschaulicht.)

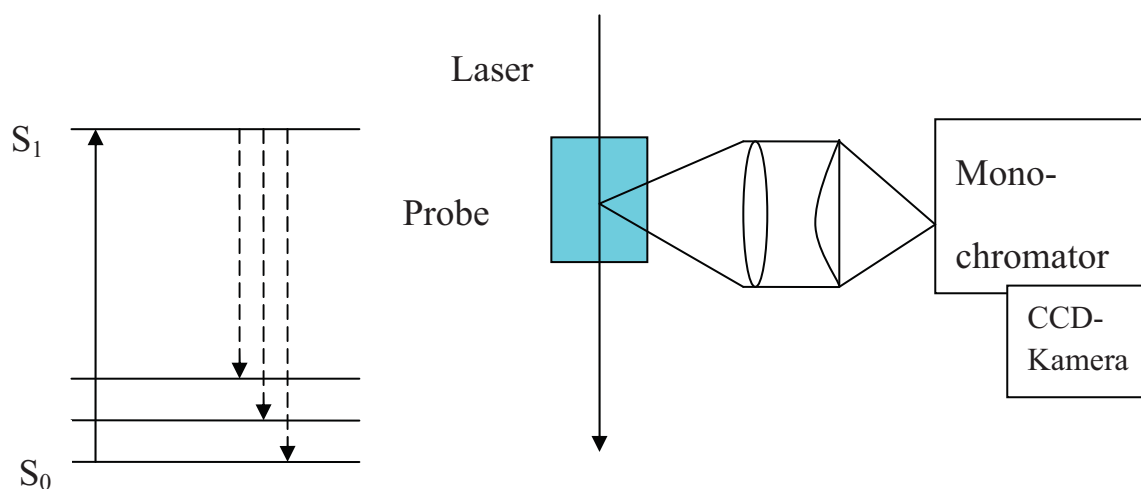


Abbildung 2.3: Schema zur dispergierten Fluoreszenzspektroskopie.

Die Intensität der einzelnen Schwingungs- und Rotationsübergänge hängt von den Franck-Condon Faktoren ab. Durch Vergleich mit berechneten Schwingungsfrequenzen im elektronischen Grundzustand ermöglicht eine Zuordnung der Schwingungsbewegung. Nicht nur die Schwingungsfrequenzen im elektronisch Grundzustand, sondern auch die Intensitätsverhältnisse der Schwingungen in Bezug auf die unterschiedliche Franck-Condon Integrale können durch Pumpen verschiedener Übergänge des elektronisch angeregten Zustands erfasst werden.

Mit Hilfe eines Monochromators wird das entstehende Fluoreszenzlicht spektral zerlegt und mit einer CCD-Kamera in einem bestimmten Wellenlängenbereich aufgenommen.

Kapitel 3

Apparativer Aufbau

3.1 Einführung

Die Apparatur, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet ist, besteht aus einem Lasersystem, einer Molekularstrahlapparatur, einem Fluoreszenzdetektionssystem und einem Messablaufsteuerungs- sowie Datenaufnahmesystem.

Die in dieser Arbeit untersuchten Moleküle wurden über die Pulsdüse in die evakuierte Hauptkammer expandiert und mit einem Laserstrahl untersucht. Mit einem Farbstofflaser, der wiederum mit einem starken Pumplaser betrieben wird, erfolgt elektronische Anregung der zu untersuchenden Moleküle. Die Kammer ist mit einer Öldiffusionspumpe verbunden, wobei ein Vorvakuum durch eine Vorpumpe (Drehschieberpumpe) erzeugt wird. Die Messung des Drucks erfolgt mittels eines Thermovac (bis $1.0 \cdot 10^{-3}$ mbar) und eines Ionivac ($< 1.0 \cdot 10^{-3}$ mbar) Messkopfes. Der erreichbare Enddruck in der Hauptkammer bei laufender Pulsdüse beträgt ungefähr $5 \cdot 10^{-4}$ mbar. Über eine Detektionsoptik wird die Fluoreszenz gesammelt und mit Hilfe eines Computers werden die Messdaten aufgenommen.

Die verwendete Apparatur und deren Bestandteile werden in Abbildung 3.1 vorgestellt. Der Pulsdüsenkopf sowie der weitere Bereich der Probenzuführung werden während der Messung geheizt. Zu der gesamten Apparatur gehören noch die zeitliche Steuerungselektronik und die Messdatenerfassung.

Die grundsätzliche Messweise funktioniert wie folgt: Der Analyselaser wird von einer Seite eingestrahlt, um die zur Pulsdüse geleiteten Substanzen in den angeregten

Zustand zu versetzen. Die emittierte Fluoreszenz wird jedoch in alle Raumrichtungen abgestrahlt. Damit möglichst wenig Streulicht in die Messzelle gelangt, detektiert der Photomultiplier die Fluoreszenz senkrecht zur ursprünglichen Einstrahlungsrichtung. Ein Dunkelbildabzug wird bei den Emissionsspektren zunächst gemessen, damit man den Dunkelstrom der Kamera und Einflüsse durch das Umgebungslicht eliminieren kann.

Abbildung 3.1 zeigt den schematischen Versuchsaufbau. Im Folgenden soll auf einige Teile dieses Aufbaus näher eingegangen werden.

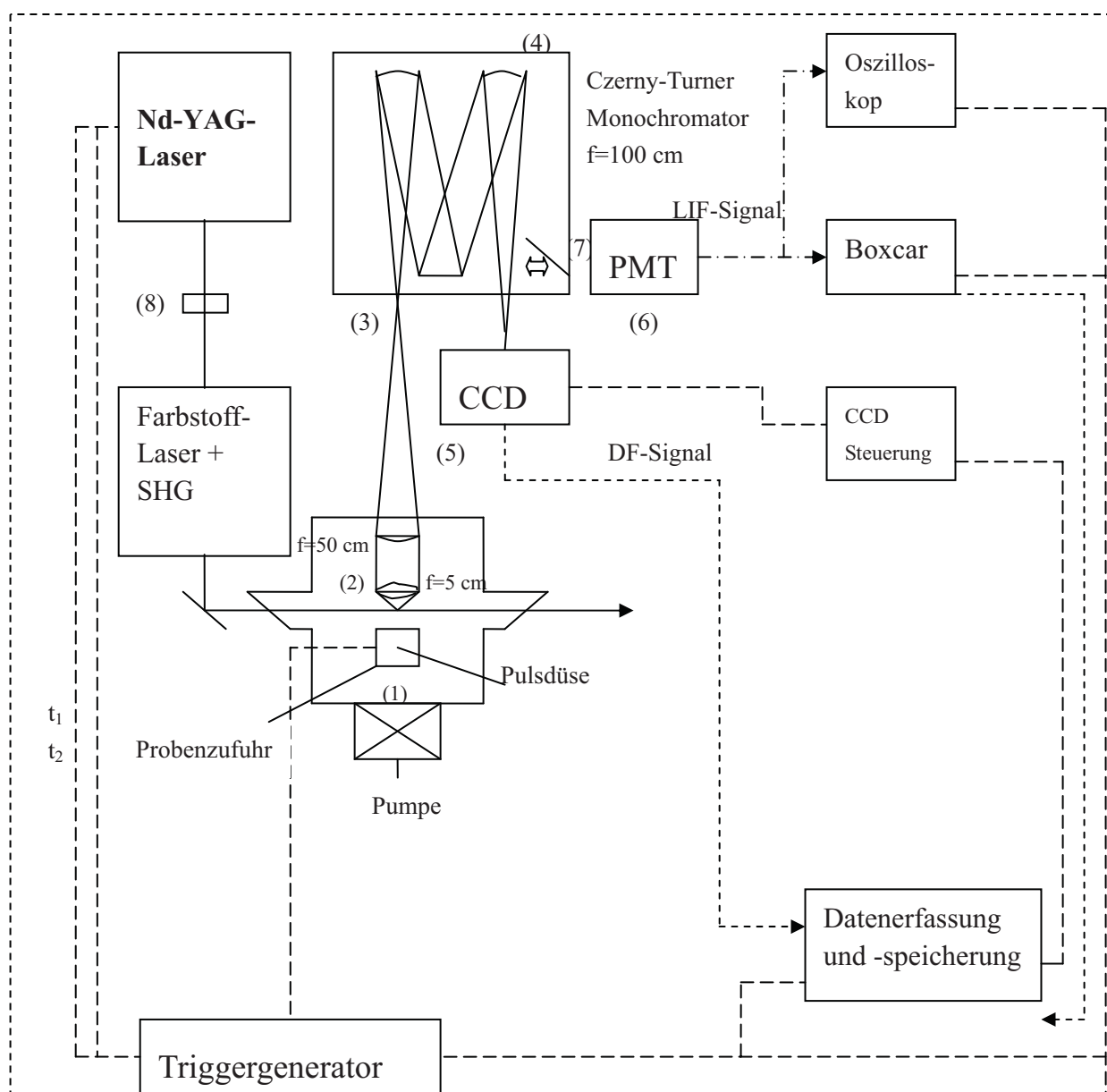


Abbildung 3.1: Blockbild der Apparatur zur Aufnahme der LIF- und DF-Spektren.

- (1): Fluoreszenzlicht
- (2): zwei Linsen
- (3): Eintrittsspalte
- (4): Einfachmonochromator
- (5): CCD Kamera
- (6): Photomultiplier
- (7): Spiegel
- (8): Teleskop
- t_1 : Blitzlampe; t_2 : Q-Switch

3.2 Lasersysteme

Im Rahmen dieser Arbeit wird ein gepulster Laser verwendet, der sich durch eine hohe Leistung auszeichnet, die benötigt wird, um nichtlinear-optische Experimente durchzuführen. Dieses System besteht aus einem Farbstofflaser und einem gepulsten Nd:YAG-Laser, der den Farbstoff optisch pumpt. Mit einem Kaliumdiphosphatkristall (KDP; Lambda Physik FL 30) werden die resultierenden Wellenlängen des Farbstofflasers frequenzverdoppelt, um die Moleküle auf einen elektronisch angeregten Zustand anzuheben.

3.2.1 Der Nd-YAG-Laser

Die Laserpulse werden von einem gepulsten Vierniveau-Festkörperlaser, Nd-YAG-Laser, erzeugt. Aus einem zu etwa 1% mit Nd^{3+} dotierten Yttrium-Aluminat-Garnet (kurz: YAG; $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$) wird das aktive Medium zusammengesetzt, wobei man für das optische Pumpen Blitzlampen verwendet. Der intensivste Laserübergang (Fundamentale) des Nd:YAG-Laser liegt bei 1064 nm und somit im nahen infraroten Bereich. Eine Frequenzverdopplung, -verdreifachung oder -vervierfachung kann mit Hilfe nichtlinearer Optik an geeigneten, anisotropen

Kristallen durchgeführt werden. Die daraus resultierenden Wellenlängen von 532 nm, 355 nm und 266 nm liegen jeweils im grünen, sichtbaren bzw. im ultravioletten Spektralbereich. Das Strahlvolumen wird mit Hilfe eines Teleskops vergrößert.

3.2.2 Der Farbstofflaser

Ein Farbstofflaser wird eingesetzt, damit die Wellenlänge für die experimentellen Untersuchungen durchgestimmt werden kann. Das aktive Medium des Farbstofflasers besteht aus einem gelösten, organischen Farbstoff. Durch ein Gitter wird die gewünschte Laserwellenlänge herausselektiert. Die mit dem Farbstofflaser erreichbaren Wellenlängen liegen stets oberhalb der Pumpwellenlänge, da die Fluoreszenz im Hinblick auf die Absorption immer rotverschoben ist. Bei einer Pumpwellenlänge von 532 nm ist der Wellenlängenbereich ab ca. 540 nm nutzbar. Der Spektralbereich kann durch Frequenzverdopplung, -verdreifachung, -mischung oder auch Ramanverschiebung der Farbstofflaserwellenlänge im Bereich von ca. 200 nm (UV) - 2500 nm (IR) erfasst werden.

Der Farbstoff wird in Strömungskörpern zirkuliert, um zu verhindern, dass sich die Farbstofflösungen wegen der hohen Energiedichte zu stark aufheizen und sich somit zersetzen oder sogar in die Küvettenwände einbrennen. Durch die Strömung kann die entstehende Wärme abgeführt werden. Ein weiterer Vorteil von Strömungskörpern besteht in der kurzen Verweilzeit der Farbstoffmoleküle im Bereich des Pumplaserstrahls, die unterhalb der inversen Laserpulsfrequenz liegt. Dies verhindert weitgehend die bereits oben beschriebene Akkumulation von Triplettzuständen.

3.3 Molekularstrahlapparatur

3.3.1 Der Pumpenstand

Um einen kalten Molekularstrahl zu verwirklichen, wird in diesem Experiment das Vakuum von einer Öldiffusionspumpe mit einer Drehschieberpumpe als Vorpumpe erzeugt und liegt typischerweise im Bereich von wenigen 10^{-5} mbar.

3.3.2 Die Düseneinheit

Um die erforderlichen Temperaturen problemlos über die Heizwiderstände zu erreichen, befindet sich in der Quellkammer die Pulsdüseneinheit, die einen verstellbaren Düsenkopf mit einem Düsenlochdurchmesser von 0.5 mm oder 1.0 mm besitzt. Damit die Pulsdüse nicht durch auskondensierendes Material verstopft wird, muss der gesamte weitere Bereich der Probenzuführung bis zur Pulsdüse ebenfalls geheizt werden. Die Halterung zum Einspannen der Düse wurde zu diesem Zweck verbreitert, so dass auf Vorder- und Rückseite ebenfalls je ein Heizwiderstand angeschraubt werden kann (siehe Abbildung 4.2). Im Vakuum entstehen keine Wärmeverluste durch Konvektion. Aus diesem Grund ist die Wärmeleitung auf die Kappe der Pulsdüse ausreichend. Während der Messung wird die Düsenteperatur ca. 20 °C höher eingestellt als die Ofentemperatur, damit die verdampfte Substanz nicht aufgrund einer Abkühlung wieder in der Düse sublimiert und somit die Düse verstopft. Die Ofen- (T_o) bzw. Düsenteperaturen (T_D) betrugen für Tryptamin und Tryptamin(H_2O)₁ $T_o = 185^\circ C$, $T_D = 200^\circ C$ und für 2-Aminopurin $T_o = 230^\circ C$, $T_D =$

250°C. Die Endtemperatur wurde nach 30 bis 60 Minuten erreicht. Mit der Pulsdüse (Öffnungszeit 350 µs) wird Helium unter einem Stagnationsdruck von 2 bar gepulst (Repetitionsrate 10 Hz) ins Vakuum expandiert. Bei laufender Pulsdüse beträgt der Druck ungefähr $5 \cdot 10^{-4}$ mbar.

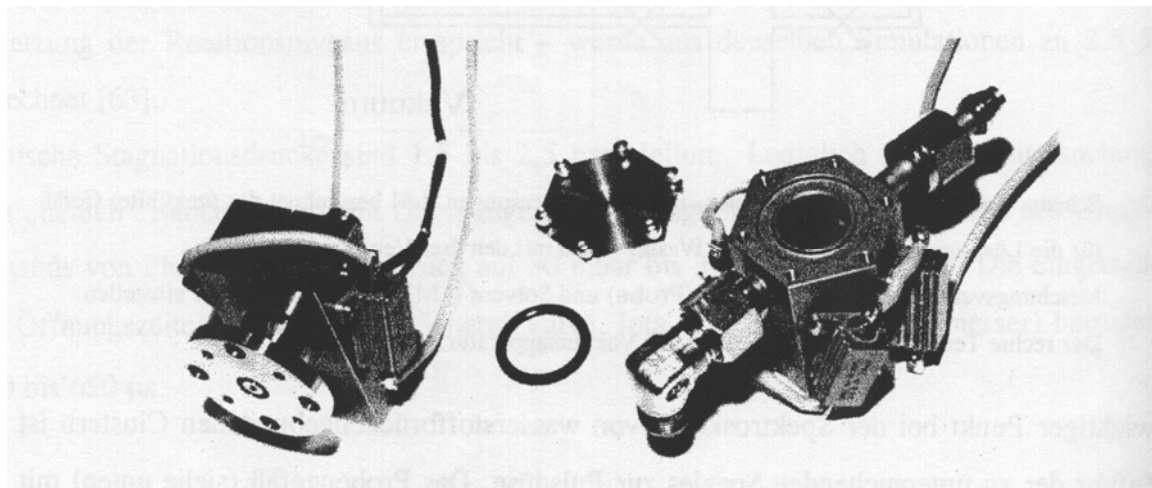


Abbildung 3.2: Bild der heizbaren Pulsdüse (links) und des Probengefäßes (rechts) mit angebauten Heizwiderständen. In der Mitte sind der Deckel, sowie der dazugehörige Dichtungsring zu sehen. [2]

Über einen XYZ-Justiertisch sind Düse und Edelstahlofen an einer Basisplatte montiert. Der Vorteil einer gepulsten Düse im Vergleich zu einer kontinuierlichen Düse liegt, wie in Kapitel 4.3. (Erzeugen gepulster Molekularstrahlen) erwähnt, in einem verminderten Gasfluss und somit geringen Substanzverbrauch. Dabei wurde eine elektromagnetisch betätigte Düse verwendet. Sie besteht aus einer Magnetspule, die sich in einer Fassung um den ferromagnetischen Kern befindet. Wenn kein Strom durch die Spule fließt, wird eine Feder gegen den Kern gedrückt und die Öffnung der Düse über ein vorne am Kern befindliches Dichtelement („Poppet“) verschließt. Die Düsenöffnung wird nur dann frei, wenn der Kern bei Stromfluss zurückgezogen wird. Die höchstmögliche Heiztemperatur ist durch die Verwendung von Viton-Dichtungen im Deckel des Probengefäßes und in der Pulsdüse beschränkt und liegt in unseren Experimenten bei ca. 250 °C.

Das Trägergas wird direkt aus der Druckstahlflasche über ein Reduzierventil mit dem 2 bar Helium durch die Düseneinheit zugeführt, womit die Substanz ins Vakuum

expandiert. Über die Temperatur des Probentopfes wird der Partialdruck der Moleküle kontrolliert.

Ein heizbares Probengefäß wurde konzipiert. Handelsübliche, hochbelastbare Widerstände [3] wurden als Heizelemente im Metallgehäuse eingerichtet, die für Oberflächentemperaturen bis zu 300 °C ausgelegt sind. Die Befestigung musste auf ebenen Seitenflächen erfolgen, damit ein guter Wärmeübergang auf das Probengefäß stattfinden kann. In den Experimenten dieser Arbeit wird ein sechseckiger Grundriss eingerichtet. Vier Heizwiderstände sind auf das Probengefäß montiert worden.

3.4 Fluoreszenzdetektion

Von einem Photomultiplier (THORN EMI 97890A) wird die Fluoreszenz des Moleküls bei der Fluoreszenzanregungsspektroskopie nach der Laseranregung detektiert. Das daraus entstehende Signal wird in den Boxcarintegrator eingelesen. Wie in Abbildung 3.1 der experimentelle Aufbau des Mess-Systems zeigt, erfolgt die Detektion im rechten Winkel zum eintretenden Lichtstrahl. Als Abbildungsoptik für das Fluoreszenzsignal wird ein Linsensystem, bestehend aus einer $f = 50$ mm Bikonvexlinse, deren Fokus im Spektroskopievolumen sitzt, und einer $f = 500$ mm Plankonvexlinse zum Abbilden auf den Photomultiplier verwendet. Die Linsen besitzen einen Durchmesser von 50 mm. Um Fluoreszenzlicht aus einem möglichst großen Raumwinkel zu sammeln, besitzt die erste Linse ($f = 50$ mm) ein großes Öffnungsverhältnis. Mittels eines Boxcarintegrators (Stanford Research SR 250) wird das verstärkte Fluoreszenzsignal innerhalb eines zeitlichen Tors von 150 ns gemittelt. Die Mittelung führt zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses.

Auf einem Digitaloszilloskop (LeCroy 9400) wird der zeitliche Verlauf des Fluoreszenzsignals während des Experiments sichtbar gemacht.

Bei der dispergierten Fluoreszenzspektroskopie wird die spektrale Zerlegung der Fluoreszenz erfordert. Das Fluoreszenzlicht (1) wird mit Hilfe zweier Linsen (2) auf

die Eintrittsspalte (3) des Einfachmonochromators (4) fokussiert. Mit Hilfe dieses Einfachmonochromators wird die chromatische Aufspaltung des emittierten Lichtes durchgeführt. Das transmittierte Licht wird dann mit einer CCD-Kamera mit Bildverstärker detektiert, die sich an der Austrittsöffnung befindet („Flame Star II“, CCD-chip: TH7863, THOMSON mit 286×384 pixel [horizontal $\times$ vertikal], Pixel-Fläche: $23\mu\text{m} \times 23\mu\text{m}$, Bildzone: 8.8×6.6 mm). Durch die CCD-Kamera wird das transmittierte Licht des Monochromators auf einer Fläche anstatt einer einzelnen Spektrallinie detektiert.

3.5 Kalibrierung des Gitters

Bevor die Spektren der einzelnen Systeme vorgestellt werden, erfolgt eine kurze Betrachtung der Kalibrierung des Gitters. Es wurde für jede Gitterposition einzeln eine Kalibrierung erstellt. In dieser Arbeit wurde im Bereich 286-312 nm im Abstand von einem Nanometer des Gitters kalibriert. Dazu wurden die Farbstoffe Pyrromethan (0.16g/l in EtOH) verwendet. In diesem Abschnitt werden die durchgeführten Kalibrationen der Anregungs-Emissions-Spektren beschrieben, mit denen erst eine quantitative Auswertung der Daten ermöglicht wird, um zuverlässige Werte für die Schwingungsfrequenzen des Grundzustands mittels dispergierter Fluoreszenz zu erhalten.

Wegen des größeren Streuquerschnitts wird Argon statt Helium als Trägergas verwendet. Zu diesem Zweck wird der Farbstofflaser (Fundamentalfrequenz) in Schritten von 0,4 nm für Messungen in erster Gitterordnung über den aufgenommenen CCD-Bereich gescannt. Die Verweilzeit auf einer Wellenlänge beträgt je nach Laserleistung zwischen 20 und 40 Sekunden. Auf den CCD-Chip passen 26 Kalibriermarken. Aus dem aufgenommenen CCD-Bild werden die den (Laser-) Wellenlängen entsprechenden Pixelpositionen ausgelesen. Eine lineare Regression (siehe Abbildung 3.3) ergab dann die Wellenlänge in Abhängigkeit von

der horizontalen Pixelposition auf dem Kamerachip. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0.98.

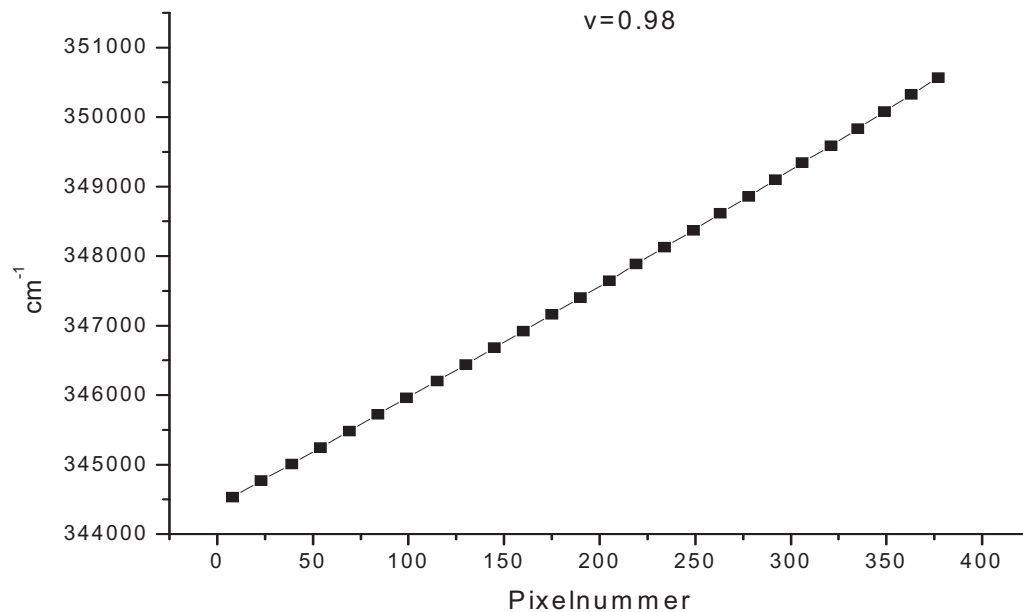


Abbildung 3.3: Pixel-Wellenlängen-Zuordnung für das Gitter bei einer Einstellung von 288 nm.

Die Pixelnummer – Wellenlängen – Kalibrierung wurde mit Polynomen zunehmender Ordnung durchgeführt. Bereits mit einem zusätzlichen quadratischen Term verringert sich die Abweichung zwischen berechneten und mit dem Laser erzeugten Kalibriermarken auf weniger als zwei Wellenzahlen. Es hat sich in der Praxis als ausreichend erwiesen, eine Polynomanpassung mit Termen einschließlich vierter Ordnung zu verwenden (siehe Abbildung 3.4).

Die Frequenz ergibt sich als Absolutwert in Wellenzahlen (cm⁻¹). Der maximale Fehler liegt in der Regel bei einer Wellenzahl und der Korrelationskoeffizient ist 0.9999

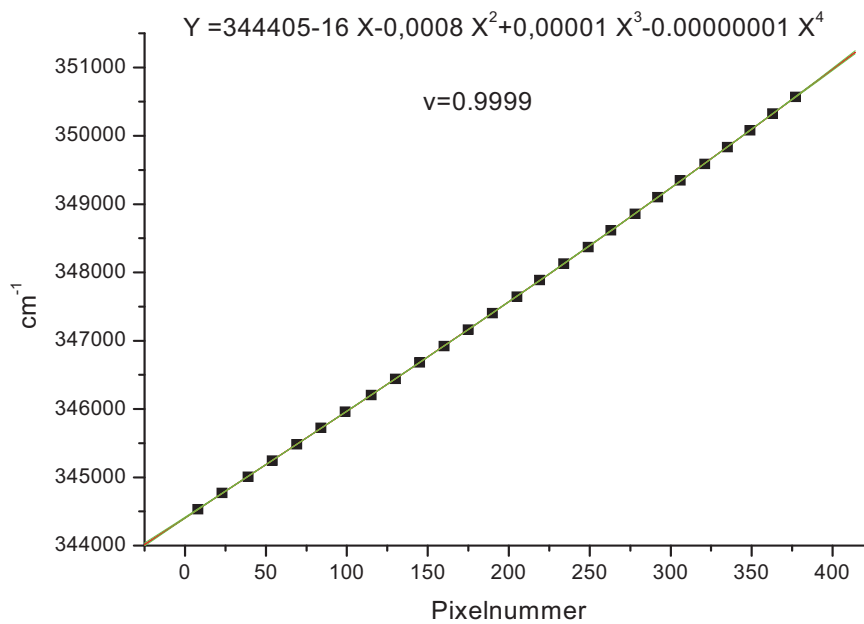


Abbildung 3.4: Kalibrierkurve für die Gitterposition 288 nm durch die Lasermarker (+) auf der CCD als Polynomfit vierter Ordnung. Die Abweichung der berechneten von der eingestrahlichten Wellenlänge beträgt maximal $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

Für das Gitter im Monochromator des Anregungs-Emissions-Spektrometers erhält man somit für eine Einstellung von 288 nm für eine Korrelation zwischen der Pixelposition auf dem Kamerachip die Wellenzahlen:

$$\tilde{\nu}(n) \quad [\text{cm}^{-1}] = 344405 - 16 \times X - 0,0008 \times X^2 + 0,00001 \times X^3 - 0,00000001 \times X^4$$

n – Pixelnummer der CCD (1 bis 384)

Kapitel 4

Theorie zu den quantenchemischen Rechnungen

Um die Spektren zu interpretieren werden in dieser Arbeit quantenchemische Methoden verwendet. In diesem Abschnitt soll die Theorie der so genannten *ab-initio* Verfahren vorgestellt werden. Ausgehend von der Born-Oppenheimer-Näherung [4], welche allen *ab-initio* Verfahren zugrunde liegt, werden die Hartree-Fock-Theorie [5], die Dichtefunktionaltheorie, die Störungstheorie nach Møller und Plesset [6] und das Coupled-Cluster-Verfahren dargestellt.

Über die allgemeinen Methoden der Quantenchemie kann man eine ausführliche und umfangreichere Darstellung in den verschiedenen Lehrbüchern der Quantenchemie wie z. B. [7, 8, 9, 10] finden.

4.1 Schrödingergleichung

In der nichtrelativistischen, quantenmechanischen Theorie werden die Wechselwirkungen von Elektronen und Kernen durch die Schrödingergleichung beschrieben [112, 113, 114]:

$$\hat{H}\Psi_n = E_n\Psi_n, \quad n = 0, 1, 2, \dots,$$

wobei Ψ_0 der Grundzustand und Ψ_1 der erste angeregte Zustand ist.

Der *Hamilton-Operator* $\hat{H}$ ist ein Differentialoperator, in dem alle Wechselwirkungen des Systems zusammengefasst sind. Dieser wirkt auf die Wellenfunktion Ψ_n . E_n ist der Eigenwert der Funktion Ψ_n .

Das Betragsquadrat der Wellenfunktion Ψ_n ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit für die Elektronen und Kerne mit den Elektronenkoordinaten $\vec{r}_i$ und den Kernkoordinaten $\vec{R}_i$.

$$P = |\Psi_n|^2 = \left| \Psi_{\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots} \right|^2,$$

E_n ist die Bindungsenergie aller Elektronen und Kerne. Der Hamilton-Operator setzt sich zusammen aus der kinetischen Energie der Kerne T_e der N Elektronen die kinetische Energie T_K der Atomkerne, die aus der Elektron-Elektron-Wechselwirkung hervorgehende potentielle Energie V_e , die aus der Kern-Kern-Wechselwirkung hervorgehende potentielle Energie V_K , sowie die Elektron-Kern-Wechselwirkung V_{e-K} : [112, 113, 114]

$$H = \underbrace{\sum_{v=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_v^2}_{T_e} + \underbrace{\frac{1}{2} \sum_{\mu} \sum_{v \neq \mu}^N \frac{1}{|r_{\mu} - r_v|}}_{V_e} + \underbrace{\sum_{\alpha=1}^{N_K} -\frac{1}{2} \nabla_{\alpha}^2}_{T_K} + \underbrace{\frac{1}{2} \sum_{\alpha} \sum_{\beta \neq \alpha}^{N_K} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta}}{|R_{\alpha} - R_{\beta}|}}_{V_K} - \underbrace{\sum_v \sum_{\alpha}^{N_K} \frac{Z_{\alpha}}{|r_v - R_{\alpha}|}}_{V_{e-K}}$$

Die Schrödingergleichung beschreibt das System ohne Umgebung, dies bedeutet ohne elektrostatische Einflüsse oder Felder.

4.2 Die Born-Oppenheimer-Näherung

Die Born-Oppenheimer-Näherung ist eine der möglichen Vereinfachungen der Schrödingergleichung. Durch Trennung in die schnelle Elektronen- und langsame Kernbewegung werden deren Wellenfunktionen entkoppelt. [4, 114]

4.3 Das Hartree-Produkt

Mit dem Hartreeschen-Produktansatz, welches ein Modell für Vielelektronensysteme ist, wird die Lösung der Wellenfunktion vereinfacht:

$$\psi(r_i) = \prod_{j=1}^N \phi_j(r_i)$$

Durch Vernachlässigung der Elektronenwechselwirkung untereinander und unter Berücksichtigung der Born-Oppenheimer-Näherung kann der Mehrelektronen-Hamilton-Operator als die Summe aller Elektronen-Hamilton-Operatoren geschrieben werden:

$$\hat{H} = \sum_{i=1}^N \hat{h}_i(\vec{r}_i)$$

Damit ergibt sich für die Eigenfunktion ϕ von $\hat{h}$ der Eigenwert ε_j somit die Energie der Elektronen:

$$\hat{h}_i \phi_j(\vec{x}_i) = \varepsilon_j \phi_j(\vec{x}_i), \quad j = 1, 2, 3, \dots$$

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten der Elektronen sind unabhängig voneinander und die Funktion ist unkorreliert.

Damit die Wellenfunktion das Pauli-Prinzip für Fermionen erfüllt, das bedeutet Teilchen mit Spin $+\frac{1}{2}$, $-\frac{1}{2}$, muss sie antisymmetrisch sein bezüglich der Vertauschung der Koordinaten von zwei beliebigen Elektronen::

$$\hat{P}_{ij} \Psi = -\Psi$$

mit dem Permutationsoperator $\hat{P}_{ij}$, der die Koordinaten i und j miteinander vertauscht.

Das Hartree-Produkt kann das Pauli-Prinzip nicht erfüllen. Eine Form, die dem Pauli-Prinzip entspricht, wird erhalten, wenn das Hartree-Produkt antisymmetriert wird. Die Wellenfunktion kann als *Slater-Determinante* ausgedrückt werden:

$$\psi_{el}^S(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_n) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \phi_1(\vec{x}_1) & \phi_2(\vec{x}_1) & \cdots & \phi_m(\vec{x}_1) \\ \phi_1(\vec{x}_2) & \phi_2(\vec{x}_2) & \cdots & \phi_m(\vec{x}_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(\vec{x}_n) & \phi_2(\vec{x}_n) & \cdots & \phi_m(\vec{x}_n) \end{vmatrix}$$

Die Zeilen der Determinante beschreiben verschiedene Spinorbitale und dasselbe Elektron, wobei die Spalten jeweils das gleiche Spinorbital besetzt mit verschiedenen Elektronen beschreiben.

Allgemein gilt für Determinanten, dass sich bei einer Vertauschung zweier Spalten oder Zeilen das Vorzeichen umkehrt. Somit ist die Wellenfunktion antisymmetrisch und hält das Pauli-Prinzip ein.

Bei der Berechnung der Energie wird das Ritzsche Variationsprinzip verwendet.

Der mit einer beliebigen Funktion ϕ berechnete Erwartungswert E des Hamilton-Operators ist immer größer oder gleich dem kleinsten Eigenwert E_0 des Hamilton-Operators. In der Praxis werden die Parameter der Funktion ϕ solange variiert, bis der Eigenwert der Funktion minimal wird. Dieser liegt aufgrund der Wahl des Basissatzes stets über dem Eigenwert E_0 . [112,114]

4.4 Das Hartree-Fock-Verfahren

Mittels des Extremalprinzips wird diejenige Konfiguration (*Slater-Determinante*) gesucht, welche die beste Näherung der Gesamtwellenfunktion im Rahmen des antisymmetrisierten Produktansatzes darstellt.

Damit ergibt sich die Hartree-Fock-Energie eines Mehrelektronensystems zu:

$$E_{HF} = \sum_i^n \epsilon_i - \sum_i^n \sum_{j>i}^n (J_{ij} - K_{ij})$$

wobei die Coulombwechselwirkung J_{ij} die Form hat:

$$J_{ij} = \iint \frac{\Phi_i^*(\vec{x}_i) \Phi_j^*(\vec{x}_j) \Phi_i(\vec{x}_i) \Phi_j(\vec{x}_j)}{r_{ij}} d\tau_i d\tau_j$$

und die Austauschwechselwirkung K_{ij} . Als Folge der Antisymmetrisierung der Wellenfunktion die folgende Form:

$$K_{ij} = \iint \frac{\Phi_i^*(\vec{x}_i) \Phi_j^*(\vec{x}_j) \Phi_i(\vec{x}_j) \Phi_j(\vec{x}_i)}{r_{ij}} d\tau_i d\tau_j$$

4.5 Die Roothaan-Hartree-Fock-Gleichung

Die Roothaan-Hartree-Fock-Gleichung wird benötigt, um eine Minimierung der Energie E_0 bezüglich der Raumorbitale eines Moleküls zu berechnen.

Da nicht die Wellenfunktion optimiert wird, sondern lediglich die Koeffizienten der Atomorbitale berechnet werden, wird dieser Ansatz auch *Linear Combination of Atomic Orbitals*, der LCAO-Ansatz genannt. [12, 112, 114,]

$$FC = SC\varepsilon$$

$$\text{Matrix der Fockoperatoren: } F_{\mu\nu} = \hat{H}_{\mu\nu}^{\text{core}} + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} \left[(\mu\nu|\lambda\sigma) - \frac{1}{2}(\mu\lambda|\sigma\nu) \right]$$

$$\text{Dichtematrix: } P_{\lambda\sigma}$$

$$\text{Matrix der MO-Koeffizienten C: } C_{\nu i}$$

$$\text{Matrix der Überlappungsintegrale S: } S_{\mu\nu} = (\varphi_\mu | \varphi_\nu)$$

$$\text{Indices der Atomorbitale: } \mu, \nu$$

$$\text{Indices der Molekülorbitale: } \lambda, \sigma$$

Hierbei sind **F**, **C** und **S** $m \times m$ -dimensionale Matrizen, wobei m die Anzahl der Basisfunktionen ist. ε ist eine $m \times m$ -Diagonalmatrix mit den Energieeigenwerten ε_i . Da die Matrix der MO-Koeffizienten **C** bei der Berechnung der Fock-Matrix **F** gebraucht wird, kann die Lösung mit Hilfe eines Self-Consistent Field-Verfahren (SCF) gefunden werden. Die Anfangswerte der Koeffizienten der Matrix **C** werden durch Diagonalisierung des Harris Funktional [115] erhalten. Die Fock-Matrix wird berechnet. Daraus resultiert eine genauere Energie, die die Grundlage zu einer genaueren Bestimmung der Koeffizienten bildet. Diese werden wiederum in die

Fock-Matrix eingesetzt. Dieses iterative Verfahren wird so lange wiederholt, bis sich die Energie im Rahmen des zuvor definierten Konvergenzkriteriums nicht mehr ändert.

Die hierbei errechnete Energie $E_{HF_{Limit}}$ entspricht jedoch nicht der exakten nichtrelativistischen Energie E_{wahr} des Systems, sondern weicht selbst bei unendlicher Anzahl von Basissätzen um die Korrelationsenergie ab. Das Hartree-Fock-Limit liegt aufgrund der Berechnung mit Hilfe des Rayleigh-Ratios immer oberhalb des exakten Wertes.

$$E_{corr} = E_{wahr} - E_{HF_{Limit}}$$

Die Differenz entsteht durch die teilweise Vernachlässigung der Wechselwirkungen der Elektronen untereinander, da die Bewegung eines Elektrons im gemittelten Feld der übrigen Elektronen betrachtet wird.

4.6 Dichtefunktionaltheorie

Es ist mit den Arbeiten von P. Hohenberg, W. Kohn und L.J. Sham [11, 12] gelungen, das N -Elektronenproblem bei formaler Exaktheit erheblich zu reduzieren, indem nur 3 statt $3N$ Variablen benötigt werden. Die detaillierten Kenntnisse der Vielteilchenwellenfunktion sind durch die Elektronendichte $\rho(r)$, die zeitgemittelte Aufenthaltswahrscheinlichkeit aller Elektronen, nicht mehr notwendig.

Die wichtigsten Gleichungen in der Dichtefunktionaltheorie sind der Ausdruck der Grundzustandsenergie als Funktional der Elektronendichte, das *Hohenberg-Kohn*-Theorem, sowie die Gleichungen zur Berechnung der Wellenfunktion, die *Kohn-Sham*-Gleichungen. Prinzipiell ist die DFT-Methode in

allen Bereichen der theoretischen Beschreibung von Molekülen, Clustern, Festkörpern und Flüssigkeiten anwendbar.

4.6.1 Das Theorem von Hohenberg und Kohn

Die Grundlage für die DFT ist das *Hohenberg-Kohn*-Theorem [11, 12, 13]:

1. Die Gesamtenergie eines wechselwirkenden N -Elektronen-Systems im nichtentarteten Grundzustand kann durch ein eindeutiges Funktional der Elektronendichte beschrieben werden:

$$E = E[\rho]$$

2. Das Energiefunktional $E[\rho]$ nimmt bei einem nichtentarteten Grundzustand bei Variation von $\rho(r)$ sein Minimum an der Grundzustandselektronendichte $\rho_0(r)$ an.

$$\rho(r_1) = \sum_{i=1}^n |\psi_i(r)|^2$$

Die stationäre, zeitunabhängige Vielteilchen-Schrödingergleichung ist der Ausgangspunkt der Dichtefunktionaltheorie. Aus dem Erwartungswert des elektronischen Hamiltonoperators ergibt sich die Gesamtenergie eines N -Elektronensystems unter Berücksichtigung der *Born-Oppenheimer*-Näherung:

$$E = \langle \hat{H}_e \rangle = \langle T_e \rangle + \int V_{e-K}(r) \rho(r) dr + \langle V_e \rangle$$

Die Elektron-Elektron-Wechselwirkung wird in der Dichtefunktionaltheorie in der Form:

$$\langle V_e \rangle = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r')\rho(r)}{|r' - r|} dr' dr + E_{XC}$$

geschrieben und enthält das Hartree-Potential:

$$V_H(r) = \int \frac{\rho(r')}{|r' - r|} dr'$$

sowie die Austauschkorrelationsenergie:

$$E_{XC} = \sum_s \int \rho_s(r) e_{XC}[\rho(r, s)] dr$$

mit der sogenannten Austausch-Korrelationsenergie pro Teilchen e_{XC} [14, 15].

4.6.2 Kohn-Sham-Gleichungen

Die Schwierigkeit bei Verwendung der Dichtefunktionale, wie z. B. der *Thomas-Fermi-Methode* [16, 17], ist die Bestimmung der kinetischen Energie. Um diese Probleme zu vermeiden, haben *W. Kohn und L. J. Sham* die N -Einelektronen-Wellenfunktionen durch Beschreibung des N -Elektronensystems verwendet, indem sie:

$$\rho(r) = \sum_s^N |\psi_{0s}(r)|^2$$

für die Dichte ansetzen. Daraus entwickeln die so genannten *Kohn-Sham-Gleichungen*:

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{ext}(r) + V_H(r) + V_{XC}(r,s) \right) \psi_v(r) = \varepsilon_v \psi_v(r),$$

Hierbei steht V_{XC} für das Austauschkorrelationspotential. Der Einteilchenoperator, der sogenannte *Kohn-Sham*-Operator, wird durch den Ausdruck in der Klammer zusammengefasst. Durch die folgende Gleichung wird die Grundzustandsenergie des elektronischen Systems beschrieben:

$$E_{tot}[\rho] = \sum_v \varepsilon_v - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr' dr + \sum_s \int \rho_s(r) (\varepsilon_{XC} - X_{XC}[\rho_s(r)]) dr$$

Durch z.B. die SCF-Technik kann die Lösung der *Kohn-Sham*-Gleichungen iterativ (self consistent field) erfolgen. Ein neues Potenzial wird bestimmt, bis eine selbstkonsistente (stabile) Lösung gefunden wird. Dazu wird die *Kohn-Sham*-Gleichung mit einer Linearkombination des vorigen und des neuen Potenzials gelöst. Von einer Startdichte berechnet man das *Kohn-Sham*-Potential, daraus eine neue Dichte, die wieder in die *Kohn-Sham*-Gleichungen eingesetzt wird u.s.w.

Das Austauschkorrelationspotential V_{XC} ist als Funktionalableitung eindeutig definiert:

$$V_{XC}[\rho_s(r)] = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho_s(r)}$$

Das Austauschkorrelationsfunktional V_{XC} beinhaltet einen Term für den Austausch und einen für die Korrelation. Das exakte V_{XC} ist bisher weder bekannt noch berechenbar. Es werden Approximationen verwendet, die an das wahre Austauschkorrelationsfunktional angenähert sind. Entweder sind dies gradientenkorrigierte Austauschfunktionale z.B. von Becke [116]. oder

gradientenkorrigiertes Korrelationsfunktional z.B. von Lee, Young und Parr [33]. Eine Kombination aus exakten Hartree-Fock-Austausch, gradientenkorrigierten Austauschfunktionalen und gradientenkorrigierten Korrelationsfunktionalen sind Hybridfunktionale wie im Fall des B3LYP-Funktional [112].

4.7 Die Møller-Plesset-Störungstheorie

Bei der Møller-Plesset -Störungstheorie ist der ungestörte Hamilton-Operator $\hat{H}_0$ die Summe über alle Fockoperatoren f_i [113]:

$$\hat{H}_0 = \sum_{i=1}^N f_i$$

Die Energie des ungestörten Systems kann berechnet werden nach:

$$E^{(0)} = \sum_{i=1}^N \varepsilon_i$$

Die Energie nullter Ordnung ist aus der Schrödingergleichung zu berechnen,

$$E_0^{(0)} = \langle \psi_{HF} | \hat{H}_0 | \psi_{HF} \rangle = 2 \sum_{j=1}^{\frac{N}{2}} \varepsilon_i$$

wobei ε_i Orbitalenergien aus der HF-Rechnung sind.

Nach der Störungstheorie 1. Ordnung ist die Energiekorrektur 1.Ordnung

$$E_0^{(1)} = \langle \psi_{HF} | V | \psi_{HF} \rangle$$

mit dem Störoperator $V = \hat{H} - \hat{H}_0$.

Die Hartree-Fock Energie ist somit die Summe aus der ungestörten Energie und der Energiekorrektur 1.Ordnung

$$E^{(0)} + E^{(1)} = E_{HF}$$

Die Energiekorrektur 2.Ordnung berechnet sich nach

$$E_0^{(2)} = \sum_{j \neq 1} \frac{\left| \langle \psi_{HF} | V | \psi_{a,b}^{i,j} \rangle \right|^2}{E_0^{(0)} - E_j^{(0)}}$$

Somit kann die MP2-Energie berechnet werden:

$$E_{MP2} = \sum_{i < J}^{virt} \sum_{a < b}^{occ} \frac{\left| \langle \psi_{HF} | V | \psi_{a,b}^{i,j} \rangle \right|^2}{\epsilon_a + \epsilon_b - \epsilon_i - \epsilon_j} = \sum_{i < J}^{virt} \sum_{a < b}^{occ} \frac{(ai|bj)(aj|bi)}{\epsilon_a + \epsilon_b - \epsilon_i - \epsilon_j}$$

4.8 Coupled-Cluster-Verfahren

Das Coupled-Cluster-Verfahren ist ein hochwertiges, aber sehr rechenzeitintensives Verfahren, mit dessen Hilfe auch kurzreichweitige Wechselwirkungen von Elektronen beschrieben werden können. [117, 118, 119]

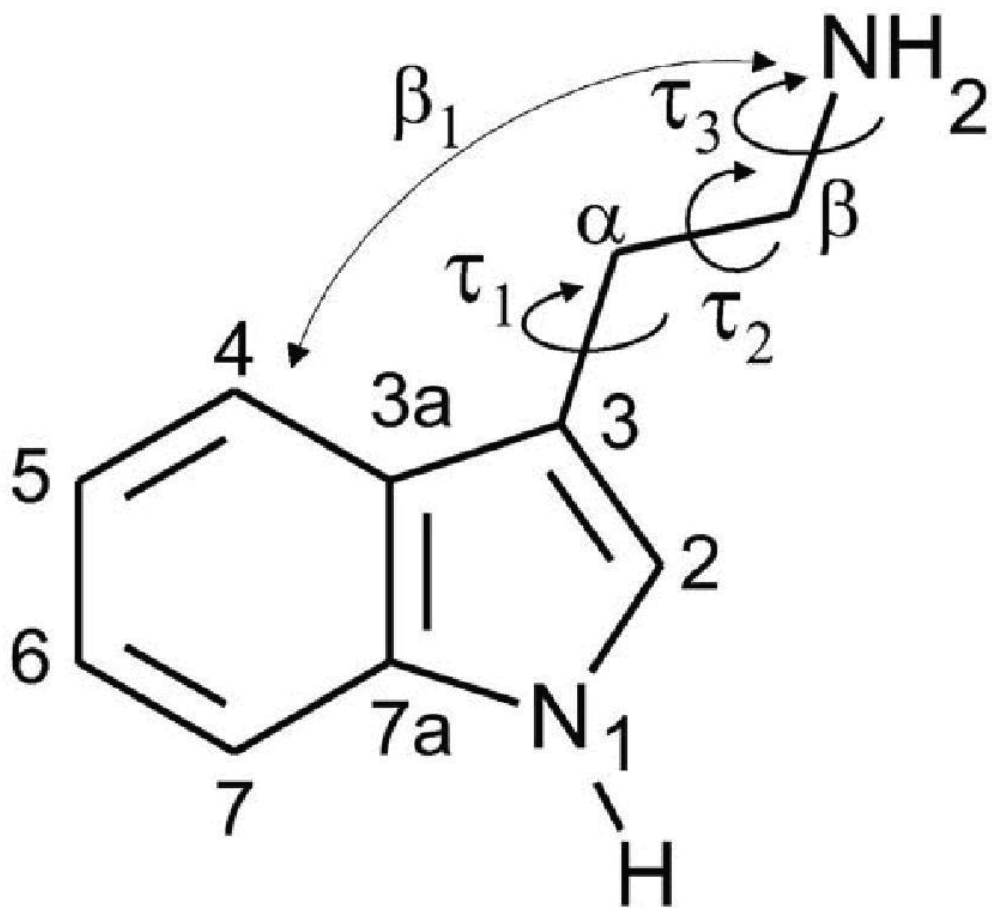
Dieses orbitalbasierte Korrelationsverfahren ist nicht variationell, somit kann die berechnete Energie auch unter der exakten Energie liegen. Es ist jedoch größenkonsistent.

Hierbei kann eine CC-SD-Rechnung durchgeführt werden, wobei *Single* und *Double*-Anregungen erfolgen. Die CC2-Methode ist verwandt mit der CC-SD-Methode. Jedoch wird im Gegenzug zu CC-SD-Rechnung, die Terme höherer Ordnung der Doppelanregung vernachlässigen. [44]

Eine CC-SD(T)-Rechnung zieht noch einige Triple-Anregungen hinzu. Eine CC-SDT-Rechnung liefert zuzüglich aller Triple-Anregungen sehr genaue Ergebnisse, ist aber aufgrund der hohen Rechenzeit nur für kleine Systeme durchführbar.

Kapitel 5

Tryptamin



**Low frequency backbone vibrations of individual conformational
isomers: Tryptamine**

Michael Schmitt¹, Ke Feng, Marcel Böhm, and Karl Kleiner²

**Heinrich-Heine-Universität
Institut für Physikalische Chemie I
D-40225 Düsseldorf, Germany.**

Phone: +49 211 81 13812

Fax: +49 211 81 15195

Printed in the Journal of Chemical Physics, August 2006, Vol. 125,
144303

¹ Electronic mail: mschmitt@uni-duesseldorf.de

² Electronic mail: kleiner@uni-duesseldorf.de

5.1 Abstract

The low frequency vibrations of the ethylamino backbone of six conformers of tryptamine have been studied in the ground and excited states using dispersed fluorescence spectroscopy, rotationally resolved laser induced fluorescence, and *ab initio* calculations. Four low frequency vibrational modes of the backbone, which involve torsional and librational motions of the ethylamino group, have been identified. The three *anti* conformers show a substantially different vibrational pattern than the four conformers in which the amino group is in *gauche* position with respect to the pyrrole and the phenyl ring, respectively.

5.2 Introduction

The three aromatic amino acid residues that are primarily responsible for the inherent fluorescence of proteins are tryptophan, tyrosine, and phenylalanine. In solution, tryptophan shows the highest fluorescence yield of the three chromophores. Tryptamine (see Figure 5.1), which is the decarboxylation product of the amino acid tryptophan, has a very rich potential energy landscape, which is governed by torsional motions of the ethylamino backbone. Since these low frequency backbone vibrations are a probe of the molecular surrounding of the chromophore, we attempt to systemize these vibrations by means of laser induced fluorescence and dispersed emission spectroscopy.

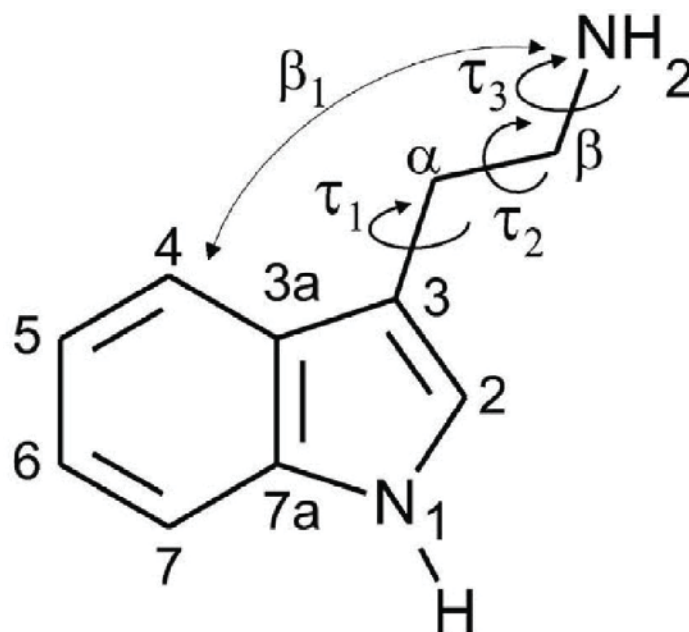


Figure 5.1: Atomic numbering of TRA and definitions of the four low frequency vibrations of the back bone. τ_1 , τ_2 and τ_3 are three torsion vibrations around the C_1 - C_α , C_α - C_β and C_β -N single bonds, respectively. β_1 is a bending vibration between the back bone and the indol ring.

For the nomenclature of the different tryptamine conformers, we use the scheme proposed by Carney and Zwier. [18] Out of the 27 possible conformers of tryptamine ($3 \times 3 \times 3$ from rotation about τ_1 , τ_2 , and τ_3 in Fig. 5.1) the 18 which have the ethylamino group in the aromatic plane have much higher ground state energies. The remaining nine conformers in which the ethylamino group is in *gauche* position to the phenyl (pyrrole) ring are called Gph (Gpy). Conformers in which the ethylamino group is pointing away from the indole chromophore are called anti. The orientation of the amino lone pair is given by the descriptors "up," "ph," "py," "out," and "in," depending if the lone pair points upwards, to the phenyl side, to the pyrrole side, away from the indole ring, or down to the indole ring. The two in conformers have so far not been observed experimentally and will not be treated in the present study.

Philips and Levy performed laser induced fluorescence (LIF) spectroscopy with a spectral resolution of 0.07 cm^{-1} and obtained the first rotationally resolved electronic spectra of seven different conformers. [19] Later this work was extended to the triply

deuterated conformers in the same group. [20] In the groups of Nguyen et al. [21] and Schmitt et al. [22] rotationally resolved spectra of tryptamine were taken at a resolution of about 0.01 cm^{-1} , mainly limited by the experimental Doppler width and the Lorentzian width of the rovibronic transitions. Nguyen et al. [21] found all seven conformers that were described by Philips and Levy, while Schmitt et al. [22] could only determine six different conformers, although the missing one [C(2) in the paper of Philips and Levy] has nearly the same intensity as the directly neighbored C(1) conformer. In the meantime we were able to spot the reason for this discrepancy. By using successively larger nozzle diameters, the C(2) intensity could be increased considerably. This finding shows that the relative amount of each conformer in the molecular beam is governed not only by the relative energies of the conformers but also by kinetic effects in the early phase of the expansion. [23] Using rotational coherence spectroscopy Connell et al. investigated five conformers of tryptamine and found two different recurrence times for the C conformer, one being similar to D and the other to F. [24] The permanent dipole moments of four tryptamine conformers were determined in a recent study by Nguyen and Pratt, [25] using the Stark effect on rotationally resolved electronic spectra. The ground states of the A and B conformers of tryptamine have also been studied using microwave spectroscopy. [26]

Dispersed fluorescence (DF) spectroscopy is a very useful method to observe vibrational energy levels over a wide energy range. Especially the investigation of the very low frequency region (terahertz region) is straightforward, while other spectroscopic (absorption) techniques are technologically demanding, mainly because bright stable terahertz sources are still not available commercially.

Since the $\pi^* \leftarrow \pi$ transition of tryptamine is mainly localized in the indole ring, only little Franck-Condon (FC) activity is expected from the ethylamino backbone vibrations. The low frequency vibrations of tryptamine are interesting, because they reflect the interaction between the backbone and the indole chromophore in relation to the different conformers and may be related to peptide folding in larger systems. In the present publication we will determine and assign the backbone vibrations of six tryptamine conformers in the electronic ground and excited states and compare the

experimental results to *ab initio* calculations.

5.3 Techniques

5.3.1 Experimental methods

A detailed description of the experimental apparatus for the dispersed fluorescence spectroscopy is given References [27, 28], and for rotationally resolved LIF in Reference [29]. Both will therefore be described only briefly here. The fluorescence absorption and emission spectra are taken in a vacuum machine pumped with a 2000 l/s oil diffusion pump. A neodymium doped yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser (Spectra Physics, Quanta Ray Indi) is used to pump a tunable dye laser (Lambda-Physik, FL3002). The laser light is frequency doubled and directed into the vacuum chamber, where it crosses the molecular beam at right angles. The sample is evaporated at 460 K, seeded into 2–3 bar helium as carrier gas, and expanded through a pulsed nozzle with a 500 μm orifice (General Valve). The emitted fluorescence light is collected perpendicularly to laser and molecular beam and is focused by a two-lens system on the entrance slit of a 1 m monochromator (Jobin Yvon, grating with 2400 grooves/mm blazed at 400 nm for first order). For fluorescence excitation the monochromator is used in zero order as mirror and the fluorescence is recorded by a photomultiplier tube (Thorn EMI 97890A).

For fluorescence emission, the monochromator can be used in first or second order and the fluorescence is dispersed onto a charged coupling device (CCD) detector [Flame Star I CCD-chip (TH7863, Thomson), 286×384 pixel (horizontal×vertical) with a pixel area of 23×23 μm^2]. The entrance slit was varied between 20 and 40 μm , depending on the intensity of the excited band. One dispersed fluorescence spectrum is obtained by summing the signal of 200 laser pulses and subtracting the background

that emerges from scattered light. Fifty of these single spectra are summed up for a better signal/noise ratio. Using the grating in first order allows imaging a DF spectrum of about 500 cm^{-1} simultaneously.

The experimental setup for rotationally resolved LIF consists of a ring dye laser (Coherent 899-21) operated with rhodamine 110, pumped with 6.5 W of the 514 nm line of an Ar^+ -ion laser. Its output is coupled into an external folded ring cavity (Spectra Physics) for second harmonic generation (SHG). The molecular beam is formed by coexpanding tryptamine, heated to $190\text{ }^{\circ}\text{C}$ and argon (250–500 mbars) through a $100\text{ }\mu\text{m}$ nozzle into the vacuum. The molecular beam machine consists of three differentially pumped vacuum chambers that are connected by two skimmers of 1 and 3 mm in order to reduce the Doppler width. The molecular beam is crossed at right angles in the third chamber with the laser beam 360 mm downstream of the nozzle and the resulting fluorescence is collected perpendicular to laser and molecular beam by an imaging optics. The Doppler width in this setup is 25 MHz [full width at half maximum (FWHM)]. A photomultiplier tube detects the integrated molecular fluorescence and its output is discriminated and digitized by a photon counter and transmitted to a PC for data recording and processing. Relative frequencies are determined with a quasiconfocal Fabry-Pérot interferometer with a free spectral range (FSR) of approximately 150 MHz. The absolute frequency was obtained from a recording of the iodine absorption spectrum and comparing it to the tabulated lines. [30]

5.3.2 Theoretical methods

In this work, the structures of the seven experimentally observed conformers of tryptamine in the electronic ground state have been optimized at the Møller-Plesset second order perturbation theory MP2/6-311G(*d,p*) level with the GAUSSIAN 98 program package. [31] The self-consistent-field (SCF) convergence criterion used throughout the calculations is an energy change below 10^{-8} hartree, while the convergence criteria for the gradient optimization of the molecular geometry were $\delta E/\delta r < 1.5 \times 10^{-5}$ hartree/bohr and $\delta E/\delta \phi < 1.5 \times 10^{-5}$ hartree/deg, respectively. The vibrational frequencies have been calculated using the analytical gradients.

The equilibrium geometry and vibrational frequencies of the electronic ground state of tryptamine were also determined using the B3-LYP functional [32, 33] employing the valence triple zeta basis set with polarization functions (*d,p*) from the TURBOMOLE library. [34, 35] The geometry of the L_b electronically excited singlet states was fully optimized by means of a time dependent density functional theory (TDDFT) gradient using the B3-LYP functional. [36] The vibrational frequencies have been calculated using the analytical second derivatives for the ground state and the numerical second derivatives for the electronically excited state. All DFT and TDDFT calculations were carried out utilizing the TURBOMOLE package, version 5.6. [37]

5.4 Results

5.4.1 Theoretical results

The calculated vibrational frequencies in the ground and electronically excited states of the Gpy(out) conformer, obtained from MP2/6-311G(*d,p*) and TDDFT/TZVP calculations, are summarized in Table 5.1.

The nomenclature is adopted from Varsanyi [38] for ortho-di-light-substituted benzene derivatives and is completed for vibrations of the five-membered ring following the scheme given in Reference [28] and for the backbone vibrations of the ethylamino group. Many of the chromophore modes couple only weakly to the backbone vibrations and retain the original displacement vectors of ortho-di-light-substituted benzene derivatives and can therefore be classified according to the Varsanyi scheme.

Table 5.1: Electronic ground state vibrations, calculated at the MP2/6-311G(*d,p*) level of theory, and excited state vibrations calculated at the TDB3-LYP/TZVP level along with the assignments of the vibrational modes of the *A* conformer of tryptamine. All frequencies are given in cm^{-1} . Modes marked with † are localized mainly in the ethylamino backbone, modes marked with * mainly in the pyrrole moiety.

No.	Mode	S_0 MP2	S_1 TDDFT	No.	Mode	S_0 MP2	S_1 TDDFT
1	$\tau_1^\dagger$	41	42	34	18a	1154	1108
2	$\beta_1^\dagger$	77	79	35	9a	1173	1172
3	$\tau_2^\dagger$	131	121	36	NH ₂ twist †	1183	1165
4	10b	171	164	37	CH ₂ twist †	1228	1201
5	10a	210	159	38	13	1265	1259
6	$N_{inv}/\tau_1/\tau_3^\dagger$	229	229	39	3	1275	1234
7	$\gamma\text{NH}/\tau_3^\dagger$	258	241	40	18b/CH, NH	1331	1291
8	$N_{inv}/\tau_1/\tau_3^\dagger$	300	279	41	C $_\beta$ H ₂ twist †	1354	1337
9	$N_{inv}/\tau_1/\tau_2^\dagger$	359	344	42	C $_\alpha$ H ₂ bend †	1376	1366
10	16b	391	307	43	3/ νCC^*	1387	1433
11	4	408	379	44	C $_\beta$ H ₂ wag †	1435	1416
12	9b	456	458	45	14/ δCH , NH *	1449	1409
13	CCN bend †	469	462	46	19b/ δNH	1470	
14	6a	533	510	47	C $_\alpha$ H ₂ bend †	1487	1483
15	6b	562	572	48	19a	1517	1447
16	γNH^*	588	524	49	C $_\beta$ H ₂ bend †	1531	1504
17	16a	620	660	50	19a/C $_\beta$ H ₂ bend	1534	1514
18	CCC bend †	707	571	51	νCC^*	1601	1780
19	11	715	577	52	8a	1619	1473
20	γCH^*	747	615	53	NH ₂ bend †	1641	1653
21	1	770	745	54	8b	1676	1586
22	17a	801	606	55	$\nu_s\text{C}_\beta\text{H}^\dagger$	3017	2956
23	17b	859	691	56	$\nu_s\text{C}_\alpha\text{H}^\dagger$	3069	3022
24	C $_\alpha$ H ₂ twist †	878	838	57	$\nu_{as}\text{C}_\beta\text{H}^\dagger$	3109	3051
25	5	880	757	58	$\nu_{as}\text{C}_\alpha\text{H}^\dagger$	3132	3072
26	12	891	865	59	$\nu_{as}\text{CH}$	3196	3185
27	NH ₂ wag †	910	878	60	$\nu_s\text{CH}$	3202	3192
28	C $_\alpha$ H ₂ wag †	939	901	61	$\nu_{as}\text{CH}$	3514	3204
29	18b	1030	950	62	$\nu_s\text{CH}$	3226	3211
30	CH ₂ twist †	1037	1010	63	$\nu_{py}\text{CH}^*$	3272	3265
31	CH ₂ twist †	1103	1095	64	$\nu_s\text{NH}_2$	3524	3485
32	δCH , NH *	1116	1077	65	$\nu_{as}\text{NH}_2^*$	3618	3566
33	C $_\alpha$ H ₂ wag †	1131		66	$\nu_{py}\text{NH}$	3696	3661

Nevertheless, in an unsymmetrical molecule of this size the unequivocal description of modes poses a problem, and the vibrational motions should preferably be viewed with a graphical visualization program, to inspect and assign the vibrations. [39] MOLDEN frequency files (.molf) and GAUSSIAN.log files containing geometries and vibrational modes of all tryptamine conformers investigated in this study can be obtained from one of the authors' homepage. [40]

Table 5.2: compares the low frequency vibrational modes below 360 cm^{-1} (shown in Figure 5.2) of the seven conformational isomers of tryptamine in this study.

Table 5.2: Electronic ground state low frequency vibrations calculated at the MP2/6-311(*d,p*) (B3-LYP/TZVP) level and assignment of the vibrational modes of the seven tryptamine conformers. All frequencies are given in cm^{-1} . For a description of the modes, see text.

Mode	A	B	C(1)	F	D	E	C(2)
	Gpy(out)	Gpy(up)	Gph(out)	Gph(up)	anti(py)	anti(up)	anti(ph)
τ_1	41(45)	40(37)	71(50)	55(42)	58(61)	56(45)	58(62)
β_1	77(83)	80(78)	93(87)	83(80)	78(81)	78(80)	80(82)
τ_2	131(136)	129(129)	135(124)	132(129)	87(91)	91(86)	89(95)
10b	171(178)	170(176)	198(203)	188(196)	180(197)	181(196)	180(197)
10a	210(219)	211(219)	207(215)	206(216)	210(220)	211(219)	210(220)
$N_{\text{inv}}/\tau_1/\tau_3$	229(266)	236(286)	223(230)	229(232)	232(236)	232(237)	227(226)
$\gamma\text{NH}/\tau_3$	258(240)	330(243)	314(331)	341(301)	246(241)	304(290)	247(324)
$N_{\text{inv}}/\tau_1/\tau_2/\tau_3$	300(332)	271(327)	281(273)	284(231)	277(326)	275(322)	275(252)
$N_{\text{inv}}/\tau_1/\tau_2$	359(385)	354(377)	365(384)	355(329)	345(346)	334(338)	349(347)

Mode 1 (τ_1) can be described by the torsional motion about the $\text{C}_3\text{--C}_\alpha$ single bond, mode 3 (τ_2) as torsion about the $\text{C}_\alpha\text{--C}_\beta$ bond, and mode 7 ($\gamma\text{NH}/\tau_3$) as torsion around the $\text{C}_\beta\text{--N}_{10}$ bond, but with admixture of a NH out-of-plane vibration. Mode 2 (β_1) has mostly character of a bending motion of the backbone relative to the indole ring. Mode 4 (10b) is the twisting mode of the indole chromophore and mode 5 (10a) is the butterfly mode. Mode 6 ($N_{\text{inv}}/\tau_1/\tau_3$) is mainly composed of a ring twisting motion, with a strong pyrrolic NH inversion, τ_1 , and τ_3 admixtures. Mode 8 can best be described as coupled NH inversion with τ_1 , τ_2 , and τ_3 vibrations. Mode 9 consists of the pyrrolic N

inversion with additional τ_1 and τ_2 admixture. Especially mode τ_3 couples strongly to the NH out-of-plane vibrations or to the pyrrolic N inversion, so that an unequivocal description in terms of pure torsional motions can hardly be given. Pyrrolic N inversion and NH out of plane modes are similar, but in the former one, the adjacent atoms to the central nitrogen move out of phase with respect to the N, while in the latter, the nitrogen stays in the indole plane and only the adjacent H atom moves out of the plane.

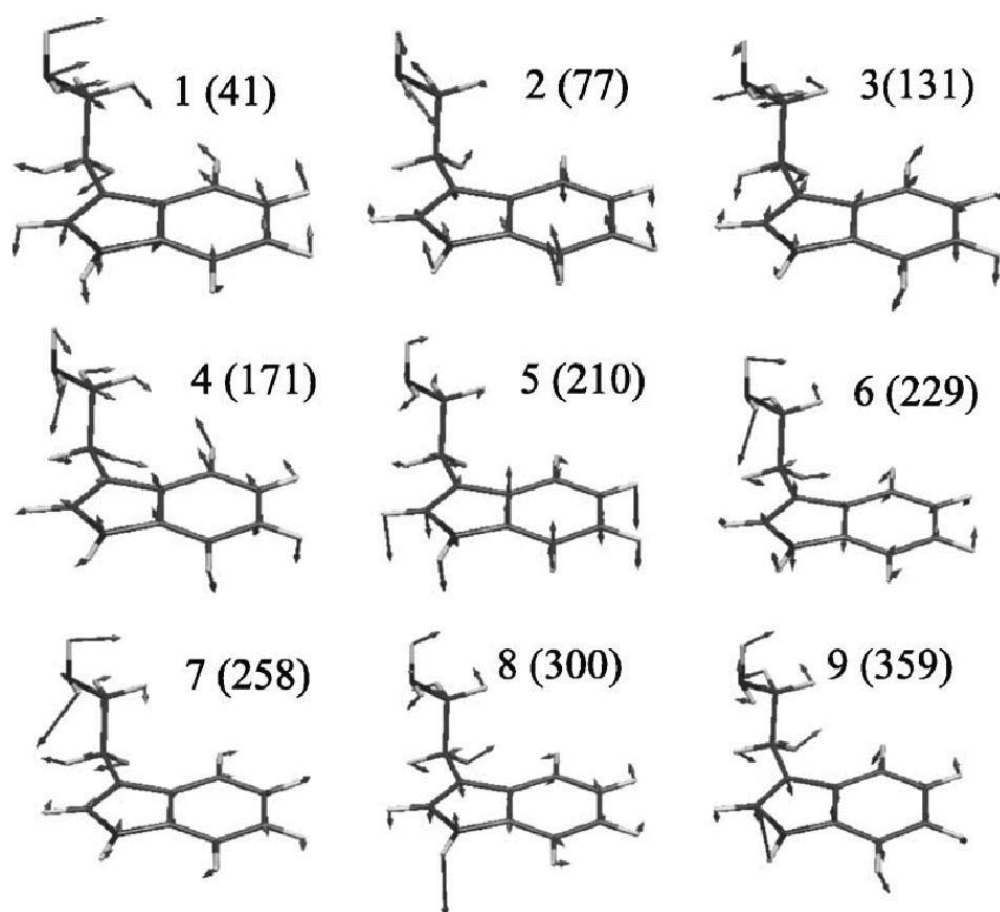


Figure 5.2: Vibrational modes of the Gpy(out) conformer of tryptamine below 360 cm^{-1} . Numbering of the modes refers to Table 5.1.

The excited state low frequencies of all seven conformers have been calculated using the numerical second derivatives at the TDDFT optimized structure obtained with the B3-LYP functional and the TZVP basis set from the TURBOMOLE library [37] and are given in Table 5.3. The torsional vibrations τ_1 , τ_2 , and τ_3 and the wagging vibration

of the backbone β_1 have similar frequencies as in the electronic ground state, since the geometry of the ethylamino backbone is not altered upon electronic excitation to the 1L_b state. [39] On the other hand, modes 4–6, 8, and 9, which are localized mainly in the aromatic ring, show larger shifts relative to the ground state frequencies.

Table 5.3: Low frequency vibrations of the electronically excited 1L_b state calculated at the TD-B3-LYP/TZVP level and assignment of the vibrational modes of the seven tryptamine conformers. All frequencies are given in cm^{-1} .

Mode	A	B	C(1)	F	D	E	C(2)
	Gpy(out)	Gpy(up)	Gph(out)	Gph(up)	anti(py)	anti(up)	anti(ph)
τ_1	42	47	57	53	56	55	57
β_1	79	76	83	77	79	77	80
τ_2	121	122	122	125	99	96	103
10b	164	159	176	175	167	167	166
10a	156	163	160	162	158	159	159
$N_{inv}/\tau_1/\tau_3$	229	228	222	226	232	237	224
$\gamma\text{NH}/\tau_3$	241	261	249	264	240	295	246
$N_{inv}/\tau_1/\tau_2/\tau_3$	279	305	277	306	264	257	261

5.4.2 Laser induced fluorescence spectra of tryptamine

The fluorescence excitation spectrum of tryptamine in the range of the low frequency vibrations is shown in Figure 5.3. The electronic origins of the *E* (34 868 cm^{-1}) and *F* (34 832 cm^{-1}) conformers are considerably weaker than the *A* (34 916 cm^{-1}) and *B* (34 896 cm^{-1}) conformers.

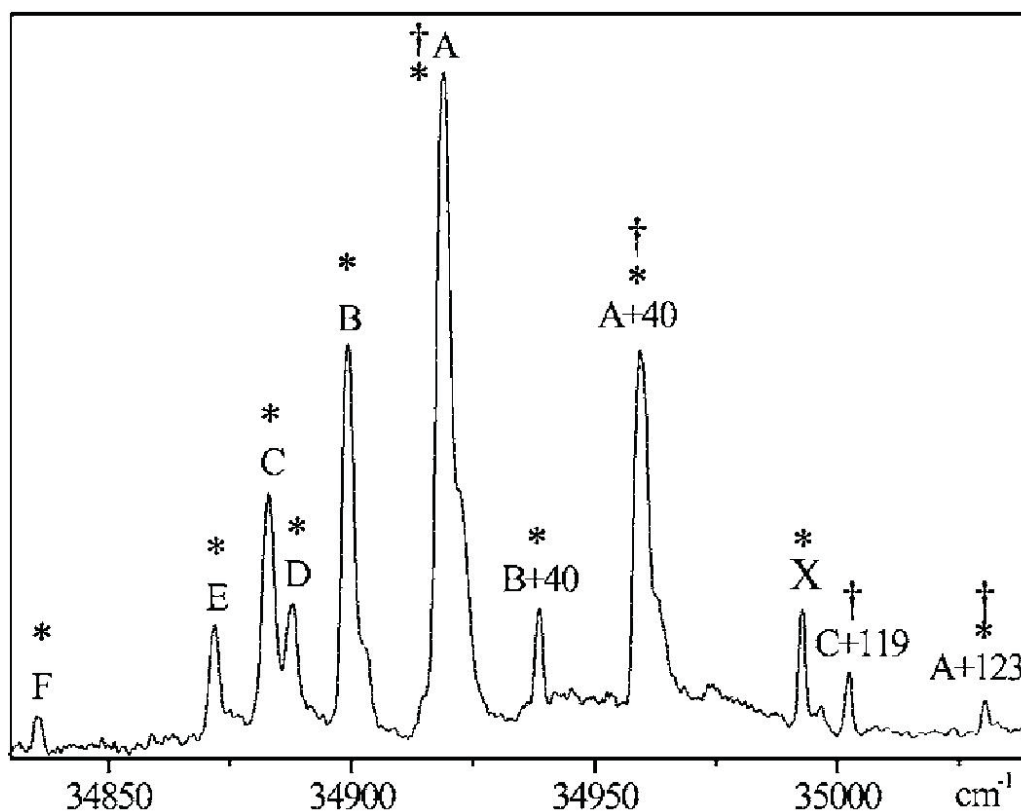


Figure 5.3: Fluorescence excitation spectrum in the region of the electronic origins of the conformers *A* to *F* of tryptamine. Bands marked with an asterisk are excited to obtain the dispersed fluorescence spectra. Bands marked with a dagger have been measured with rovibronic resolution (see section 5.4.3).

The electronic origins of the *C*(1) (34 879 cm^{-1}), *C*(2) (34 880 cm^{-1}), and *D*

(34 884 cm^{-1}) conformers are spectrally very close and of intermediate intensity. Nguyen *et al.* [21] and Schmitt *et al.* [22] independently related band *A* to the Gpy(out) conformer, band *B* to Gpy(up), band *C*(1) to Gph(out), band *E* to anti(up), and band *F* to Gph(up). A different assignment has been made for the anti(ph) and anti(py) conformers. Nguyen *et al.* assigned the tryptamine *D* band to the anti(ph) conformer based on a comparison of the differences of rotational constants of pairs of conformers to the results of *ab initio* calculations. Schmitt *et al.* made an assignment of the *D* band to the anti(py) conformer, on the basis of the rotational constants of the triply deuterated conformers. At the resolution of the current LIF spectra, the close-lying *C*(1) and *C*(2) origins cannot be resolved.

The band at +41 cm^{-1} (+40 cm^{-1}) above the electronic origin of the *A* (*B*) conformer in the fluorescence excitation spectrum can be assigned to the torsional vibration τ_1 of the respective conformer in the electronically excited state. The band at +74 cm^{-1} above the origin of the *A* conformer (marked with "X" in Figure 5.3) does not belong to the tryptamine spectra and might be a decomposition product. 83 cm^{-1} above the *A* origin a band is observed that can be assigned to a vibronic band of the *C* conformer (marked with "C+119" in Figure 5.3) on the basis of rotationally resolved LIF spectroscopy (see section 5.4.3). A weak band at +123 cm^{-1} above the *A* origin is assigned to the τ_2 mode. The alternative assignment to the second overtone of the τ_1 vibrations can be excluded on the basis of the emission spectrum obtained by exciting through this band (*vide infra*).

5.4.3 Rotationally resolved spectra of the vibronic bands

Alternatively to hole burning schemes, rotationally resolved electronic spectra can be used to distinguish between vibronic bands belonging to different conformers, since the ground state rotational constants, extracted from the fit of the rovibronic band, will be those of the electronic origin, while the excited state constants contain both the geometry changes caused by the electronic excitation and an additional part due to the squared atomic displacements along the respective normal mode in the electronically excited state. Figure 5.4 shows the rotationally resolved spectra of the electronic origin of the *A* conformer, of the $0,0(A)+41\text{ cm}^{-1}$, and of the $0,0(A)+123\text{ cm}^{-1}$ bands. Table 5.4 compares the changes of the rotational constants upon electronic excitation between the different vibronic bands. No rotationally resolved LIF spectrum could be obtained at the position marked with X (formally $A+74\text{ cm}^{-1}$) in Figure 5.3, which makes it likely that this band is due to thermal decomposition of the tryptamine sample. The evaluation of the rotationally resolved spectrum of the band marked with $0,0(C)+119$ yields the ground state rotational constants of the *C*(1) conformer, so that this band can safely be assigned to the $0,0(C)+119\text{ cm}^{-1}$ vibronic band.

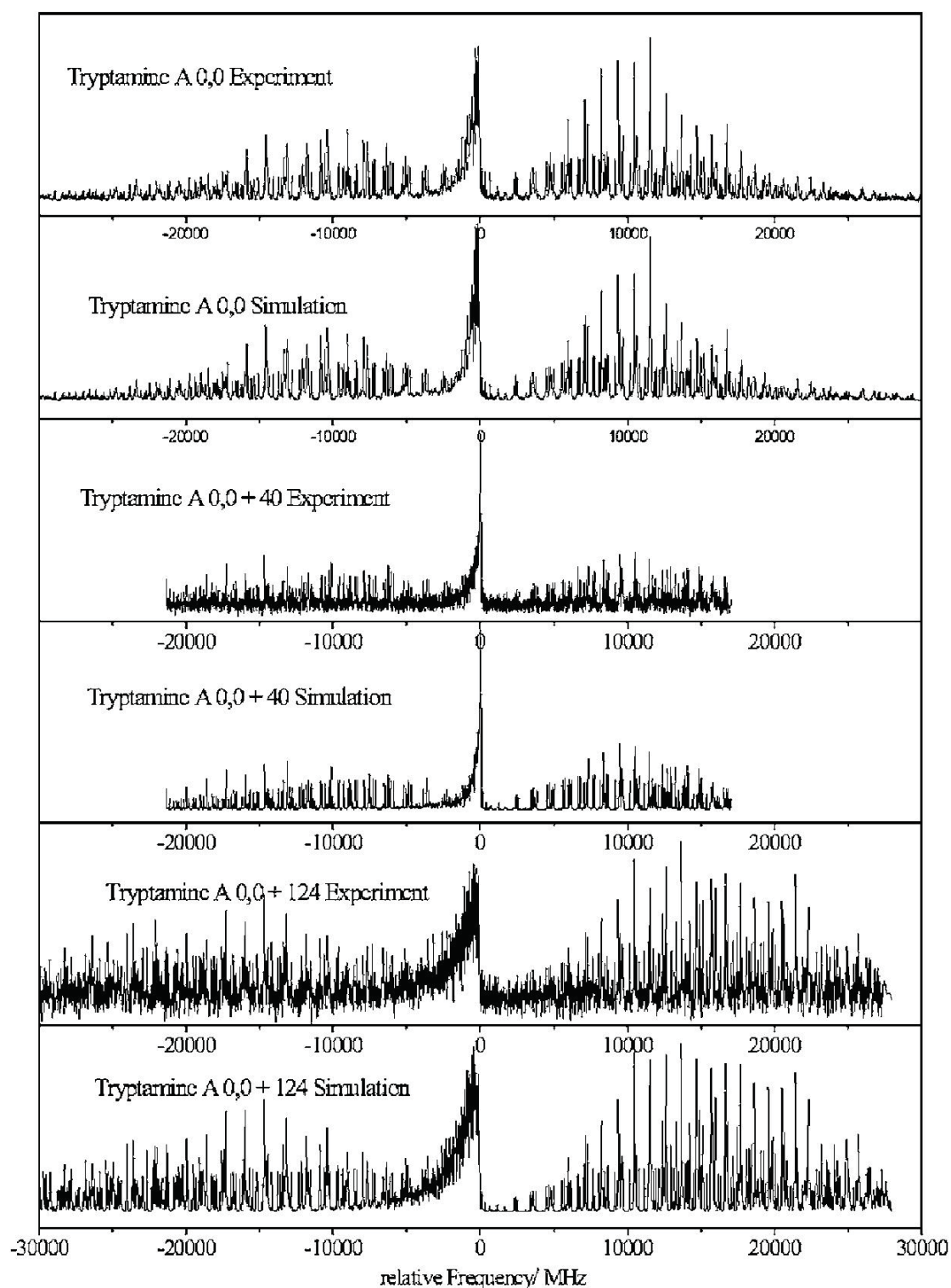


Figure 5.4: Rotationally resolved fluorescence excitation spectrum of the electronic origin, the $0,0+41\text{ cm}^{-1}$, and the $0,0+124\text{ cm}^{-1}$ bands of the tryptamine *A* conformer.

The excited state *A* rotational constants of the vibronic bands are in general larger than those of the zero-point level (ZPL), while the *B* and *C* constants are generally smaller.

The excited state A rotational constant of the $0,0(A)+41\text{ cm}^{-1}$ band increases by 6.86 MHz compared to the ZPL (given by $\Delta\Delta A$ in Table 5.4), a value which is considerably larger than the change of the $0,0(A)+123\text{ cm}^{-1}$ band (1.06 MHz).

A simple model calculation shows that indeed the $0,0(A)+41\text{ cm}^{-1}$ band is due to the τ_1 vibration. The changes of the moments of inertia upon vibronic excitation have been calculated from the scaled squared displacement vectors for this torsional motion at TDB3-LYP/VTZP level of theory. With the scaling factor chosen, so that a $\Delta\Delta A$ of 7 MHz is reproduced, the $\Delta\Delta B$ and $\Delta\Delta C$ values are -2 and -1 MHz, respectively, close to the experimentally determined changes (see Table 5.4). For the vibration at 123 cm^{-1} the scaled rotation-vibration corrections using the τ_2 displacements amount to 1, 0.6, and 0.5 MHz, again close to the $\Delta\Delta B_g$ values from Table 5.4. The simple model predicts all changes for this mode to be slightly positive, while experiment shows $\Delta\Delta B$ and $\Delta\Delta C$ to be small and negative. This discrepancy is mainly caused by the oversimplification of taking only harmonic, one-dimensional contributions into account. Nevertheless, vibrational assignments are possible, comparing the *ab initio* predicted vibronic contributions to the ZPL rotational constants with the experimental ones. Mode $0,0(C)+119\text{ cm}^{-1}$ has very similar vibronic contributions as $0,0(A)+123\text{ cm}^{-1}$ and can therefore be assigned to the same mode τ_2 of the Gph(out) conformer.

Table 5.4: Molecular parameters of the low frequency bands in the region of the electronic origins of the tryptamine conformers. The ΔB_g are defined as $B'_g - B''_g$, $g=A,B,C$. The $\Delta\Delta B_g$ are defined as $\Delta B_g[0,0(A)+X] - \Delta B_g[0,0(A)]$ and $\Delta B_g[0,0(C)+X] - \Delta B_g[0,0(C)]$, respectively.

	0,0(A)	0,0(A)+41	0,0(A)+123	0,0(C)	0,0(C)+119
A'' (MHz)	1731.02	1731.02	1731.02	1594.16	1593.62
B'' (MHz)	682.04	682.04	682.04	755.84	755.37
C'' (MHz)	551.56	551.56	551.56	561.39	561.04
ν_0 (cm^{-1})	34915.64	34956.77	35038.41	34879.22	34998.57
φ (deg)	72	84	80	77	77
θ (deg)	14	2	2	18	11
ΔA (MHz)	-7.00	-0.14	-5.94	-6.78	-5.32
ΔB (MHz)	-9.36	-10.79	-10.14	-12.76	-14.34
ΔC (MHz)	-6.98	-8.10	-7.53	-7.19	-7.79
$\Delta\Delta A$ (MHz)	0	6.86	1.06	0	1.46
$\Delta\Delta B$ (MHz)	0	-1.43	-0.78	0	-1.58
$\Delta\Delta C$ (MHz)	0	-1.12	-0.55	0	-0.60

5.5 Fluorescence emission spectra

5.5.1 Emission spectra through the electronic origins

The low frequencies in the fluorescence emission spectra, obtained via excitation of the electronic origins of the different conformers, are assigned to the respective vibrational modes using the results of the *ab initio* calculations described in Sec. 5.4.1. We start with the assignments of the two Gpy conformers. The first trace of Figure 5.5 shows the fluorescence emission spectrum, obtained via excitation of the vibrationless origin of the *A* conformer. Table 5.2 compiles the vibrational frequencies and assignments of all conformers. We observe the lowest frequency mode τ_I (torsion about the C_3-C_α single bond) of the *A* conformer (see trace *A*) at 43 cm^{-1} and of the *B* conformer (see trace *B* in Figure 5.5) at 41 cm^{-1} . The corresponding MP2/6-311G(*d,p*) calculated frequency of this mode of the Gpy(out) conformer is 41 cm^{-1} and of the Gpy(up) conformer 40 cm^{-1} (see Table 5.2). The first overtone of this vibration is observed at 86 cm^{-1} for the *A* conformer. In the *B* conformer this band coincides with the energetically following vibration β_1 , which is calculated at 80 cm^{-1} for the *B* and at 77 cm^{-1} for the *A* conformer. In the spectrum of the *A* conformer this band is observed at 81 cm^{-1} . A weak band at 124 cm^{-1} in the spectrum of the *A* conformer is assigned to the second overtone of the τ_I vibration. For a confirmation of this assignment of the $3\tau_I$ band, see Sec. III D 2. The band at $133\text{ (}128\text{)}\text{ cm}^{-1}$ in the spectrum of the *A(B)* conformer is assigned to the torsion around the $C_\alpha-C_\beta$ single bond (τ_2). The following two bands at 177 and 215 cm^{-1} are the fundamentals of two ring deformations, namely, the 10b (ring twist) and 10a (ring butterfly), respectively. The torsion about the $C_\beta-N_{10}(\tau_3)$ bond strongly mixes with the other torsional motions and with NH out-of-plane motions in the pyrrole ring. The mode closest to a τ_3 torsion

(see Figure 5.2) is calculated at 258 cm^{-1} and can be assigned to the experimentally observed transition at 256 cm^{-1} in the spectrum of the *A* conformers. The respective transition for the *B* conformer is observed at a substantially higher frequency of 330 cm^{-1} , also in close agreement with the calculations. All other observed transitions are combination bands or overtones of the described modes and can be found in Table 5.5.

Table 5.5: Experimental ground state (S_0) intermolecular vibrational frequencies observed after excitation of all S_1 states and assignments of the motions. All frequencies are given in cm^{-1} .

Assignment	A	B	C(1)	D	E	F
	Gpy(out)	Gpy(up)	Gph(out)	anti(py)	anti(up)	Gph(up)
τ_1	43	41	60	60	55	
β_1	81	82	87	80	78	77
$2\tau_1$	86					
τ_2	133	128	128	87	88	128
$3\tau_1$	124					
$\beta_1+\tau_2$					168	
10b	177	176				
10a	215		201	212		
$N_{inv}/\tau_1/\tau_3$	238	238			232	
$\gamma\text{NH}/\tau_3$	256	330	331	240	327	
10b+ β_1		256				
$N_{inv}/\tau_1/\tau_2/\tau_3$	268	275	274			
τ_2+10b	311	304				

In the following we will give the assignments of the vibrational bands of the two Gph conformers [*C*(1) and *F*] (see traces *C* and *F* in Figure 5.5). The lowest frequency τ_1 band can only be observed in the spectrum of the *C*(1) conformer at 60 cm^{-1} . It is calculated at 71 cm^{-1} , considerably higher than the respective vibration in the Gpy conformers (see Table 5.2). The mode β_1 is observed for conformer *C*(1) at 87 cm^{-1} and for *F* at 77 cm^{-1} , in good agreement with the theoretical values of 93 and 80 cm^{-1} , respectively. They are close to the respective values of the Gpy conformers. The band at 128 cm^{-1} of both conformers is assigned to the τ_2 vibration.

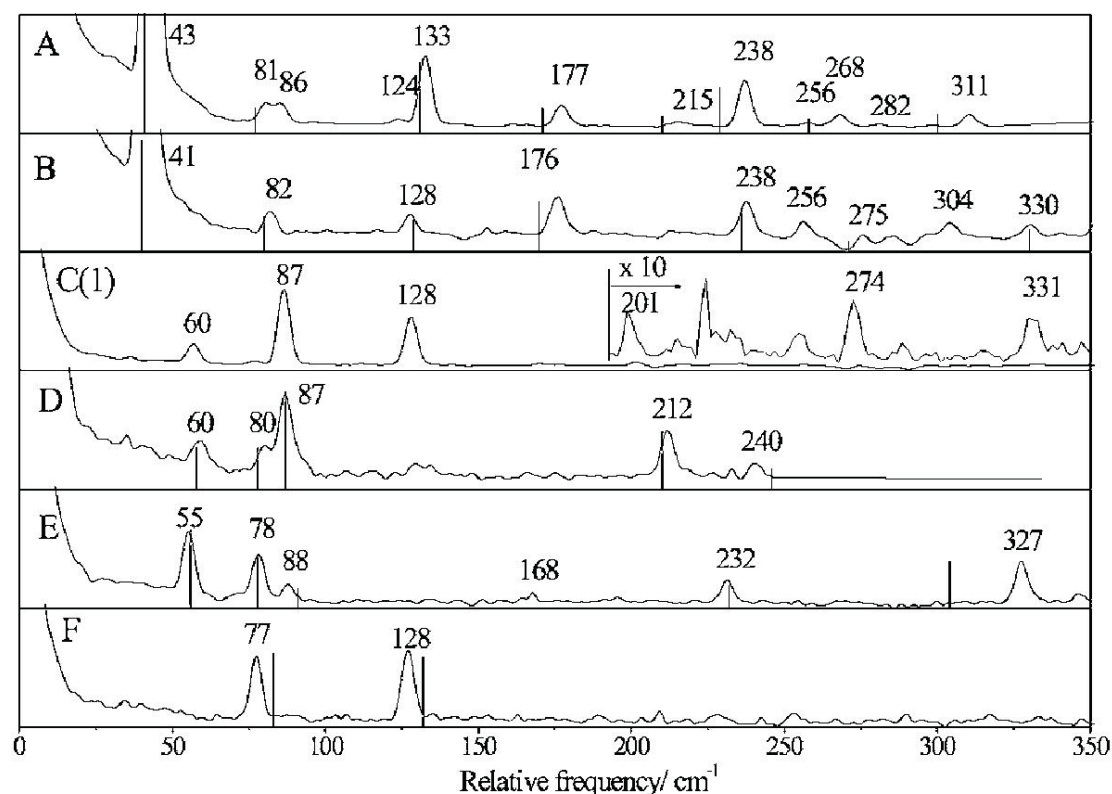


Figure 5.5: Fluorescence emission spectra obtained via excitation of the electronic origins of the conformers *A* to *F*. The vertical lines represent the MP2 calculated frequencies.

Also this vibration has nearly the same frequency in the Gpy and Gph conformers. The ring butterfly mode (10a) is observed at 201 cm^{-1} , and the $\gamma\text{NH}/\tau_3$ band at 331 cm^{-1} for the *C*(1) conformer. Both vibrations are too weak to be detected in the emission spectrum of the *F* conformer.

In the following we will discuss the vibrations of the anti conformers. Two of the anti conformers (ph and py) have been assigned differently in References [18, 21, 22]. Let us start with the anti(up) conformer, which is indisputably assigned to the *E* conformer by all groups and whose DF spectrum is shown in trace *E* of Figure 5.5. The lowest frequency mode τ_1 in the DF spectra of *E* is observed at 55 cm^{-1} . The β_1 mode of anti(up) is observed at 78 cm^{-1} , in perfect agreement with the MP2 calculations given in Table 5.2. While in the spectra of the Gpy and Gph conformers mode τ_2 is observed constantly around 130 cm^{-1} , this band shifts down to 88 cm^{-1} in the spectrum of the

anti(up) conformer. The mode $\gamma\text{NH}/\tau_3$ is assigned to the transition at 327 cm^{-1} . According to the results of rotationally resolved LIF spectroscopy in the groups of Nguyen *et al.* and Schmitt *et al.* the $C(2)$ band and the D band have to be assigned to the conformers anti(py) and anti(ph), [21] or vice versa. [22] In the emission spectrum of the D band the τ_1 vibration is found at 60 cm^{-1} , close to the theoretical value of 58 cm^{-1} for both the anti(py) and anti(ph) conformers from Table 5.2. The second torsional mode is shifted down to 78 cm^{-1} for anti(py), like in the spectrum of the anti(up) conformer, and down to 80 cm^{-1} for anti(ph). Therefore, this mode serves as good indicator whether the observed conformer is Gpy/Gph on one hand side or one of the anti conformers. The $\gamma\text{NH}/\tau_3$ band of the D band is found experimentally at 240 cm^{-1} , which is the lowest value of this vibrational frequency for all conformers, in good agreement with calculated frequencies of 246 cm^{-1} for anti(py) and 247 cm^{-1} for anti(ph). The largest calculated difference of vibrational frequencies for the modes of anti(py) and anti(ph) is 6 cm^{-1} . Therefore, no distinction between the different assignments for the bands can be made on the basis of the DF spectra. We also tried to obtain dispersed fluorescence spectra upon excitation of the $C(2)$ band, but no difference in the emission spectra could be obtained upon shifting the excitation wavelength from the maximum of the C band successively to the blue. The strongest bands, which can be expected for the $C(2)$ band independent of the assignment of this band to anti(py) or anti(ph), should be the τ_1 and the τ_2 vibrations. Unfortunately, τ_1 coincides with the same vibration of $C(1)$, while the predicted value of 87 cm^{-1} for the τ_2 vibration coincides with that of the β_1 vibration of $C(1)$. Thus, only slightly changed intensities of the $C(1)$ and $C(2)$ bands can be expected, which are not sufficient for a distinction of the two conformers.

5.5.2 Emission spectra through excited vibronic bands

Figure 5.6 shows the DF spectra, which are obtained via excitation of the vibronic bands at 40, 124, and 228 cm^{-1} of the Gpy(out) conformer. The propensity rule immediately allows the assignment of the vibration τ_1 to the excited state band at 40 cm^{-1} , of the vibration τ_2 to the excited state band at 124 cm^{-1} , and of the vibration $N_{\text{inv}}/\tau_1/\tau_3$ to the excited state band at 228 cm^{-1} .

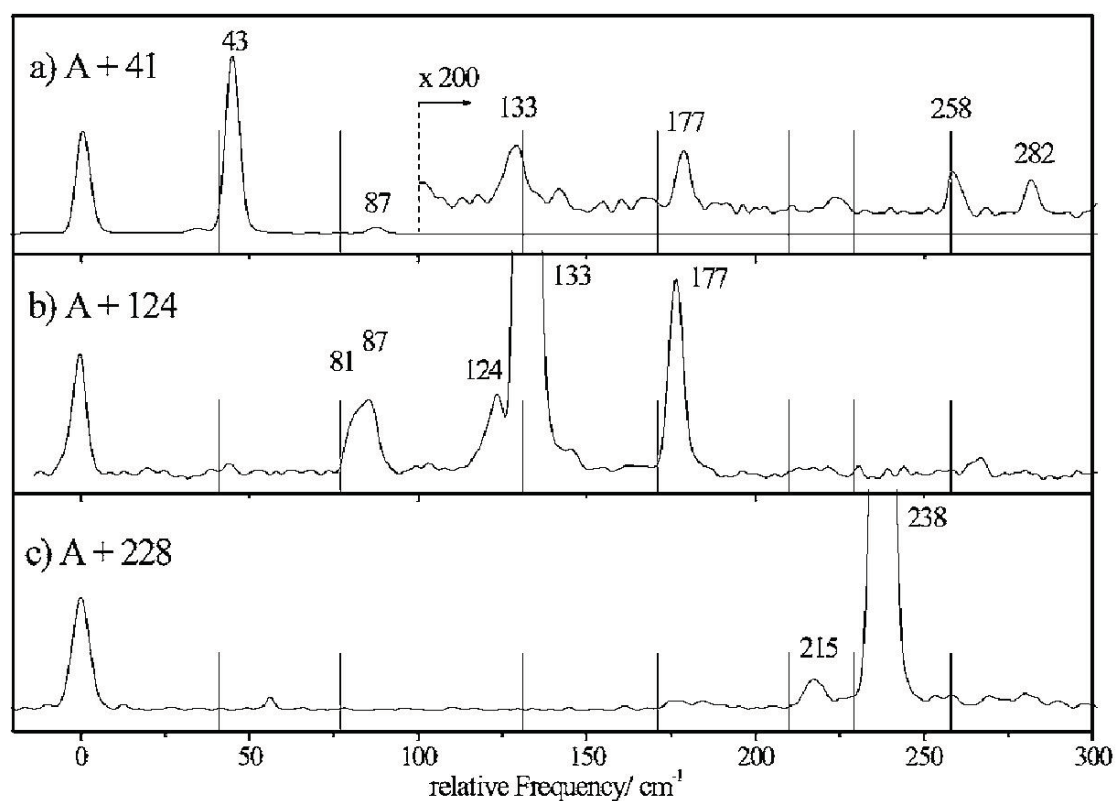


Figure 5.6: Fluorescence emission spectra obtained via excitation of the vibronic bands 0,0+41, 0,0+124, and 0,0+228 of conformer *A*. The vertical lines represent the MP2 calculated frequencies.

The vibrational progression observed in the emission spectrum through the τ_1 mode

includes the (resonant) ${}^1_0\tau_1$, the ${}^1_1\tau_1$ at 43 cm^{-1} , and the ${}^1_2\tau_1$ transition at 86 cm^{-1} . Obviously, there is a strong anharmonic coupling between the τ_1 and the τ_2 mode, as can be inferred from the emission spectrum via the excited τ_2 mode. The strongest band in emission is the ${}^1_1\tau_2$ mode at 133 cm^{-1} , but additionally a long Franck-Condon progression in the τ_1 mode is observed, which continues until the ${}^1_3\tau_1$ transition at 124 cm^{-1} . The spectrum in trace *b* of Figure 5.6 also shows that the band at 177 cm^{-1} has to be attributed to a fundamental and not to a combination band of the 133 cm^{-1} band with one quantum of the τ_1 mode, since the fundamental of the τ_1 vibration is very weak in this spectrum, and only the first overtone at 87 cm^{-1} shows up with higher intensity.

5.6 Discussion

5.6.1 Systematics of the vibrations on the ethylamine backbone

Table 5.6: Schematic summary of the 24 vibrations of the ethylamino backbone of tryptamine.

No.	Vibrational mode	Range (cm ⁻¹)
4	Back bone vibrations	30-350
3	C/N-C stretching	700-1200
2	CCC/CCN bending	700-1200
3	CH ₂ /NH ₂ twist	900-1500
3	CH ₂ /NH ₂ wagging	900-1500
3	CH ₂ /NH ₂ bending	1400-1700
6	C/N-H stretching	3000-3500

A nonlinear molecule containing N atoms has $3N-6$ fundamental or normal modes of vibration. The ethylamine backbone of tryptamine with ten mass points (nine atoms and the indole ring) would have 24 different normal modes of vibration. The vibrations in Table 5.6 are arranged with the 24 motions in ascending frequency. Four ground state low-vibrational motions of the tryptamine conformers can be grouped, which include bending between the indole ring and the NH₂ group and three rotations of the alkylamino side chain: two around the C–C single bonds and one around the C–N bond. The C/N–C bond stretching and bending vibrations appear in the range between 700 and 1200 cm⁻¹. Twisting and wagging motions of the CH₂ and NH₂ groups are observed between 900 and 1500 cm⁻¹, while the respective bending

motions are located at higher frequencies between 1400 and 1700 cm^{-1} . The C/N–H stretching vibrations appear at the highest frequencies between 3000 and 3500 cm^{-1} . For the low frequency backbone vibrations, the amino group position (anti or *gauche*) with respect to the indole chromophore plays a major role. The frequency differences of the four backbone modes between the different conformers can be qualitatively explained by the changes in the force constants of the respective vibration. According to the observation, all anti conformers have lower vibrational frequencies in the mode τ_2 , which can be traced back to different force constants for this torsional motion.

The harmonic force constants of the mode τ_2 of anti(py), anti(ph), and anti(up) on the basis of *ab initio* calculations at the MP2/6-311G(*d,p*) level are 0.0100, 0.0090, and 0.0084 $\text{mdyn}/\text{\AA}$, respectively. The force constants of Gpy(out), Gpy(up), Gph(out), and Gph(up) are 0.0247, 0.0213, 0.0302, and 0.0242 $\text{mdyn}/\text{\AA}$, respectively, about three times as large as the force constants of the anti conformers. Consequently, the mode τ_2 of the anti conformers is observed at lower frequencies around 90 cm^{-1} , while for the *gauche* conformers vibrational frequencies around 130 cm^{-1} are observed. This reason for this effect is the interaction of the amino group of the backbone with the indole ring in the case of the *gauche* conformers, causing the τ_2 potential to be stiffer.

On the other hand, the τ_1 force constants of the Gpy conformers are small (0.004 $\text{mdyn}/\text{\AA}$ for both), and considerably larger for all three anti conformers (0.007 $\text{mdyn}/\text{\AA}$), while they are quite different for the two Gph conformers [0.011 $\text{mdyn}/\text{\AA}$ for Gph(out) and 0.06 $\text{mdyn}/\text{\AA}$ for Gph(up)], reflecting the ranges of the τ_1 frequencies in the different conformers. Compared to the large differences of the force constants, the reduced masses of the different conformers are quite similar and are thus not responsible for the experimentally observed differences.

5.7 Conclusions

We have assigned the low frequency backbone vibrations of tryptamine comparing the experimentally determined vibrational frequencies of six conformers to the results of *ab initio* calculations. The three torsional modes about the CC and CN bonds of the backbone allow to distinguish between the different conformers. As main reason for the different trends in vibrational frequencies for different conformers, we identified the different force constants due to the quite different interactions between the backbone and the chromophore. While the assignments of ground state vibrations on the basis of *ab initio* calculations is straightforward, excited state vibrations are harder to assign to a special mode, since the accuracy of theoretical methods for the excited states are generally smaller than for the ground state. Apart from comparison to the computed frequencies, intensity considerations based on the propensity rule guide the assignments of the excited state vibrations. Additionally, we could show that the vibronic corrections to the rotational constants in the electronically excited state contain sufficient information for an assignment of the torsional vibrations.

Acknowledgments

This work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft through SFB663 projects A2 and A4. The authors are grateful to Dr. Robert Brause for helpful discussions.

5.8 Supplementary Materials

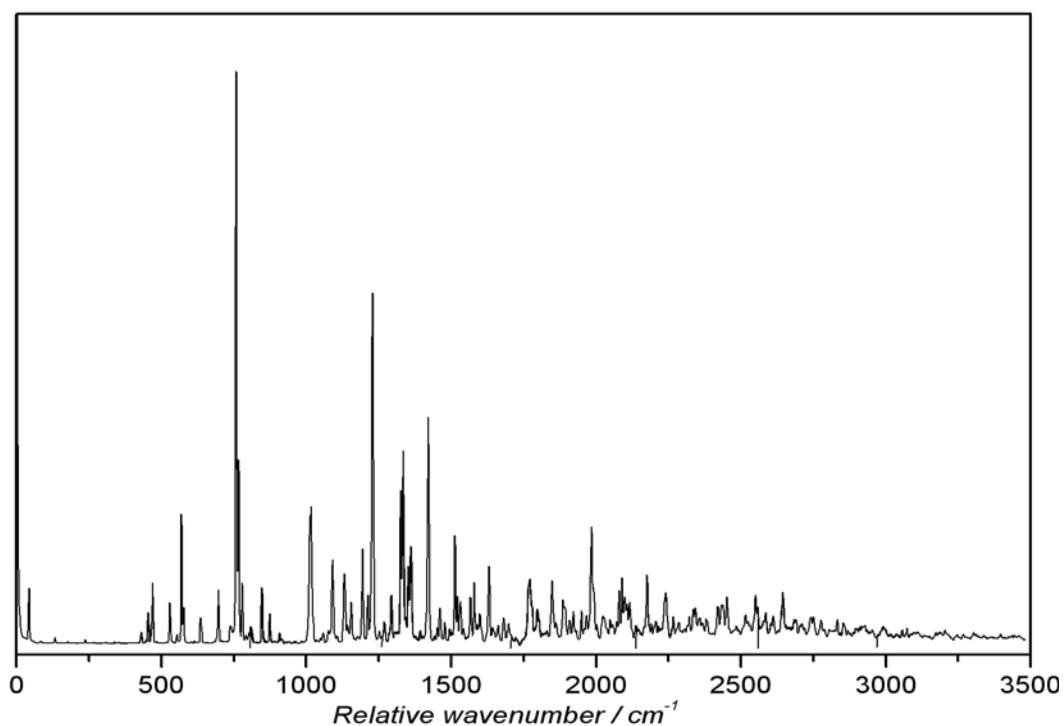


Figure 5.7: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer *A* of tryptamine.

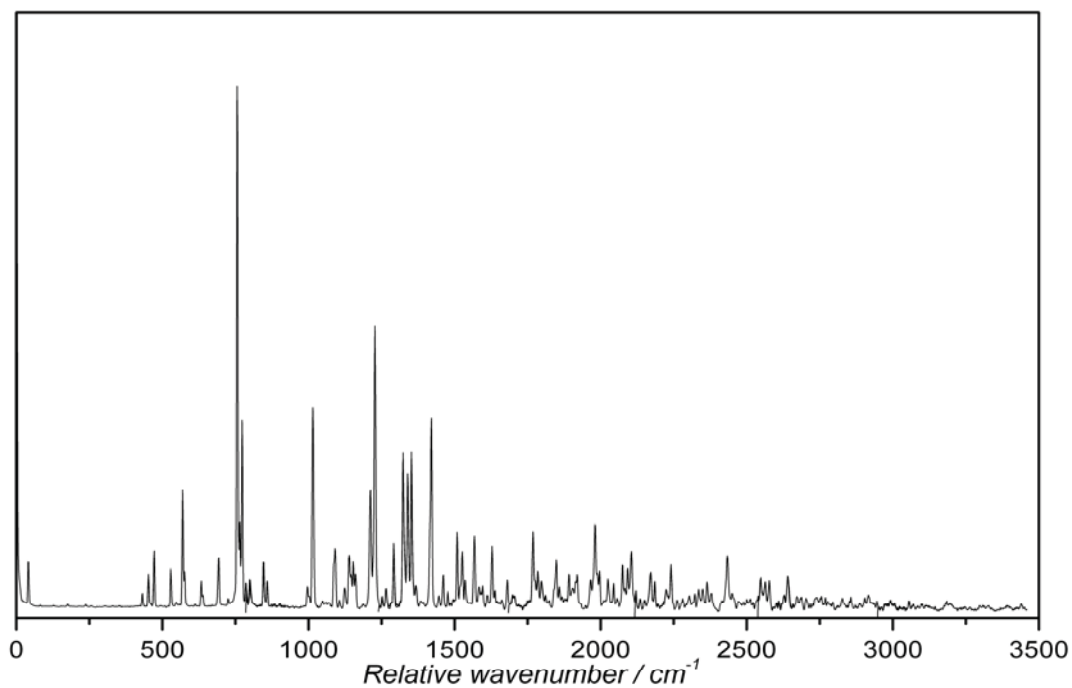


Figure 5.8: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the tryptamine conformer *B* of tryptamine.

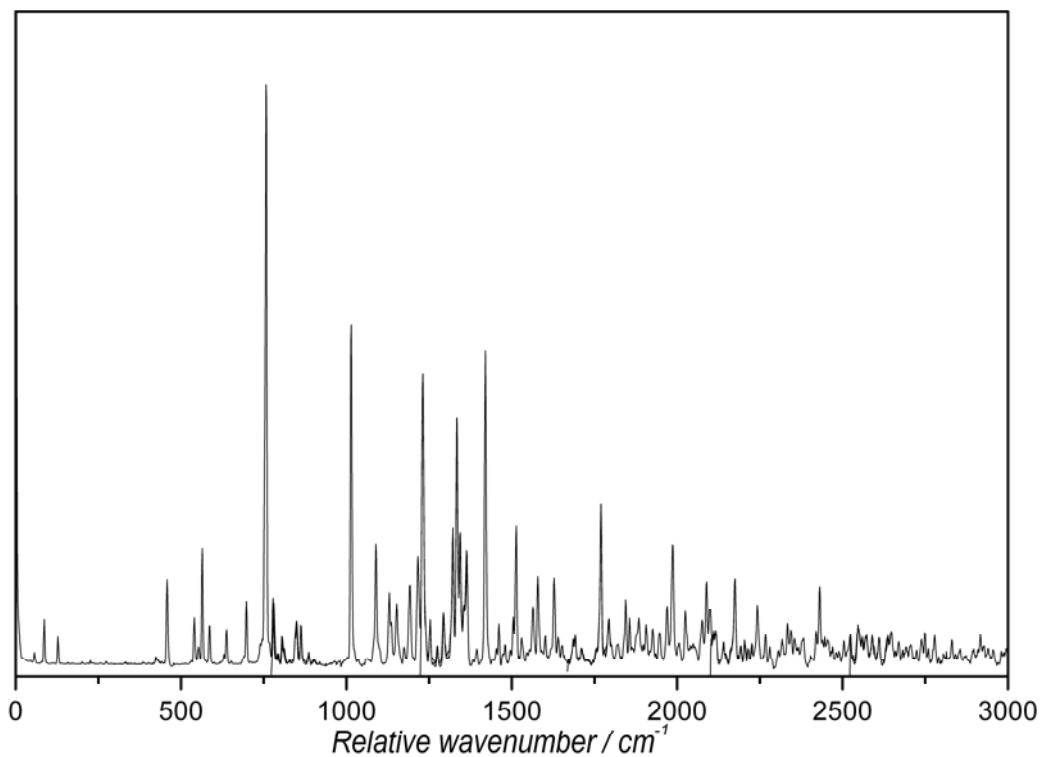


Figure 5.9: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer $C(1)$ of tryptamine.

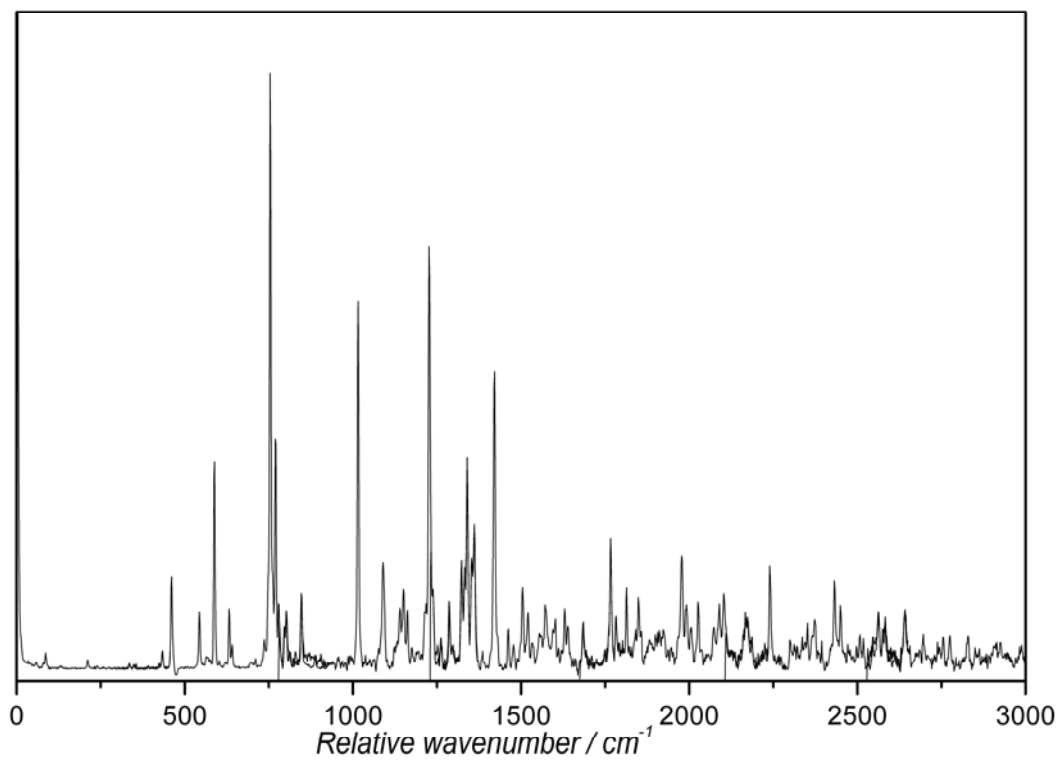


Figure 5.10: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer D of tryptamine.

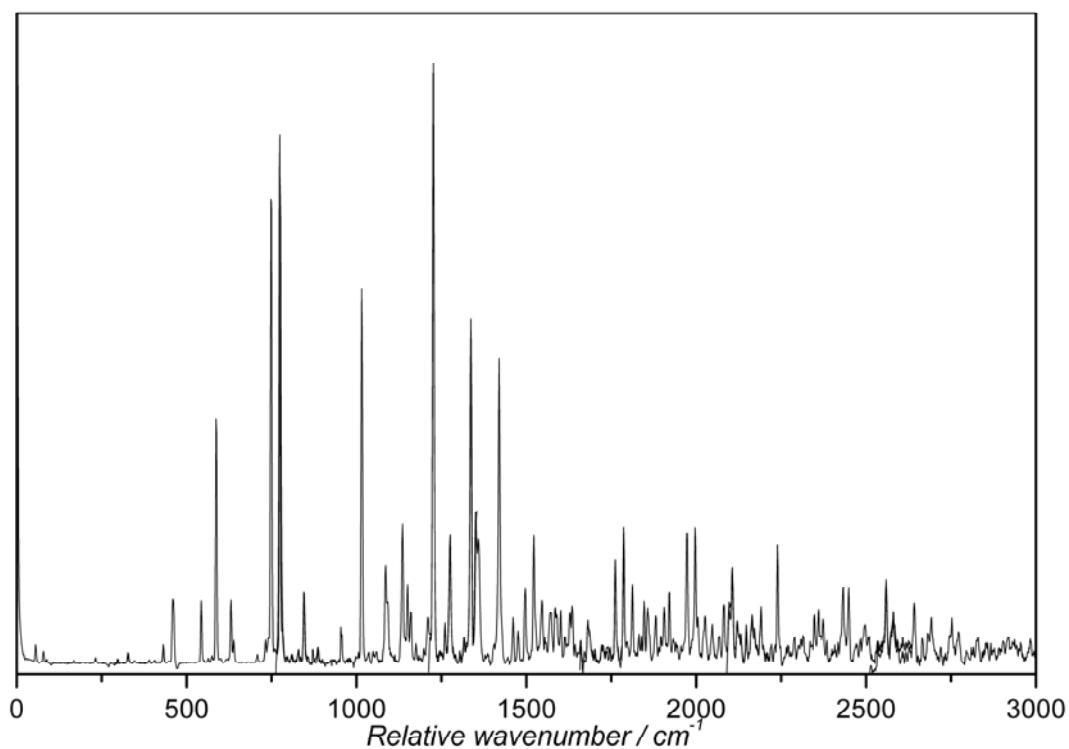


Figure 5.11: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer *E* of tryptamine.

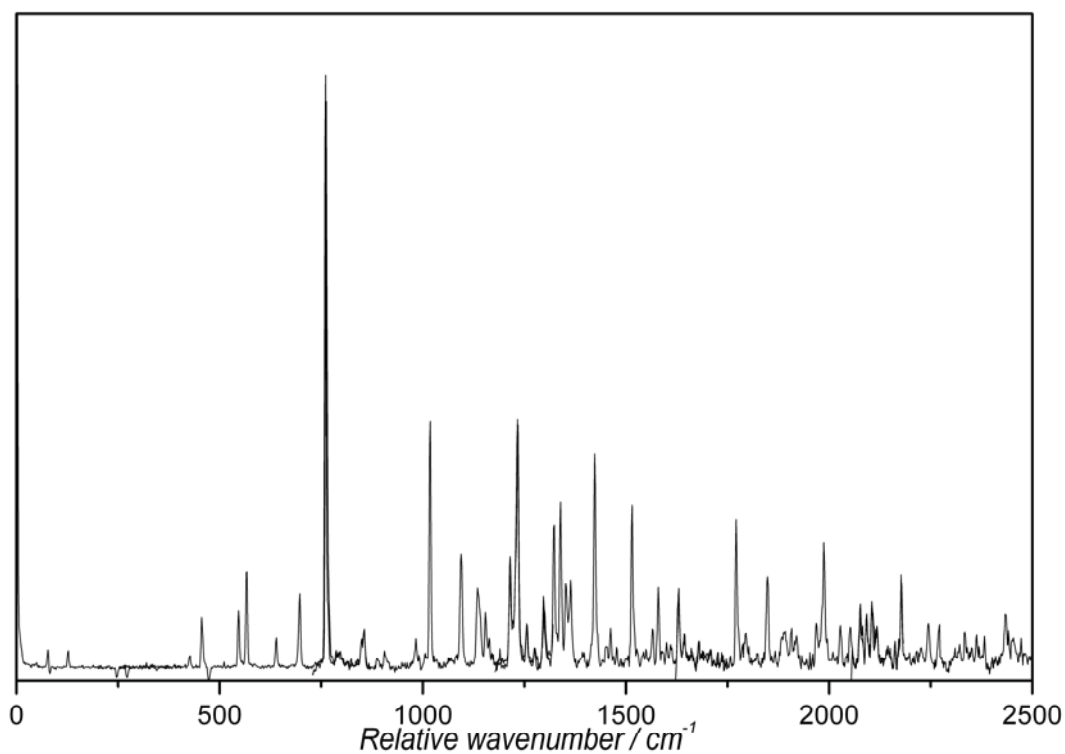


Figure 5.12: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer *F* of tryptamine.

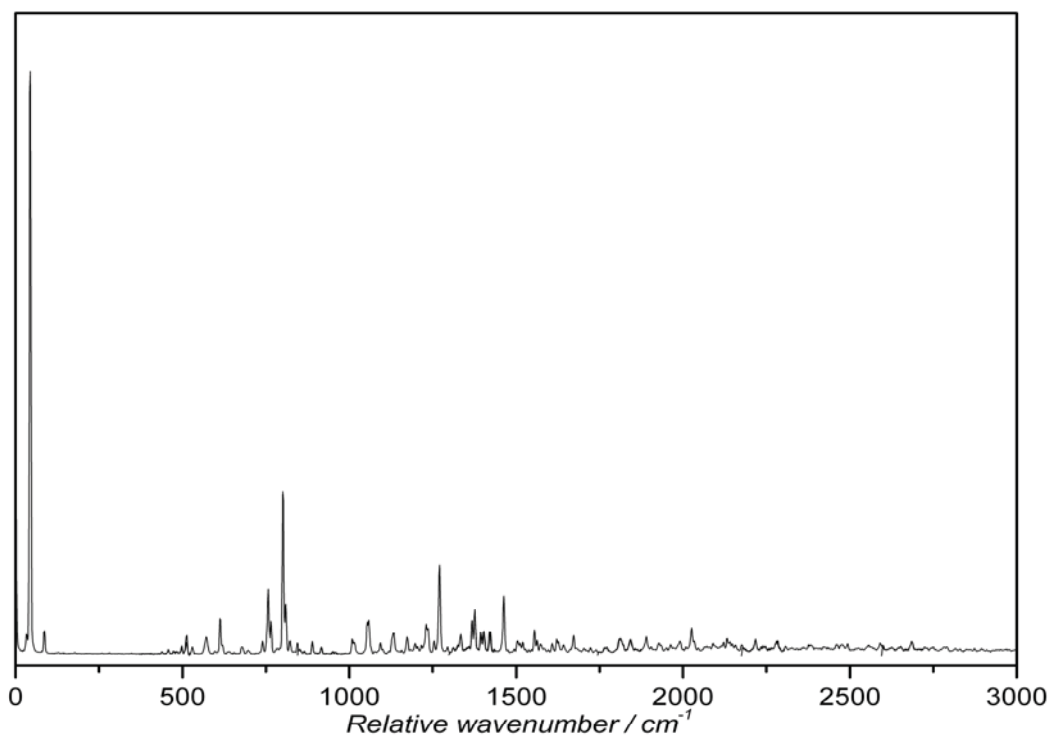


Figure 5.13: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 40 cm⁻¹ of tryptamine *A*.

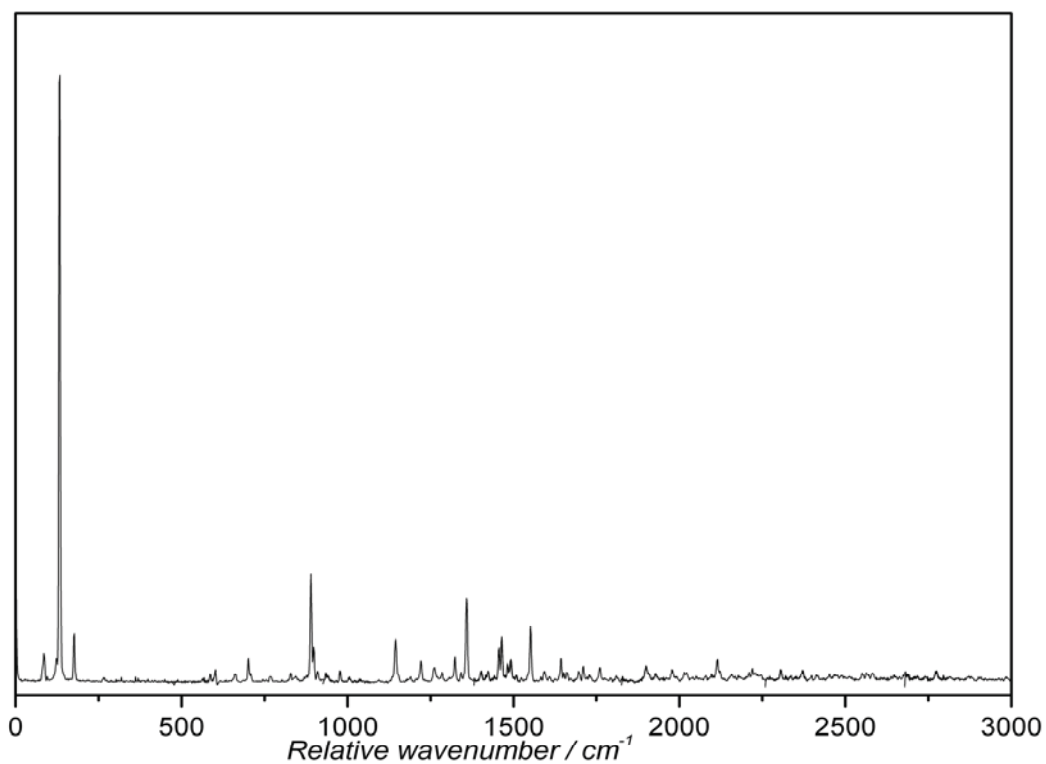


Figure 5.14: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 123 cm⁻¹ of tryptamine *A*.

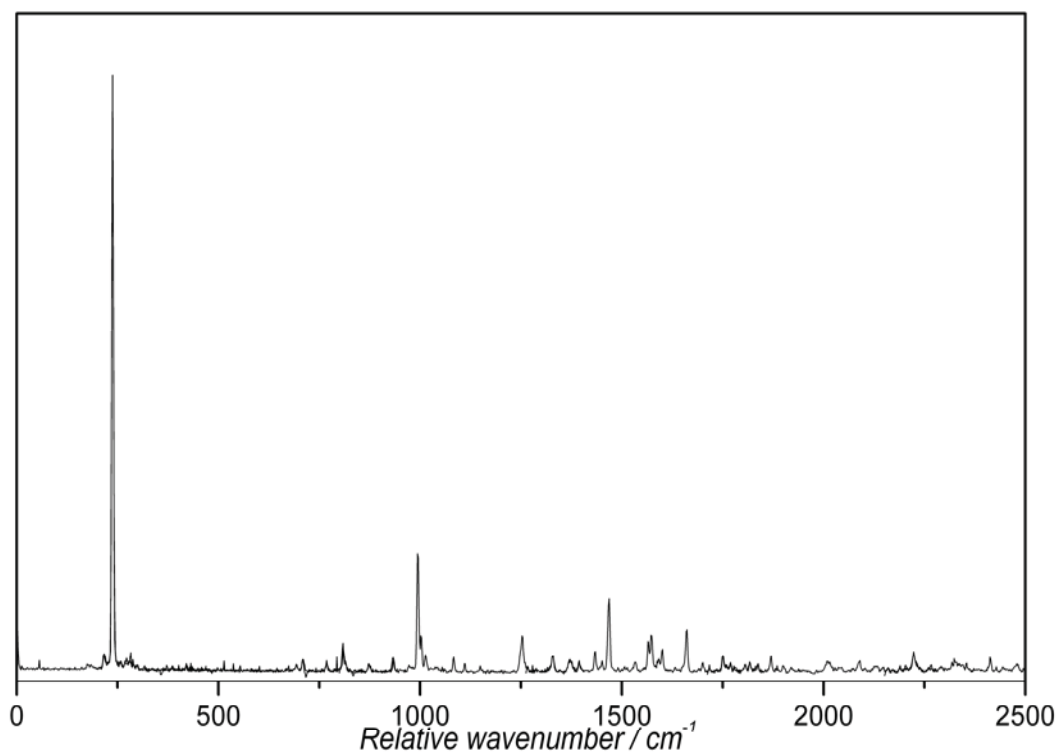


Figure 5.15: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 228 cm⁻¹ of tryptamine *A*.

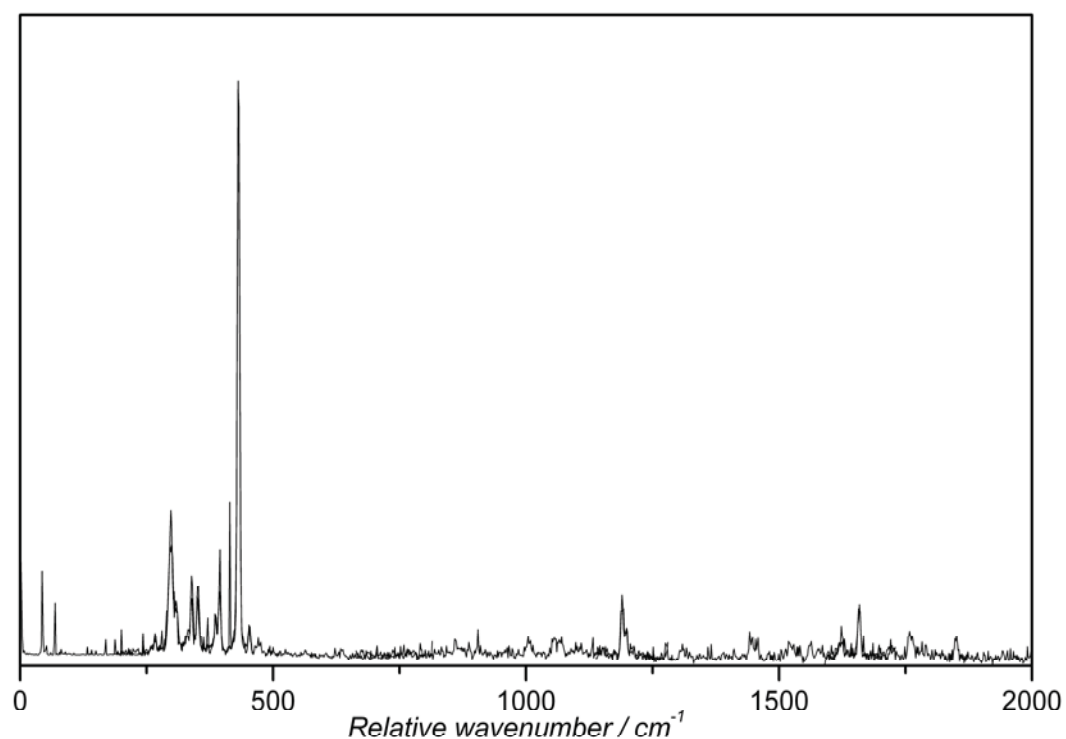


Figure 5.16: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 332 cm⁻¹ of tryptamine *A*.

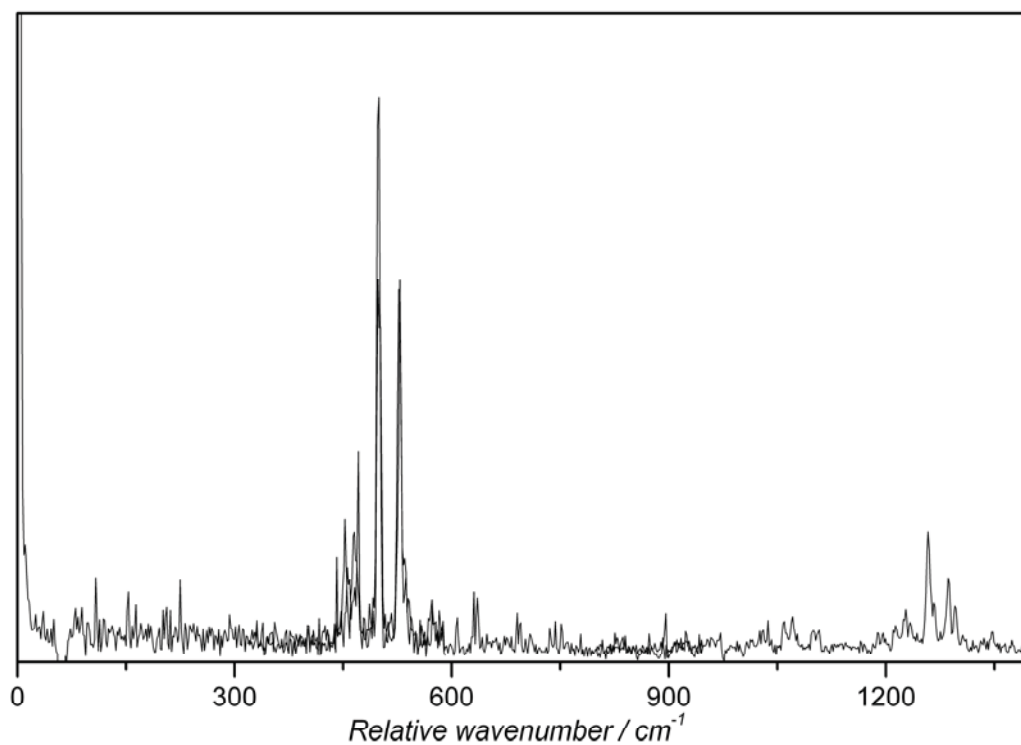


Figure 5.17: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 467 cm⁻¹ of tryptamine *A*.

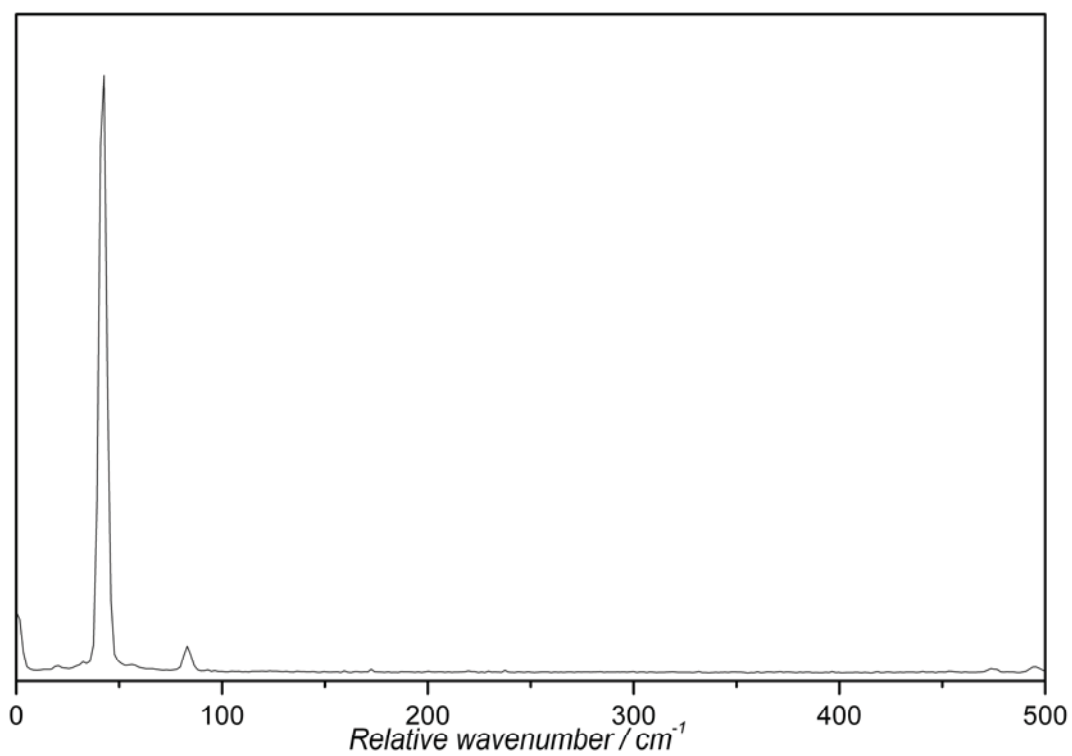


Figure 5.18: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 40 cm⁻¹ of tryptamine *B*.

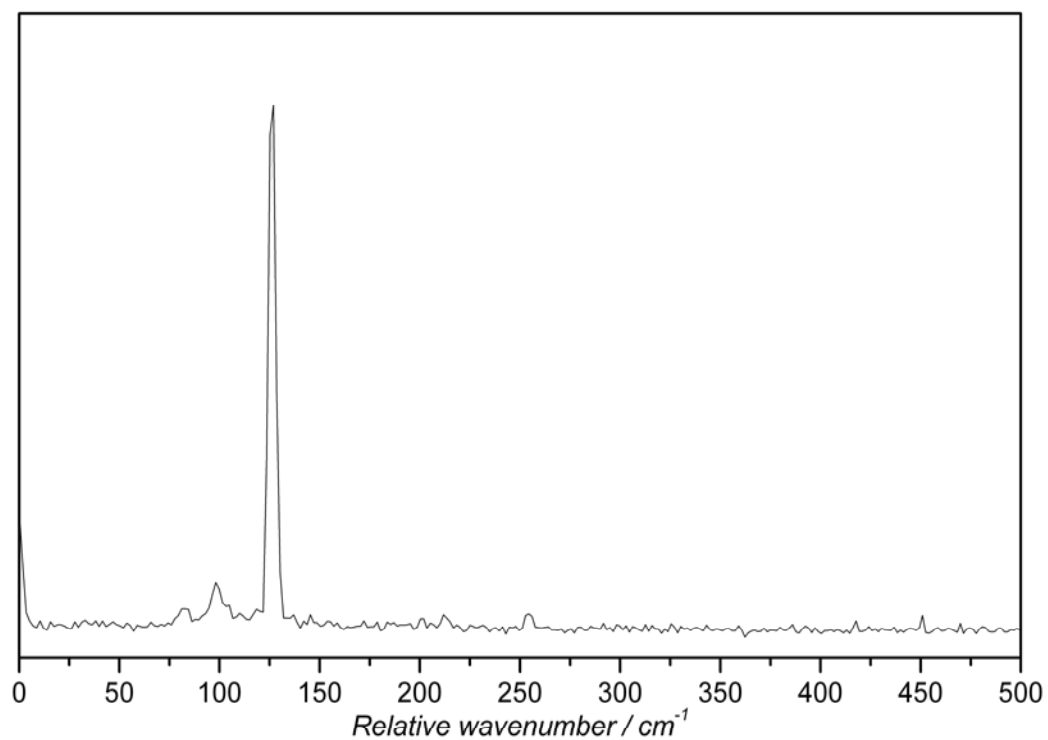
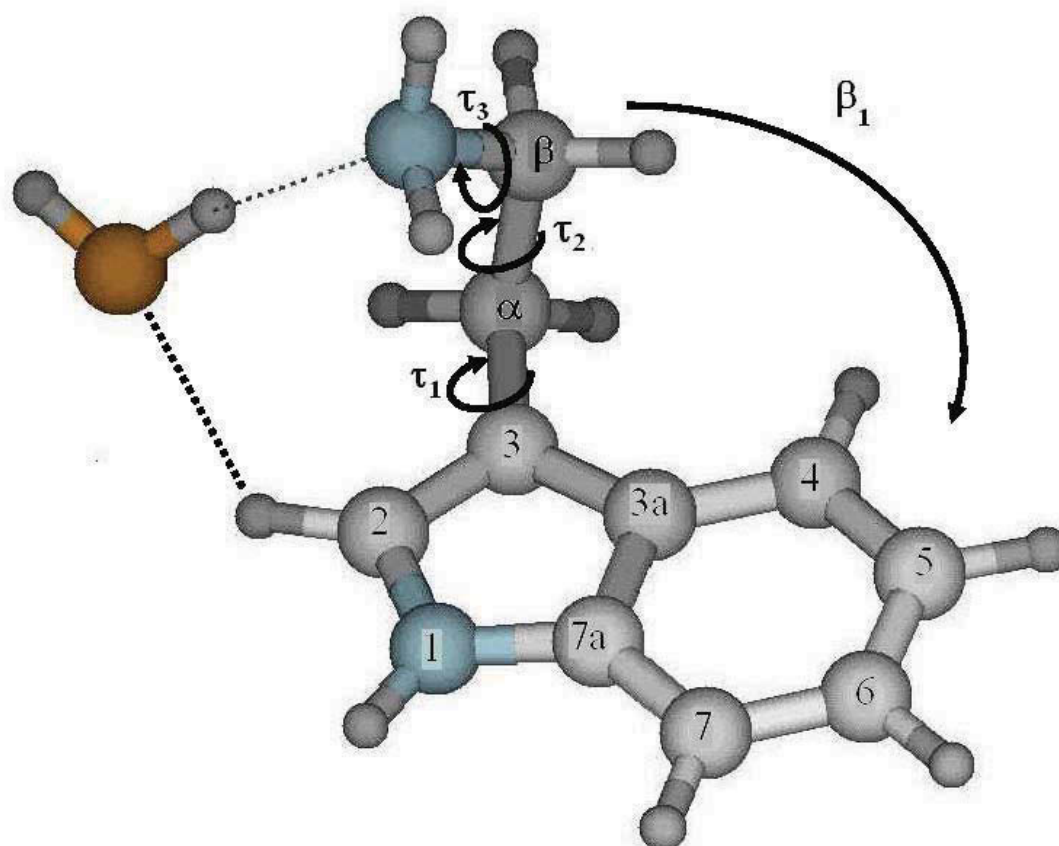


Figure 5.19: Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 119 cm⁻¹ of tryptamine *C*.

Kapitel 6

Tryptamin(H_2O)₁



Low frequency backbone vibrations in microhydrated tryptamine

Ke Feng and Karl Kleinermanns*

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,

Institut für Physikalische Chemie,

D-40225 Düsseldorf, Germany

Printed in Chemical Physics Letters (2009) by Elsevier B.V., Vol. 473,
220-222, doi: 10.1016/j.cplett.2009.03.081

Article history:

Received 27 January 2009

In final form 30 March 2009

Available online 2 April 2009

* Corresponding author. Fax: +49-221-8115195.

E-mail address: kleinermanns@uni-duesseldorf.de (K. Kleinermanns)

6.1 Abstract

The low frequency vibrations of the alkylamino backbone of microhydrated tryptamine have been studied using dispersed fluorescence spectroscopy and *ab initio* calculations and compared to the corresponding vibrations of bare tryptamine. The complete spectrum of torsional and librational motions of the backbone and a number of intermolecular tryptamine-water vibrations could be determined and assigned. The change of vibrational frequencies due to force constant change of the backbone vibrational motions upon conformational locking via microhydration and change of the reduced masses by the water attachment will be discussed.

6.2 Introduction

The neurotransmitter tryptamine, which is the decarboxylation product of the amino acid tryptophan, has 27 different conformers from 3-fold rotations around the different C-C and C-N bonds of the ethylamino backbone, see Figure 6.1. Seven conformers could be identified by IR-UV ion dip [18] and rotationally resolved electronic spectroscopy [21]. The low frequency vibrations of tryptamine in the terahertz frequency range are interesting, because they depend on the interaction between the indole chromophore and the backbone and may be related to peptide folding in larger systems [41]. It is well known that the conformational space of tryptamine collapses at ultralow temperature into a single conformer upon attaching a single water molecule [22, 42]. Microhydration should change the spectrum of the low frequency vibrations because the backbone motion can be expected to stiffen or loosen upon conformational locking by solvation (change of force constant) and their reduced

masses should change due to attachment of H₂O. In the present publication we will determine and assign the tryptamine backbone and tryptamine-water intermolecular vibrations and compare the results to the vibrational spectrum of bare tryptamine and to *ab initio* calculations.

6.3 Experimental and Theoretical Methods

The experimental apparatus used for dispersed fluorescence spectroscopy is described in Reference [27] in-depth. Therefore only a short description is given here. The fluorescence absorption and emission spectra are taken in a vacuum chamber pumped with a 2000 l/s oil diffusion pump. A Nd:YAG laser (Spectra Physics, Quanta Ray Indi) is used to pump a tunable dye laser (Lambda Physik, FL 3002). The laser light is frequency doubled and directed into the vacuum chamber, where it crosses the molecular beam at right angles. The sample is evaporated at 460 K and seeded into 2-3 bar Helium as carrier gas, and expanded through a pulsed nozzle with a 500 μm orifice (General Valve). In order to form water aggregates, the carrier gas was humidified. The helium was therefore led through a temperature controlled glass vessel, which was filled with water at -6°C (4.1 mbar H₂O). The emitted fluorescence light is collected perpendicularly to laser and molecular beam and focused by a two-lens system on the entrance slit of a 1 m monochromator (Jobin Yvon, grating with 2400 grooves/mm blazed at 400 nm for first order dispersion). For fluorescence excitation the monochromator is used in zero order as mirror and the fluorescence is recorded by a photomultiplier tube (Thorn EMI 97890A).

For fluorescence emission, the monochromator can be used in first or second order and the fluorescence is dispersed onto a charged-coupled device (CCD) detector [(Flame Star I CCD-chip (TH 7863, Thomson), 286x384 pixel (horizontal x vertical) with a pixel area of $23 \times 23 \mu\text{m}^2$]. The entrance slit was varied between 20 and 40 μm , depending on the intensity of the excited band. One dispersed fluorescence spectrum

is obtained by summing the signal of 200 laser pulses and subtracting the background that arises from scattered light. Fifty of these spectra are summed up for a better signal/noise ratio. Using the grating in first order allows imaging a DF spectrum of about 500 cm⁻¹ simultaneously.

The global structure of tryptamine(T) with one water molecule is known experimentally from Reference [22] and displayed schematically in Fig.1. This structure has been optimized at the MP2 level using the GAUSSIAN 03 program package [43] and second-order approximate coupled cluster (CC2) calculations within the resolution-of-the-identity (RI) approximation [44-47] with the TURBOMOLE program package (Version 5.8) [48-53]. The SCF convergence criterion used throughout the calculations was an energy change below 10⁻⁸ Hartree, while the convergence criterion for the gradient optimization of the molecular geometry was with gaussian $\delta E/\delta r < 1.5 \cdot 10^{-5}$ hartree/bohr and $\delta E/\delta \phi < 1.5 \cdot 10^{-5}$ hartree/degree, respectively and with TURBOMOLE $\delta E/\delta r < 1 \cdot 10^{-5}$ hartree/bohr and $\delta E/\delta \phi < 1 \cdot 10^{-5}$ hartree/degree, respectively. Poples 6-311G(d,p) basis set [54] was used for the MP2 calculations, while the RICC2 calculation was performed using the aug-cc-pVDZ [55] basis set. The harmonic vibrational frequencies have been calculated using gradients from the MP2 and RICC2 calculations, using analytical and numerical second derivatives, respectively, of the potential energy. The single-reference character of the wavefunction has been checked.

6.4 Results and Discussion

Figure 6.1 shows the fluorescence excitation spectrum of tryptamine(H_2O)₁ with electronic origin 0_0^0 at 34957 cm^{-1} and a vibronic transition at $0_0^0 + 34\text{ cm}^{-1}$. The assignment of these bands to the water cluster has already been accomplished by IR-UV ion dip and rotationally resolved electronic spectroscopy [22,56]. Structure and backbone vibrations of tryptamine(H_2O)₁ are shown in the inset of Figure 6.1. In the cluster, the water molecule acts as proton donor to the amino group and proton acceptor to a nearby aromatic C-H bond leading to selective stabilization of the conformer displayed in Figure 6.1. This conformer with the ethylamino group in *gauche* position to the pyrrole ring and the amino lone pair pointing away from the indole ring (Gpy(out)) is the most abundant monomer species and the sole structure observed for the water complex.

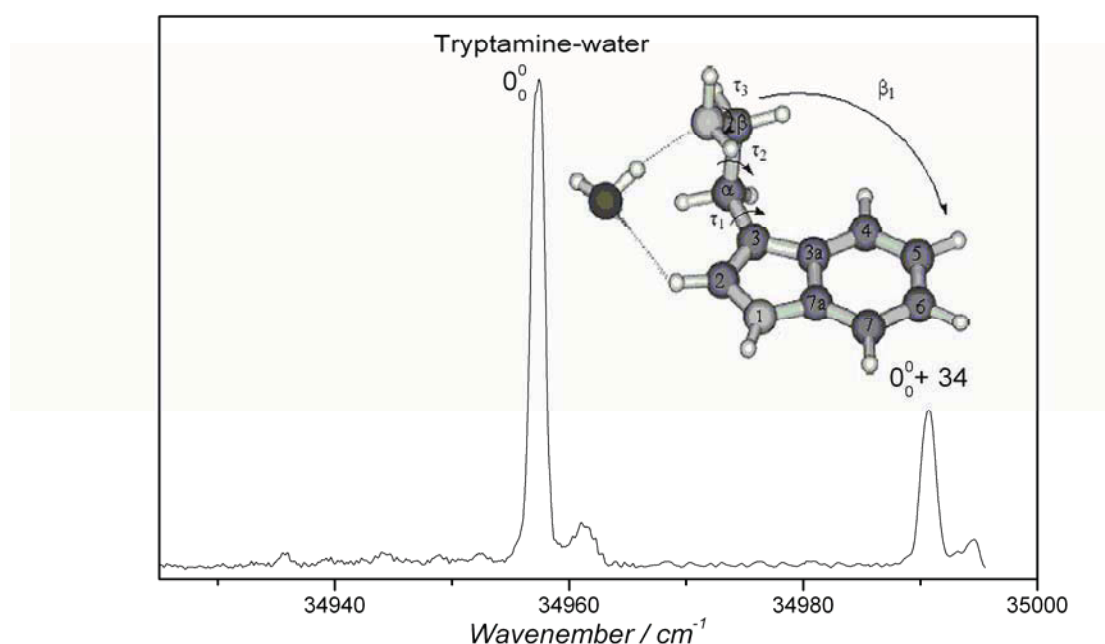


Figure 6.1: Fluorescence excitation spectrum of tryptamine(H_2O)₁.

The dispersed fluorescence (DF) spectra of bare tryptamine observed upon excitation at the electronic origin of Gpy(out) and of Gpy(out)(H₂O)₁ excited at the electronic origin and the lowest vibronic band are presented in Figure 6.2 in the low frequency range 0-360 cm⁻¹. DF spectra of these species up to 3500 cm⁻¹ and vibronic assignments up to 1500 cm⁻¹ are given in the Supplementary material (see http://www-public.rz.uni-duesseldorf.de/%7Epc1/kleinermanns/archiv/supplementary_material.do c). The comparison shows the extensive change of the low frequency vibrational pattern of the Gpy(out) conformer upon microhydration with one water molecule. Upon excitation of Gpy(out)(H₂O)₁ at 0₀⁰ + 34 cm⁻¹, we observe Franck-Condon activity in the low frequency range only at 35 and 68 cm⁻¹ (overtone 2x35 cm⁻¹). Hence the vibration at 34 cm⁻¹ in the electronically excited state correlates with 35 cm⁻¹ in the S₀ state and has a similar frequency, since the geometry of the ethylamino backbone is not altered upon electronic excitation of the ¹L_b state [39].

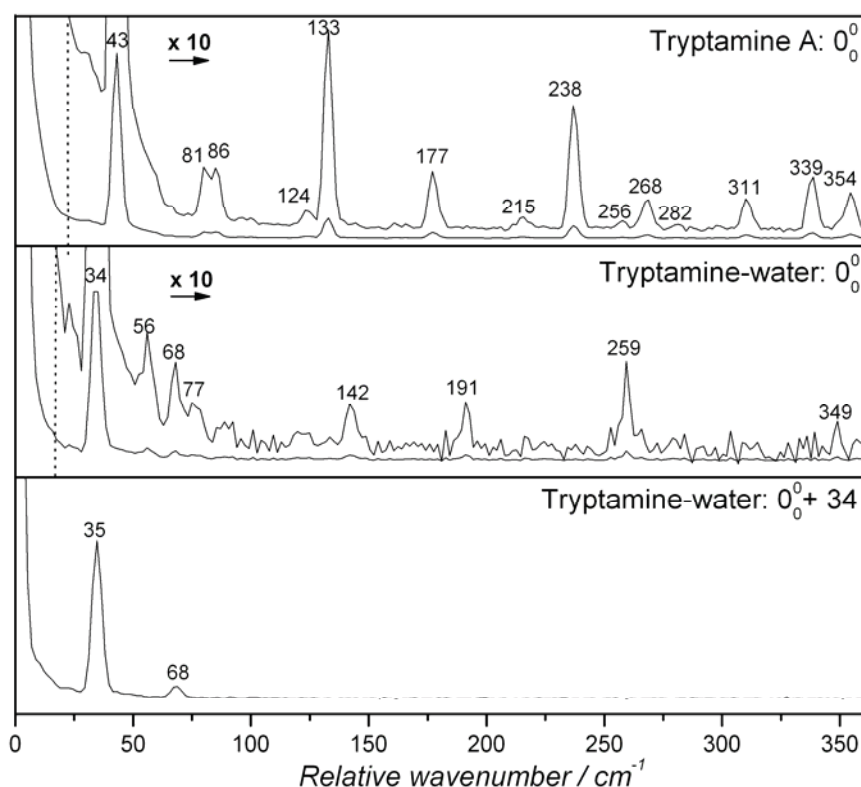


Figure 6.2: Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the electronic origin of conformer *A* of tryptamine, origin of tryptamine(H₂O)₁ and the vibronic transition + 34 cm⁻¹ of tryptamine(H₂O)₁. All vibrational frequencies are given in cm⁻¹.

The calculated harmonic vibrational frequencies in the electronic ground state of the Gpy(out) and Gpy(out)-H₂O₁ conformer, obtained from B3LYP and RICC2 calculations, are summarized in Table 6.1 along with the observed vibrational frequencies and mode assignments. Mode τ_1 can be pictured as torsional motion about the C₃-C _{α} bond, mode τ_2 as torsion about the C _{α} -C _{β} bond and mode NH_{inv}/ τ_3 as torsion about the C _{β} -N(amino) bond but with additive NH(indole) out-of-plane motion. Mode β_1 has prevailing character of a bending motion of the backbone relative to the indole ring. Modes 10a and 10b can be ascribed to butterfly and twisting motions of the indole ring. Mode $\sigma(\text{OH}\cdots\text{N})$ is the intermolecular stretch vibration between water and the amino group. $\tau(\text{H}_2\text{O})$ is the torsion about the twofold axis of water and $\beta_{1,2}(\text{H}_2\text{O})$ are rocking (in plane) and wagging (out of plane) motions of water relative to the backbone. B3LYP and RICC2 calculations agree quite well with regard to the mode character of most vibrations, however see Table 6.1 for differences.

Table 6.1: Electronic ground state vibrations, calculated at the RICC2 / aug-cc-pVDZ level and at the MP2 / 6-311G(d,p) level along with the assignments of the experimentally observed vibrational modes of the A conformer of tryptamine (T) and the tryptamine-water (T- H_2O) cluster. All frequencies are given in cm^{-1} and are unscaled. The numbering of the indole vibrations follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.

Assignment	calc (RICC2) T- H_2O	calc (MP2) T- H_2O	obs T- H_2O	obs T
τ_1	30	38	34	43
$\beta_1(H_2O)^*$	52	70	56	
$2\tau_1$			68	86
β_1	81	88	77	81
$\beta_2(H_2O)^*$	96	102		
$\tau(H_2O)$	130	184		
τ_2	146	144	142	133
10b	175	170		177
$\sigma(OH \cdots N)$	212	209	191	
10a	221	220		215
$NH_{inv}/\tau_1/\tau_3$	258	256	259	238
$NH_{inv}/\tau_3/\tau(H_2O)$	293	297		
$NH_{inv}/\tau_3/\tau(H_2O)$	348	326	349	339

$\beta_1(H_2O)^*$: in plane rocking at the MP2 level; out of plane wagging at the RICC2 level;

$\beta_2(H_2O)^*$: out of plane wagging (MP2); in plane rocking (RICC2).

The vibrational frequencies obtained from the two methods are also quite similar with the exception of the $\tau(H_2O)$ vibration which however is expected to be very anharmonic anyway [57] and could not be observed experimentally.

Table 6.2 breaks the four backbone vibrational frequencies down into force constants and reduced masses. In Reference [41] we could show that the backbone frequency differences between the different conformers can be qualitatively explained by the large changes in the force constants of the respective vibrations. The reduced masses of the different conformers are quite similar and thus not responsible for the

experimentally observed differences. All *gauche* conformers have considerable higher vibrational frequencies in the mode τ_2 because the interaction between the amino group of the backbone and the indole ring causes the τ_2 potential to be stiffer.

Table 6.2: Electronic ground state vibrational frequencies ν , force constants k and reduced masses μ of the low frequency bands of the tryptamine A conformer and the tryptamine-water cluster, calculated at the RICC2/aug-cc-pVDZ level. All frequencies ν are given in cm^{-1} , k in $\text{mdyn}/\text{\AA}$, μ in amu.

mode	Tryptamine conformer A			Tryptamine-Water Cluster		
	$\nu(\text{cm}^{-1})$	k	μ	$\nu(\text{cm}^{-1})$	k	μ
τ_1	42	0.0042	3.957	30	0.0029	5.405
β_1	83	0.0170	4.165	81	0.0160	4.088
τ_2	134	0.0269	2.526	146	0.0230	1.825
$\text{NH}_{\text{inv}}/\tau_3/\tau(\text{H}_2\text{O})$	282	0.0655	1.399	293	0.0601	1.188

The comparison between the backbone vibrations of *one* conformer with and without water is not so clear-cut. Mode τ_1 has a considerably lower frequency in the water cluster both due to decrease of the force constant and increase of the reduced mass. The frequency of mode β_1 is essentially unchanged just as its force constant and reduced mass. Somewhat unexpected, mode τ_2 exhibits *increased* frequency upon hydration which can be traced back to a substantial decrease of the reduced mass similar as the cluster mode $\text{NH}_{\text{inv}}/\tau_3/\tau(\text{H}_2\text{O})$ does compared to the corresponding monomer mode $\text{NH}_{\text{inv}}/\tau_3$. Reduced masses are displacement weighted averages of the atomic masses and a reduction of reduced mass induced by hydration may imply a change of mode character towards smaller displacements of the backbone atoms, see Figure 6.3 for displacement vectors of the τ_2 vibrational mode. Hence again mode τ_2 is especially sensitive to backbone-indole interactions.

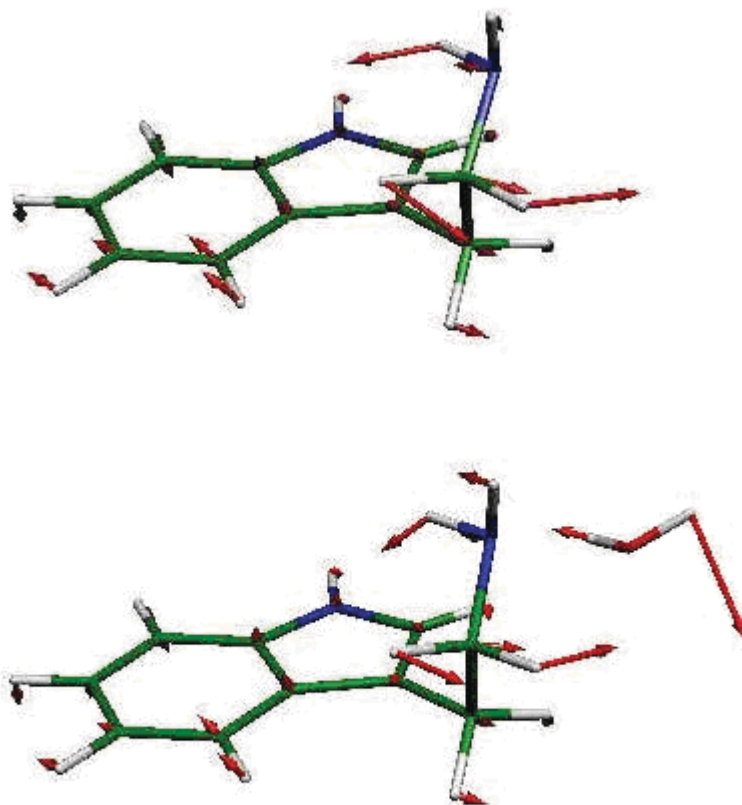


Figure 6.3: Vibrational mode τ_2 (torsion about the C_α - C_β bond) of tryptamine and tryptamine(H_2O)₁ as obtained from RICC2/aug-cc-pVDZ. Note the different displacements of the backbone atoms in the monomer and in the cluster.

We have presented first experimental and theoretical manifestations of the changes of the vibrational spectrum of a small biomolecule in the terahertz spectral range upon microhydration. Backbone vibrations shift and additional intermolecular vibrations appear upon formation of the water complex so that the low frequency vibrational spectrum changes considerable upon addition of one water molecule. In future work we want to extend our dispersed fluorescence measurements in the terahertz spectral range to larger biomolecules like small peptides and their clusters with water.

Acknowledgement

This work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft through project K1 531/22.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi: 10.1016/j.cplett.2009.03.081

6.5 Supplementary Materials

Table 6.3: Comparison between the calculated B3LYP/6-311G(d,p) ground state vibrational frequencies and experimentally observed vibrations of the DF spectrum. All frequencies are given in cm⁻¹. The numbering follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.

Assignment	calc	obs	Assignment	calc	obs
τ_1	38	34	vCC	926	
$\beta_1(\text{H}_2\text{O})$	70	56	NH ₂ wag	971	
$2\tau_1$		68	18b	1030	1011
β_1	88	77	$1+N_{inv}/\tau_3$		1017
$\beta_2(\text{H}_2\text{O})$	102		CH ₂ twist	1040	
τ_2	144	142	vCN	1104	1097
10b	170		δCH , NH	1120	
$\tau(\text{H}_2\text{O})$	184	191	δCH , NH	1123	1131
$\sigma(\text{OH}\cdots\text{N})$	209		18a	1156	1160
10a	220		9a	1173	
NH_{inv}/τ_2	256	259	NH ₂ twist	1181	
NH_{inv}/τ_3	297		CH ₂ twist	1239	1234
NH_{inv}/τ_3	326	349	13	1266	
$\gamma\text{NH}/16\text{b}$	367		3	1279	
16b	393		18b/CH, NH	1334	
4	410		$\gamma\text{NH}/16\text{a}+1$		1336
9b	460	441	C_βH_2 twist	1354	
CCN bend	470	460	$\text{C}_\alpha\text{H}_2$ wag	1386	
τ_3	487	486	3/vCC	1389	
6a/16a	534	532	C_βH_2 wag	1431	1424
6b/16a	560	570	14/ δNH	1448	
$\gamma\text{NH}/16\text{a}$	591	579	19a/ C_βH_2 bend	1471	
16a	623		$\text{C}_\alpha\text{H}_2$ bend	1493	
CCC bend	708	697	2*1	1515	
11	715		19a	1519	
1	769	757	C_βH_2 bend	1528	
17a	797		19a/ C_βH_2 bend	1534	
17a	802		vCC	1597	
γCH	829		8a	1619	
$1+\beta_1$		845	NH ₂ bend	1634	1630
17b	858	864	8b	1676	
5	879		H ₂ O bend	1720	
12	885			2*18b	1988
12	894				

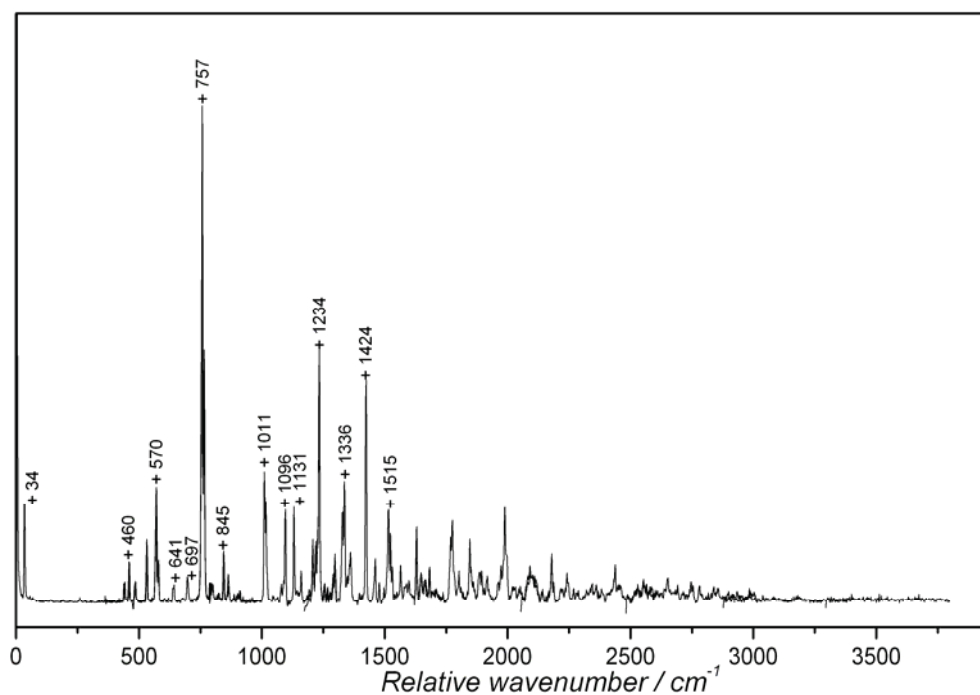


Figure 6.4: Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the electronic origin of tryptamine(H_2O)₁.

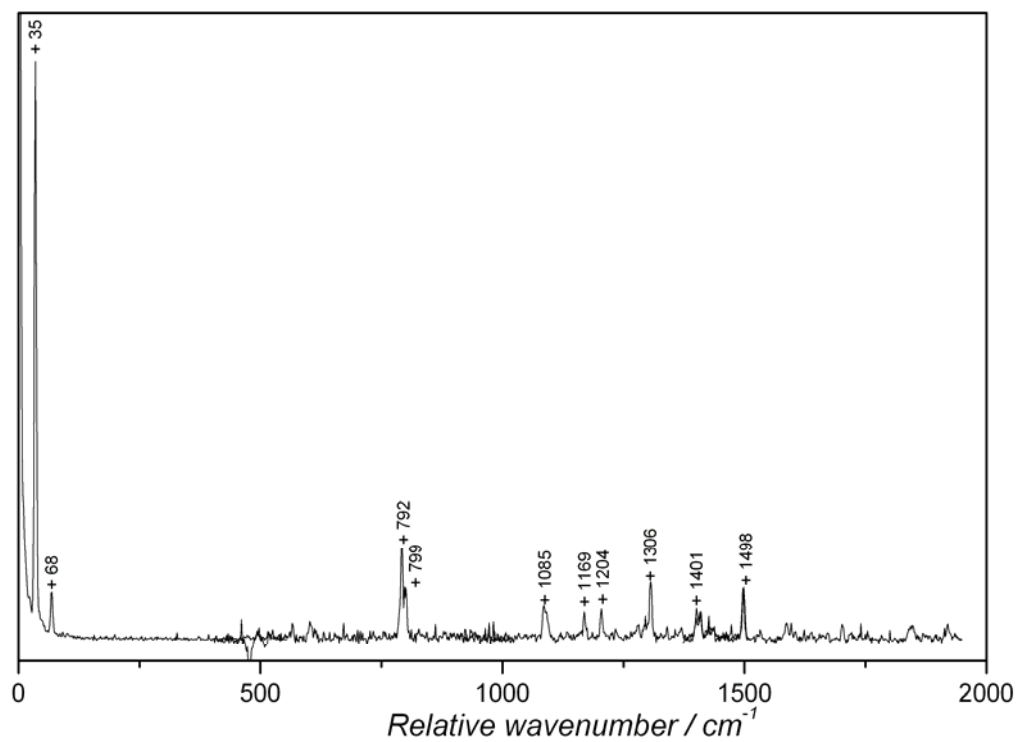


Figure 6.5 Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the vibronic transition +34 cm^{-1} of tryptamine(H_2O)₁.

**Dispersed fluorescence and delayed ionization of jet-cooled
2-aminopurine: Relaxation to a dark state causes weak fluorescence**

Ke Feng, Gernot Engler, Kai Seefeld, Karl Kleinermanns¹

**Heinrich-Heine-Universität
Institut für Physikalische Chemie I
D-40225 Düsseldorf, Germany.
Phone: +49 211 81 13812
Fax: +49 211 81 15195**

Printed in ChemPhysChem as Communication, August 2006, Vol. 125,
144303

¹ K. Feng, G. Engler, K. Seefeld, Prof. K. Kleinermanns
Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie I
Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf
40225 Düsseldorf (Germany)
Fax: +49 211 81 15195
E-mail: kleinermanns@uni-duesseldorf.de

7.1 Abstract

Relaxation from the excited $\pi\pi^*$ state to a $n\pi^*$ state in the singlet or triplet manifold reduces fluorescence of 2-aminopurine in the gas phase, but not in water.

7.2 Introduction

The four DNA bases have very low fluorescence and phosphorescence quantum yields in common, which are connected with pico- or femtosecond lifetimes of the electronically excited state caused by ultrafast internal conversion [58]. 9H-adenine for example shows very weak fluorescence [59] and a sudden break-off of vibrational structure in the electronic spectrum [60] which could be traced back to quenching of the excited state by internal conversion via a conical intersection between the lowest $^1\pi\pi^*$ state and the electronic ground state [61].

2-aminopurine (2AP) differs from adenine (6-aminopurine) only in the position of the amino group. Nevertheless there are important spectroscopic differences between the two, for example a nanosecond lifetime of the first excited $^1\pi\pi^*$ state of 2AP in water compared to subpicosecond lifetime of adenine [58,62,63] and an extended vibronic spectrum of 2AP [64]. The fluorescence quantum yield of 9H-2AP depends strongly on the solvent and the temperature [65]. It amounts to 0.86 and 0.55 in water and ethanol and decreases to 0.08 and 0.05 in acetonitrile and ethyl acetate which have a polarity like ethanol but are not capable of forming hydrogen bonds [65]. In aqueous solutions 9H-2AP fluorescence is about a thousand times more intense than the fluorescence of 9H-adenine [66]. Therefore 2AP is frequently used as a fluorescent probe [67] in DNA strands. The fluorescence intensity of 2AP decreases with increasing temperature in the

range 180 - 280 K demonstrating that a barrier has to be surmounted to enter the fluorescence loss channel in an ethanol matrix [65].

Considerable progress has been made to explain the different lifetimes and fluorescence intensities of adenine and 2AP. In 9H-adenine, fast internal conversion occurs via a conical intersection (CI) accessible just a few hundred wavenumbers (cm^{-1}) above the band origin. The minimum energy path towards the CI is characterized by a strong puckering of the six-membered purine ring with pyramidalization of the carbon atom in position 2 [61]. Upon ring puckering in 9H-2AP, the amino group in position 2 loses its property of stabilizing the $\pi\pi^*$ state because the lone-pair electrons at the N-atom do not interact with the π -system anymore [64]. Therefore the conical intersection occurs in 9H-2AP at higher energies than in 9H-adenine and a considerable barrier separates the Franck-Condon region from the conical intersection with the electronic ground state according to DFT/MRCI calculations [64]. Similar results have been obtained with the CASPT2 method [68,69]. Hence the barrier or rather absence of a barrier along a ring puckering pathway to internal conversion explains the main photophysical differences between 2AP and 6AP (adenine).

Up to now it remains unclear why the fluorescence quantum yield of 2AP in unpolar and in polar but aprotic solvents is lower than in protic solvents. DFT/MRCI calculations point to only a small energy gap between the $^1\pi\pi^*$ and $^1n\pi^*$ minima in 9H-adenine and 9H-2AP [61,64]. Indeed rotational contour analysis [70] and dispersed fluorescence (DF) measurements [59] in the gas phase revealed that the complex vibronic spectrum of adenine consists of nearby $\pi\pi^*$ and $n\pi^*$ bands. If this energetic ordering is also valid for 2AP fast relaxation of the initially excited optically bright $^1\pi\pi^*$ state to the dark $^1n\pi^*$ state may be a mechanism of fluorescence quenching in isolated or nonprotically solvated 2AP. Hydrogen bonds are known to lower the energy of $\pi\pi^*$ states considerably while the $n\pi^*$ energy is increased. Therefore in protic solvents like water and ethanol there may be a barrier between the $\pi\pi^*$ and $n\pi^*$ state of 2AP due to lowering of the $\pi\pi^*$ state below the $n\pi^*$ state, which would lead to an increase of the fluorescence. Measurements of linear dichroism of 2AP in a stretched polyvinylalcohol film demonstrated a somewhat higher energy of the $n\pi^*$ state relative

to the lowest $\pi\pi^*$ state in this environment [71]. Phosphorescence yields of 0.14 in an ether matrix and 0.02 in an ethanol matrix were observed at 90 °K hence ISC to the triplet state seems to be quite efficient in a nonprotic environment [63].

Following these arguments we expect rather low fluorescence quantum yields in the gas phase similar to those in solvents without capability to form hydrogen bonds because relaxation to the $n\pi^*$ state or to a triplet state seems possible in isolated 2AP. Spectroscopy of molecules isolated and cooled to a few Kelvin in a supersonic jet is especially sensitive to the presence of even a small barrier separating electronic states because no collisions occur which can help to surmount the barrier. Furthermore excitation of single vibronic levels above the electronic origin allows excitation at defined energies.

The chromophore system of 9H-2AP is planar, merely the H-atoms of the amino group are slightly out of plane in the S_0 state [64]. Hence we expect primarily transitions to in plane vibrations in the electronic excitation and dispersed fluorescence (DF) spectrum. Intense DF transitions to out of plane vibrations of 9H-2AP can indicate coupling of the pumped $\pi\pi^*$ state to a state with perpendicular transition moment, for example $\pi\pi^*$ - $n\pi^*$ coupling. On the other hand observation merely of transitions to in plane vibrations indicates a barrier separating $\pi\pi^*$ and $n\pi^*$ state which cannot be surmounted at the low jet temperatures and excitation of single vibronic levels below the barrier. For obtaining information about possible $\pi\pi^*$ - $n\pi^*$ coupling we decided to disperse the fluorescence of jet-cooled 9H-2AP upon excitation of single vibronic levels with and without excess energy above the electronic origin of the $\pi\pi^*$ state.

7.3 Experimental section

A detailed description of the experimental apparatus for the dispersed fluorescence spectroscopy is given in Reference [72] and will therefore be described only briefly here. The fluorescence absorption and emission spectra are taken in a vacuum apparatus pumped with a 2000 l/s oil diffusion pump. A neodymium doped yttrium aluminum garnet Nd:YAG-laser (Spectra Physics, Quanta Ray Indi) is used to pump a tunable dye laser (Lambda-Physik, FL3002). The laser light is frequency doubled and directed into the vacuum chamber, where it crosses the molecular beam at right angles. The sample is evaporated at 510 K, seeded into 2 –3 bar helium as carrier gas, and expanded through a pulsed nozzle with a 500 μm orifice (General Valve). The emitted fluorescence light is collected perpendicularly to laser and molecular beam and is focused by a two-lens system on the entrance slit of a 1 m monochromator (Jobin Yvon, grating with 2400 grooves/mm blazed at 400 nm for first order). For fluorescence excitation the monochromator is used in zero order as mirror and the fluorescence is recorded by a photomultiplier tube (Thorn EMI 97890A).

For fluorescence emission, the monochromator can be used in first or second order and the fluorescence is dispersed onto a charged coupling device (CCD) detector [Flame Star I CCD-chip (TH7863, Thomson) 286x384 pixel (horizontal x vertical) with a pixel area of 23x23 μm^2]. The entrance slit was varied between 20 and 40 μm , depending on the intensity of the excited band. One dispersed fluorescence spectrum is obtained by summing the signal of 200 laser pulses and subtracting the background that emerges from scattered light. Fifty of these single spectra are summed up for a better signal/noise ratio. Using the grating in first order allows imaging a DF spectrum of about 500 cm^{-1} simultaneously.

The delayed ionization experiments were performed using tunable UV radiation from a frequency doubled, Nd:YAG-laser pumped dye laser for excitation and 193 nm from an ArF excimer laser (Neweks, PSX-501-2). For experimental details see Reference [73]. 2-Aminopurine (98 % purity) was purchased from Acros Organics and was used without further purification.

7.4 Results

7.4.1 Laser induced fluorescence spectrum of 2-Aminopurine

Figure 7.1 displays the electronic spectrum of jet-cooled 2AP detected by Laser Induced Fluorescence (LIF) and Resonance Enhanced Two Photon Ionization (R2PI).

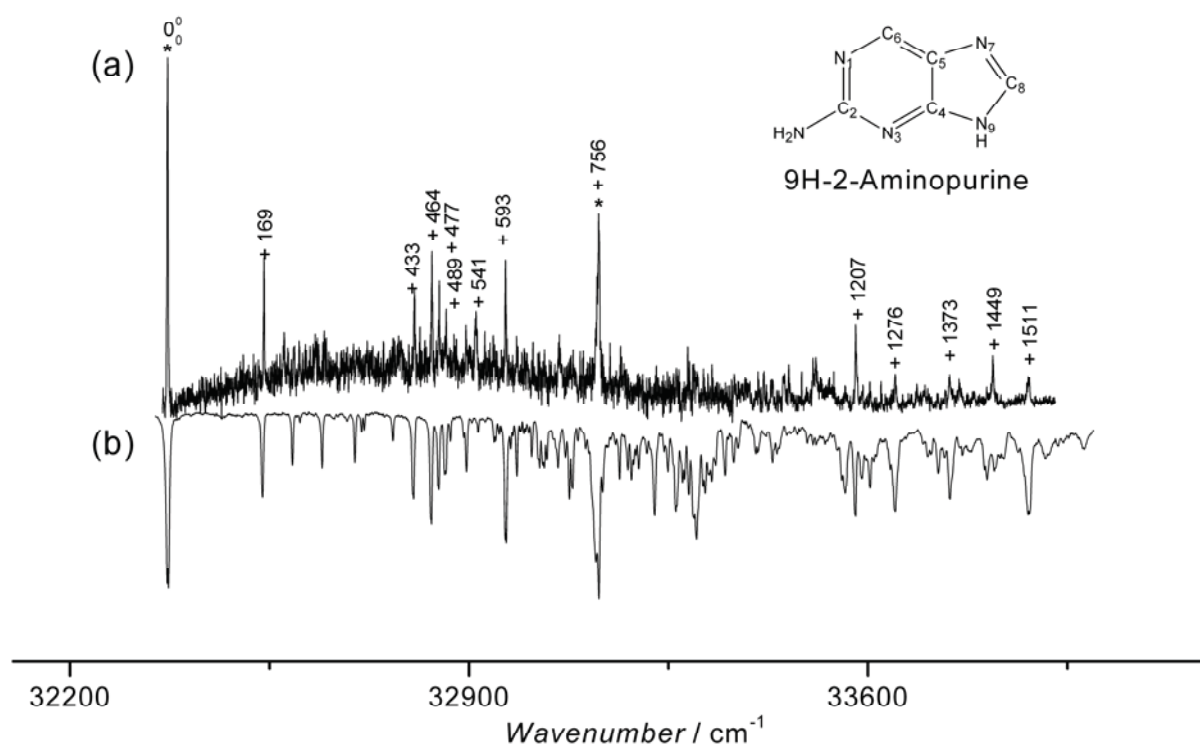


Figure 7.1: LIF (a) and REMPI (b) spectra of 2AP. The electronic origin 0_0^0 is at 32371 cm⁻¹. Bands marked with an asterisk are excited to obtain the dispersed fluorescence spectra.

In earlier investigations we could show by UV-UV ion dip spectroscopy that the electronic spectrum of 2AP in the investigated spectral range between 30300 and 34500 cm^{-1} belongs to only one tautomer which we could assign to 9H-2AP [64]. All bands in the LIF spectrum can be located in the R2PI spectrum at exactly the same wavenumber positions. Hence the LIF spectrum can be clearly attributed to 9H-2AP. While fluorescence quantum yields are hard or even impossible to determine quantitatively in jets it can be qualitatively stated here that the fluorescence of 9H-2AP is weak and difficult to detect in the gas phase.

7.4.2 Fluorescence emission spectra

Figure 7.2: shows dispersed fluorescence spectra of 2AP obtained by pumping the electronic origin 0_0^0 at 32371 cm^{-1} and the vibronic transition $0_0^0 + 756 \text{ cm}^{-1}$.

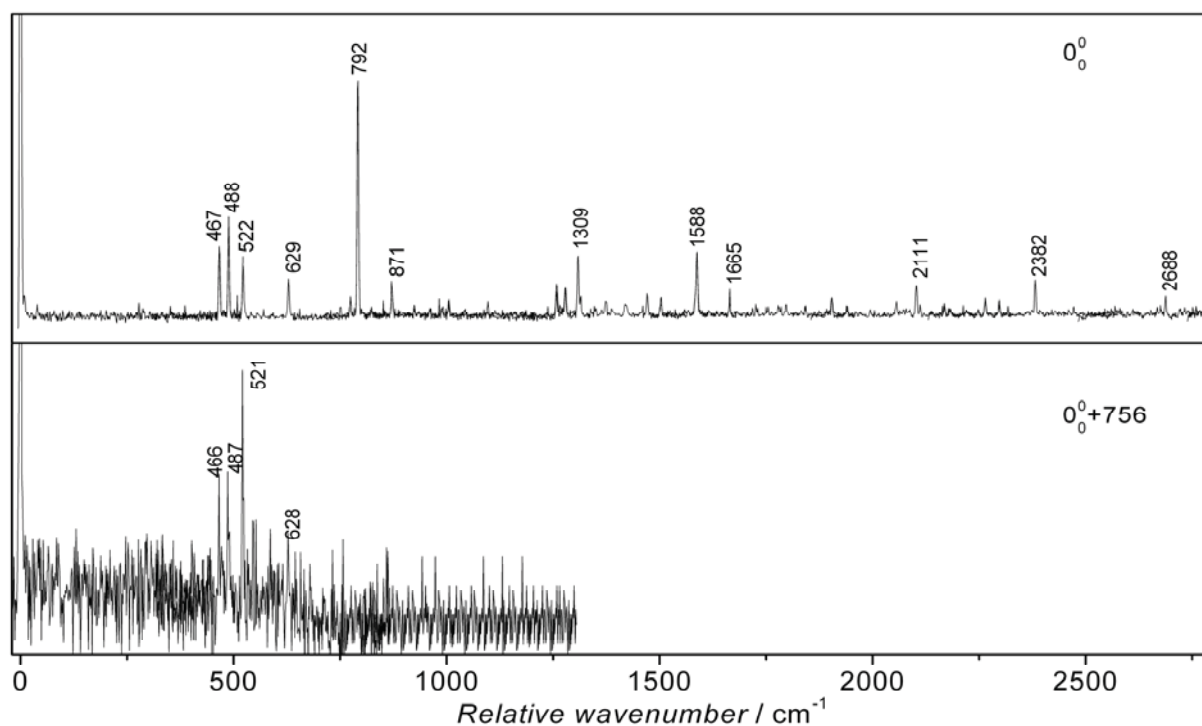


Figure 7.2: Dispersed fluorescence spectra of the electronic origin of 2AP and the vibronic band at 756 cm^{-1} . No fluorescence above 700 cm^{-1} could be observed upon dispersion of the $0_0^0 + 756 \text{ cm}^{-1}$ transition (shown here up to 1300 cm^{-1}).

The DF spectrum obtained by pumping the electronic origin extends up to 2688 cm^{-1} . The ground state vibrational frequencies calculated at the B3LYP/6-311G(d,p) level and the experimentally observed vibrational frequencies of the DF spectrum are compared in Table 7.1. The designation of the ring vibrations follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives. Table 7.1 shows that all intense DF bands can be assigned to transitions of in-plane vibrations of the aromatic ring which show however elements of amino group out of plane motion. The strongest vibronic transition at 792 cm^{-1} can be easily assigned to the in-plane ring breathing vibration 12 in the S_0 state. Both frequency and intensity indicate a correlation to the band at 756 cm^{-1} in the LIF spectrum however upon excitation at $0_0^0 + 756\text{ cm}^{-1}$ we could not detect any fluorescence above 628 cm^{-1} anymore. We merely observe some weak transitions to states of lower energy $6b \leftarrow 12$ and $6a \leftarrow 12$ with NH_2 torsional components, see Table I. Below $\sim 600\text{ cm}^{-1}$ we observe quite intense diffuse background in the DF spectrum upon $0_0^0 + 756\text{ cm}^{-1}$ excitation, see Figure 7.2 bottom part. We ascribe this characteristics to efficient intramolecular vibrational relaxation (IVR) upon excitation at 756 cm^{-1} excess energy due to coupling of the excited vibration 12 with dark background states of the pumped $\pi\pi^*$ transition and possibly also with the vibrational manifold of lower-lying states. The relaxed state causes diffuse low frequency emission. We calculated the harmonic vibrational state density of 2AP and obtained a significant increase to ≥ 1 state/ cm^{-1} at energies $> 700\text{ cm}^{-1}$. The weak fluorescence and the diffuse low frequency emission point to existence of a fluorescence loss channel to a dark state.

Table 7.1: Comparison between the calculated B3LYP/6-311G(d,p) ground state vibrational frequencies and experimentally observed vibrations of the single vibronic level DF spectrum. All frequencies are given in cm^{-1} . The designation of the vibrations follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.

Assignment	calc*	obs	obs/ calc	Assignment	calc	obs	obs/c alc
10a/ γNH_2	138			7a/ δNH	1322	1309	0.99
10a	214			7a/ δNH	1350		
NH_2 rocking	326			12 + 6a/ NH_2 torsion	1318	1315	1.00
10b	336			$\delta\text{C}_6\text{H}/\text{vCNH}_2$	1393	1374	0.99
NH_2 wagging	352			12 + 13	1420	1420	1.00
$\gamma\text{C}_6\text{H}$	434			NH_2 bend/ vCN	1444		
6b/ NH_2 torsion	453	467	1.03	$\delta\text{C}_8\text{H}/\text{vCN}/\text{NH}_2$ bend	1479	1471	0.99
NH_2 torsion	487	488	1.00	14	1548	1504	0.97
γNH	508			NH_2 bend	1573		
6a/ NH_2 torsion	512	522	1.02	vCN	1607	1588	0.99
13	614	629	1.02	12 + 15	1714	1665	0.97
$\gamma\text{C}_8\text{H}/\gamma\text{NH}$	631			7a/ δNH + 6b/ NH_2 torsion	1775	1778	1.00
4/16a	716			7a/ δNH + NH_2 torsion	1809	1797	0.99
1	777	774	1.00	12 + NH_2 torsion + 13	1907	1905	1.00
16a/4/ $\gamma\text{C}_8\text{H}$	789			7a/ δNH + 13	1936	1940	1.00
12	806	792	0.98	14 + NH_2 torsion	2035	1994	0.98
$\gamma\text{C}_8\text{H}$	822			6b/ NH_2 torsion + vCN	2060	2056	1.00
15	908	871	0.96	12 + 7a/ δNH	2128	2103	0.99
18b	938	924	0.99	6a/ NH_2 torsion + vCN	2119	2111	1.00
$\text{C}_6\text{H}_{\text{inv}}$	940			12 + $\delta\text{C}_6\text{H}/\text{vCNH}_2$	2199	2168	0.99
6b/ NH_2 torsion + 6a/ NH_2 torsion	965	990	1.03	6b/ NH_2 torsion ₂ + 7a/ δNH	2228	2247	1.01
$\text{C}_8\text{H}-\text{N}_9$ stretch	1023	1005	0.98	12 + 6b/ NH_2 torsion + $\text{C}_8\text{H}-\text{N}_9$ stretch	2282	2265	0.99
NH_2 rocking	1057	1044	0.99	12 + 14	2354	2297	0.98
6b/ NH_2 torsion + 13	1067	1097	1.03	12 + vCN	2413	2381	0.99
$\delta\text{C}_8\text{H}$	1151			vCN + 6b/ NH_2 torsion + 13	2674	2688	1.01
$\delta\text{C}_6\text{H}/\delta\text{C}_8\text{H}$	1238			vC_6H	3036		
$\delta\text{C}_6\text{H}$	1247			vC_8H	3110		
12 + 6b/ NH_2 torsion	1259	1258	1.00	v_sNH_2	3468		
$\delta\text{C}_6\text{H}/\delta\text{C}_8\text{H}$	1284			vNH	3513		
12 + NH_2 torsion	1293	1279	0.99	$\text{v}_{\text{as}}\text{NH}_2$	3590		

[a] The ab initio frequencies have been scaled with a factor of 0.9619; γ = out of plane deformation vibration; δ = in plane deformation vibration; v = stretch vibration

7.4.3 Delayed ionization of 2-aminopurine

Figure 7.3 shows that delayed ionization of 2-aminopurine is possible upon excitation of the electronic origin of 2AP at 32371 cm^{-1} (pump) and ionization at 193 nm (probe).

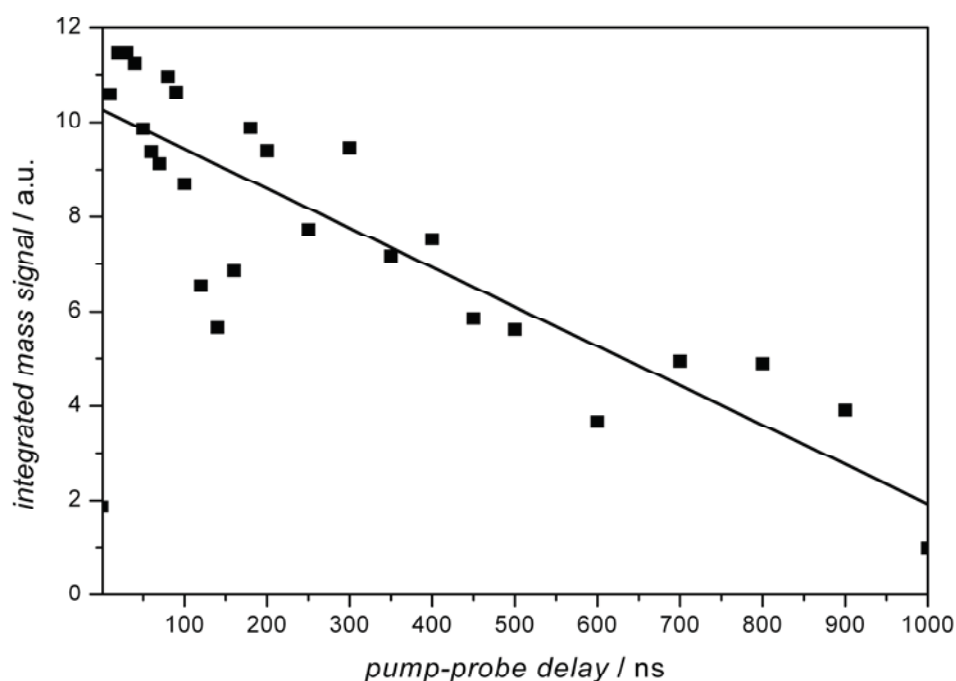


Figure 7.3: Delayed ionization of 2-aminopurine upon excitation of the electronic origin of 2AP at 32371 cm^{-1} (pump) and ionization at 193 nm (probe). The linear decay arises from the time-of-flight of 2AP out of the detection volume so that the lifetime of the dark state populated upon $\pi\pi^*$ excitation is $>1\text{ }\mu\text{s}$.

We observed that the two-color delayed ionization R2PI spectrum was ~ 100 times more intense than the one-color spectrum. The threshold for delayed ionization was detected at $\sim 252\text{ nm}$. The linear decay of the delayed ionization signal arises from the time-of-flight of 2AP out of the detection volume as an estimate of flight time and

detection volume shows. Hence only a lower limit of the lifetime of the state populated upon $\pi\pi^*$ excitation can be obtained. The measurements point to lifetimes $>1\ \mu\text{s}$. Hence a long-living state exists in 2AP which is populated via transfer from the pumped $\pi\pi^*$ state. This state is optically dark because we do not observe any hints of its spectrum in the R2PI measurements [64].

7.5 Discussion

In the following we discuss the low fluorescence intensity of aminopurine in the gas phase with reference to the observed LIF, DF and delayed ionization features. Possible dark states to which the excited $\pi\pi^*$ state can convert are $n\pi^*$, triplet and hot S_0 state. The electronic ground state S_0 is less probable because efficient delayed ionization was not only possible at 193 nm but also in the near UV at $\leq 252\ \text{nm}$. Ionization of hot S_0 state molecules is mostly only possible at short ionization wavelengths due to unfavourable Franck-Condon factors for near UV ionization. Furthermore LIF and REMPI spectra extend up to high energies so that the barrier for internal conversion to the S_0 state is more than $2000\ \text{cm}^{-1}$, see REMPI and UV-UV hole burning spectrum in Reference [64]. Fast internal conversion to the S_0 state inhibits REMPI and LIF detection.

A more probable path is relaxation to the $n\pi^*$ state. DFT/MRCI calculations indicate adiabatic excitation energies of 4.15 and 4.10 eV for the $\pi\pi^*$ and $n\pi^*$ state in vacuum, respectively [64], while CASPT2 calculations resulted in 3.69 and 4.33 eV [68], i.e. a reversed order. The electronic origin of our 2AP $\pi\pi^*$ -REMPI spectrum is at $32371\ \text{cm}^{-1}$ (4.01 eV). Although the $n\pi^*$ state is somewhat lower in energy at the DFT/MRCI level of theory it should be separated by a barrier from the $\pi\pi^*$ state because the $n\pi^*$ energy at the minimum geometry of the $\pi\pi^*$ state is substantially higher ($>4.5\ \text{eV}$) than the $n\pi^*$ minimum energy [64]. Hence a temperature or rather excess energy dependent pathway $^1\pi\pi^* \rightarrow ^1n\pi^*$ seems feasible followed possibly by Inter System Crossing (ISC)

from the $^1n\pi^*$ to the $^3\pi\pi^*$ state with large spin-orbit coupling coefficients. An alternative pathway to the triplet state is described in Reference [65] where the temperature dependence of the 2AP fluorescence was interpreted in terms of a transition from the optically excited $^1\pi\pi^*$ state to a higher lying $^3n\pi^*$ state separated by a barrier from the $^1\pi\pi^*$ state. Both ISC mechanisms can have large spin-orbit coupling elements and are temperature or excess energy dependant. Relaxation to the lowest triplet state followed by phosphorescence to the ground state [65] could finally close the cycle. Protic solvents might shift the $^1n\pi^*$ or $^3n\pi^*$ state to higher energies inaccessible to the excited $\pi\pi^*$ state which allows efficient fluorescence.

We tried to obtain LIF and R2PI spectra of 2AP with water in the jet expecting substantial increase of intensity and extension of the fluorescence spectrum because the energetic positions of $\pi\pi^*$ and $n\pi^*$ states change considerably upon hydration. However, we could not detect the ion mass of 2AP-water clusters with R2PI nor observed any new spectral features at the monomer mass which could result from fragmentation of the 2AP-water ions. Either water clusters are not formed to any substantial amount in our experiment or decompose upon electronic excitation to neutral moieties which cannot be ionized efficiently at our excitation conditions. Anyway relaxation of 2AP to a long-living dark state is obvious in isolated 2AP and the most probable candidate is a $n\pi^*$ state in the singlet or triplet manifold. In H-bonded chromophores $\pi\pi^*$ states generally shift red and $n\pi^*$ states shift blue so that we propose hindrance of $\pi\pi^*-n\pi^*$ relaxation by a barrier in protic solvents leading to intense fluorescence while uninhibited $\pi\pi^*-n\pi^*$ relaxation in the gas phase and in non-protic solvents leads to weak fluorescence.

Acknowledgment

The authors thank the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 663) for financial support.

Kapitel 8

Nichtveröffentliche Ergebnisse

8.1 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

8.1.1 Einführung

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol ist Baustein vieler Alkaloide, vor allem von Indol-, Carbazol-, β -Carbolin- und Isochinolin-Alkaloiden. [74]

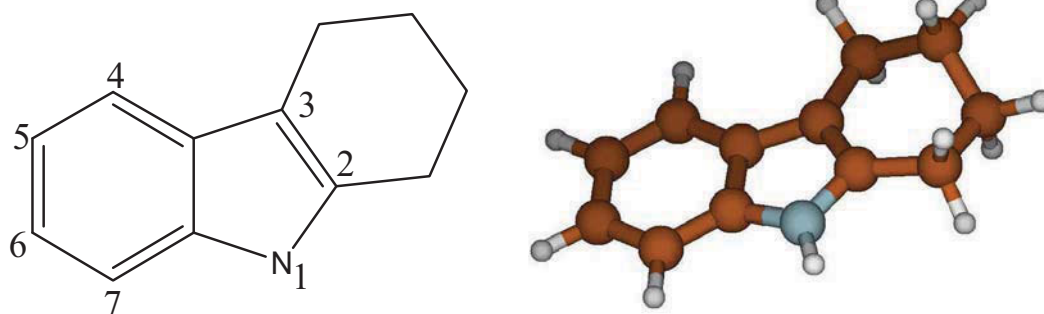


Abbildung 8.1: 2D- und 3D-Strukturformeln des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.

Das Molekül besitzt einen Indolchromophor, der sich von der Aminosäure Tryptophan leitet. Mit einem aromatischen π -System ist das Indolgrüst als Baustein in vielen verschiedenen natürlichen Strukturen für die photochemischen Eigenschaften einer Reihe von biologischen Systemen im nahen UV verantwortlich. Die Fluoreszenz des Tryptophan-Chromophors ist verglichen mit anderer Aminosäuren stark und sehr

weit in den langwelligen Bereich ausgedehnt. Zur Untersuchung von Proteinen wird die Fluoreszenz des Tryptophan-Chromophors häufiger als die jeder anderen Aminosäure verwendet. Dabei ist der Indolchromophor aufgrund des aromatischen π -Systems für die Absorptions- und photochemischen Eigenschaften verantwortlich. Die im Lösung gezeigten zwei Absorptionsbanden im nahen UV von Indol können $\pi \rightarrow \pi^*$ -Singulett-Singulett-Übergängen zugeordnet werden. [75] Die beiden angeregten Zustände, in die diese Übergänge führen, werden nach der Konvention von Platt mit 1L_a und 1L_b bezeichnet. [76] Durch die Überlagerung der Absorption dieser beiden elektronisch angeregten Zustände, 1L_b und 1L_a , wird die Interpretation von Tryptophan-Fluoreszenzspektren erschwert. In der Gas Phase liegt der 1L_b -Zustand energetisch niedriger als der 1L_a -Zustand. [77] Dagegen dreht sich diese Reihenfolge in polaren Lösungsmitteln oft um, da die 1L_b -Bande kaum verschoben wird, während die 1L_a -Bande starke Solvochromie zeigt. [78] Dies deutet auf eine deutlich größere Polarität des 1L_a -Zustandes hin. Der 1L_a Zustand ist viel polarer und wird somit durch Komplexierung mit polaren Lösungsmitteln (Liganden) deutlich stabilisiert. Weiterhin wird die 1L_b -Bande in Lösungsspektren mit einer vibronischen Struktur beobachtet, während die 1L_a -Bande breit und strukturlos ist. [79] Durch eine selektive Methylierung des Indol-Chromophors an Positionen 2 und 3 wird der 1L_a -Zustand weiter als 1L_b -Zustand rotverschoben, so dass diese beiden elektronische Zustände noch näher liegen. [80] Das laserinduzierte Fluoreszenzanregungsspektrum und diespergierte Fluoreszenzspektrum des elektronischen Ursprungs von 2,3 Dimethylindol wurde von Short und Callis [81] veröffentlicht. Der intensivste Übergang wird als elektronischer Ursprung des 1L_b -Zustandes angenommen. Mittels Zweiphotonen- polarisationsfluoreszenzanregungsspektroskopie erhielt man Hinweise auf vibronische Übergänge in den 1L_a -Zustand. Sie schlugen vor, einige Übergänge zwischen 341 und 410 cm^{-1} oberhalb des elektronischen 1L_b -Zustandes zu 1L_a -Übergängen zuzuordnen.

Um genauere Kenntnisse der elektronischen Eigenschaften des Chromophors von Tryptophan zu erlangen, werden im Rahmen dieser Arbeit die laserinduzierten und diespergierten Fluoreszenzspektren des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol als

2,3-Dialkylindol aufgenommen. Mit Hilfe von *ab initio* Rechnungen auf RICC2/aug-cc-pVDZ Niveau [44-53] wird eine Geometrieoptimierung und eine darauf basierende Frequenzrechnung für den Grundzustand durchgeführt.

8.1.2 Experiment und theoretische Methoden

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol (> 99%) wurde von Aldrich gekauft und ohne weitere Reinigung verwendet. In allen Experimenten wurde trockenes Helium als Trägergas verwendet. Die Probenvorlage wurde auf circa 120 °C geheizt. Das Gas wurde durch eine Düse mit 1 mm Durchmesser ins Vakuum expandiert. Der Laser wurde mit Rhodamin 6G betrieben und in einem BBO-Kristall, der in einem Fokus des Laserresonators angebracht ist, frequenzverdoppelt.

Ab initio Rechnungen für den elektronischen Grundzustand wurden auf RICC2 Niveau unter Verwendung des Basissatzes aug-cc-pVDZ [44-53] mit dem Programmpaket TURBOMOLE 5.8 [111] durchgeführt. Das SCF-Konvergenzkriterium war eine Energieänderung von weniger als 10^{-7} Hartree, für die Gradientenoptimierung der Molekülgeometrie wurde das Konvergenzkriterium mit $\delta E/\delta r < 1.5 \cdot 10^{-4}$ Hartree/Bohr und $\delta E/\delta \varphi < 1.5 \cdot 10^{-4}$ Hartree/° angesetzt. Für die optimierte Geometrie wurde eine Normalkoordinatenanalyse auf Grundlage der numerischen zweiten Ableitungen der Potentialhyperfläche nach den Koordinaten angeschlossen. Die Normalkoordinatenanalysen liefern zum einen die Schwingungsfrequenzen in der harmonischen Näherung, zum anderen bestätigen, dass es sich wirklich um ein Minimum auf der jeweiligen Fläche handelt.

8.1.3 LIF-Spektrum des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

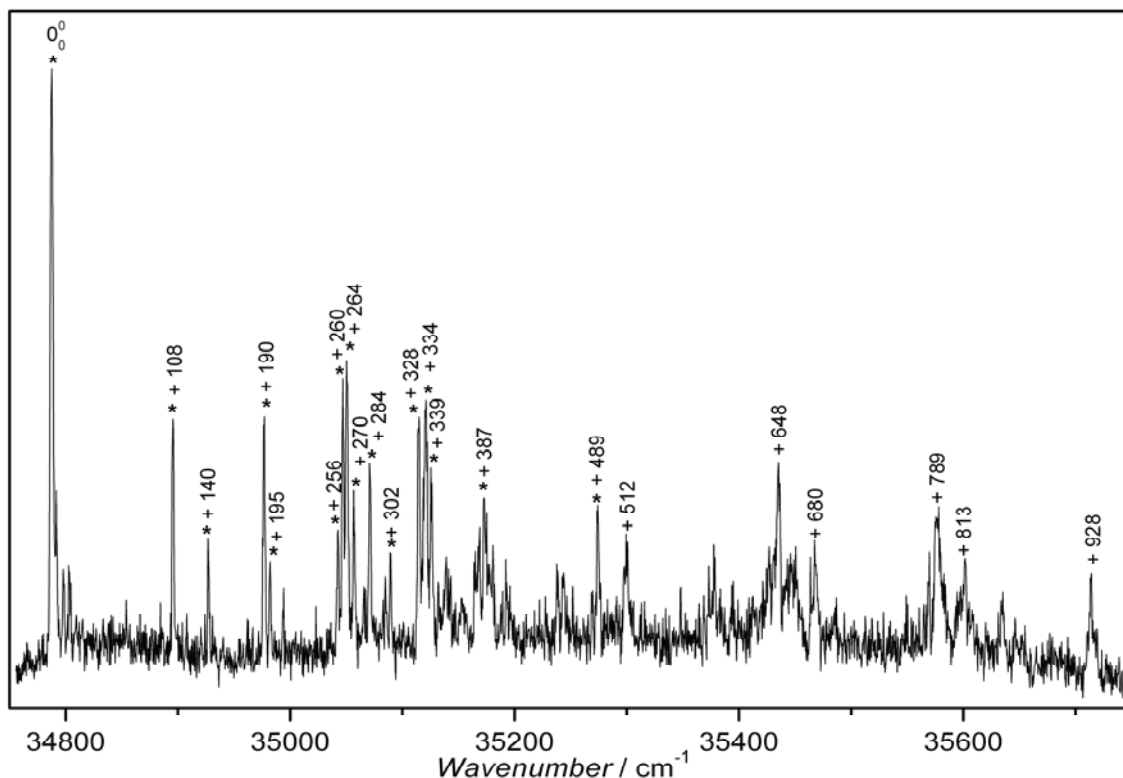


Abbildung 8.2: Fluoreszenzanregungsspektrum von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol. Die mit * gekennzeichneten Banden können dispersiert werden. $T_o = 120^\circ\text{C}$, $T_D = 140^\circ\text{C}$.

Zunächst wird ein LIF-Spektrum im Bereich von 34750 und 35750 cm^{-1} angefertigt, um die Bandenlagen des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol zu ermitteln. Der elektronische Ursprung liegt bei 34787 cm^{-1} . Abbildung 8.2 zeigt das laserinduzierte Fluoreszenzanregungsspektrum (LIF) von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol. Die Ofen- (T_o) bzw. Düsentemperatur (T_D) betrug für 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol $T_o = 120^\circ\text{C}$ und $T_D = 140^\circ\text{C}$. Die mit einem Stern markierten Banden konnten mittels dispersierter Fluoreszenzspektroskopie untersucht werden. Eine Zusammenfassung der Schwingungssystematik von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol wird nach der Diskussion der DF-Spektren und *ab initio* Rechnungen im nächsten Abschnitt angegeben.

8.1.4 Dispergiertes Fluoreszenzspektrum des 0_0^0 -Übergangs von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

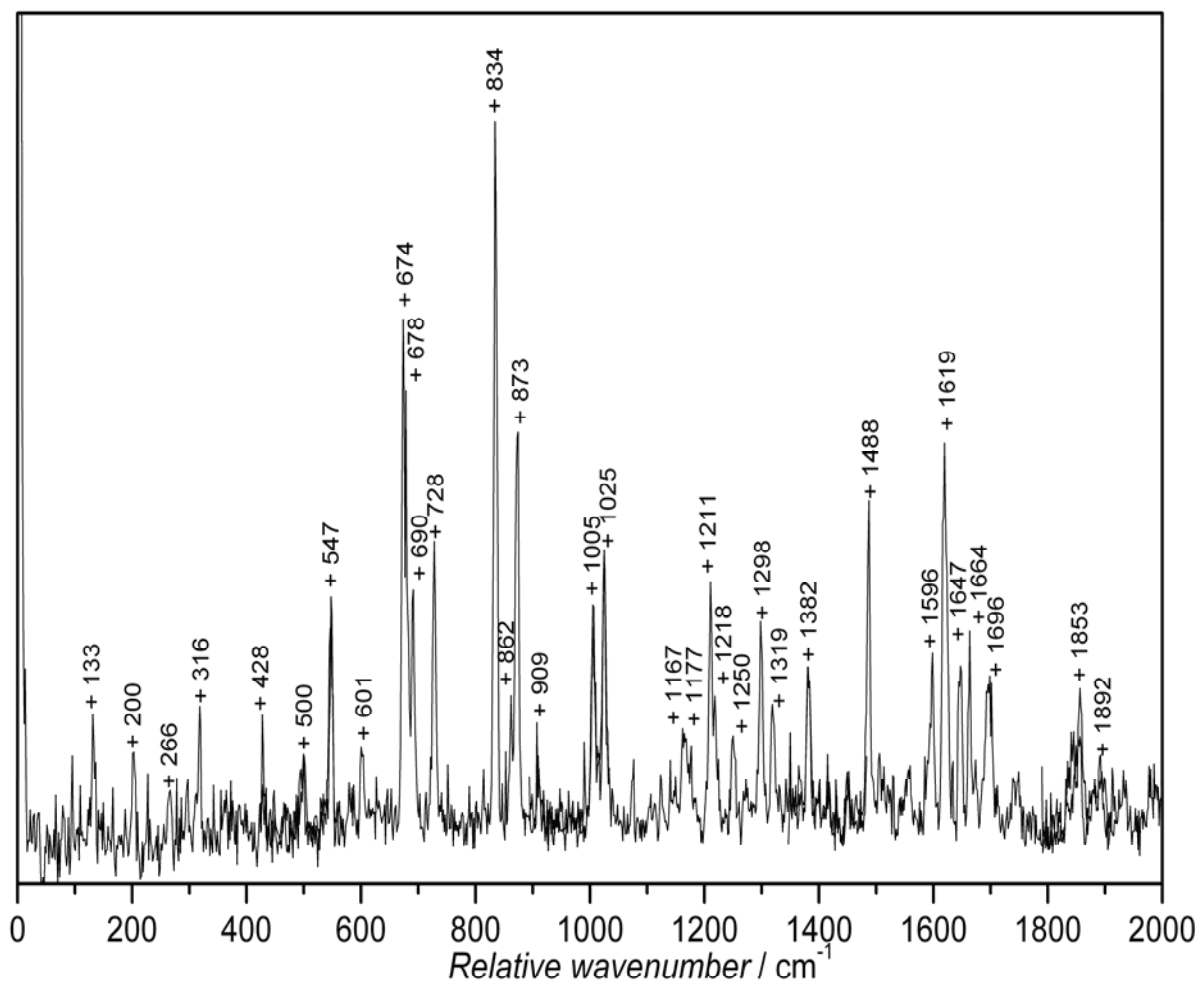


Abbildung 8.3: Dispergiertes Fluoreszenzspektrum des 0_0^0 -Übergangs von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.

Das dispergierte Fluoreszenzspektrum, welches nach Anregung der elektronischen Ursprünge vom 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol erhalten wurde, ist in Abbildung 8.3 dargestellt. Es wird versucht, durch Vergleich mit den berechneten Schwingungen, die sich nach der Rechnung [RICC2/aug-cc-pVDZ] ergeben, eine sinnvolle

Interpretation zu bekommen.

Die Frequenzen unterscheiden sich im Grundzustand teilweise erheblich von denen in den angeregten Zuständen. Die Ursache könnten deutlich veränderte Bindungsverhältnisse im angeregten Zustand sein, wodurch sich die Kraftkonstanten ändern und damit auch die Geometrie und die Frequenzen der einzelnen Schwingungen. Die gemessenen Schwingungen des Grundzustandes werden mit den berechneten Frequenzen auf den RICC2/aug-cc-pVDZ Niveau verglichen und somit zugeordnet. Diese Normalkoordinatenanalyse wurde basierend auf optimierten Geometrien durchgeführt. Eine schematische Darstellung der wichtigsten im Folgenden diskutierten Bewegungen ist in Abbildung 8.4 zu finden. Die erste Bande kann als schwacher Übergang bei 133 cm^{-1} gefunden werden. Sie wird der zweitniederfrequentesten Deformationsschwingung des 3-Ring-Systems, β_2 , zugeordnet. Die intensivste Bande liegt bei 834 cm^{-1} und wird als die Ringatmungsschwingung 12 interpretiert. Die Normalschwingung des Grundzustands, deren Auslenkung mit dem angeregten, vibronischen Übergang am besten übereinstimmt, stellt die stärkste Bande im Spektrum dar. Die Bande bei 547 cm^{-1} wird der Mode 6a, die beiden intensiven Banden bei 674 und 873 cm^{-1} werden der Mode 6a/CH₂ rock und einer Kombinationsbande der Mode β_4 mit Mode 6a/CH₂ rock zugeordnet. Die meisten Kombinationsbanden dieses Spektrums können auf Kombinationsbanden dieser beiden Schwingungen 6a und 6a/CH₂ rock mit den Schwingungen β_2 , β_3 , β_4 , 9b, 12 und 18b zurückgeführt werden. Die Banden bei 601, 1005 und 1488 cm^{-1} können den Moden 6b, 1 und 18b zugeordnet werden. Die Zuordnung der Schwingungsfrequenzen des elektronischen Grundzustands ist in Tabelle 8.1 zu finden.

Tabelle 8.1: Vergleich zwischen den berechneten Grundzustandschwingungsfrequenzen auf RICC2/aug-cc-pVDZ Niveau und den experimentellen Grundzustandschwingungsfrequenzen von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol (in cm^{-1}).

Mode	calc.	obs.	Zuordnung	calc.	obs.
β_1	77		β_{10}	1079	
β_2	128	133	β_{11}	1083	
β_3	177		18a	1113	
β_4	196	200	β_{12}	1139	
10b	253	266	9a	1146	
$\gamma\text{NH}/10\text{a}$	298		β_{13}	1163	
$\beta_2+\beta_3$		316	9a/CH ₂ wag	1166	1167
10a	314		$\beta_2+9\text{b}+6\text{a}$		1177
γNH	377		δNH	1205	1211
γNH	384		6a+6a/CH ₂ rock		1218
16b	416	428	13	1238	1250
β_5	451		β_{14}	1247	
9b	491	500	3	1260	1298
6a	534	547	β_{15}	1293	1319
4	557		β_{16}	1315	
6b	588	601	β_{17}	1338	
C ₂ inv	622		3/CH ₂ wag	1351	
6a/CH ₂ rock	664	674	β_{18}	1354	
$\beta_2+6\text{a}$		678	β_{19}	1378	
16a	693		6a+12		1382
11/6b	717	690	18b	1426	1488
11	726		β_{20}	1454	
$\beta_3+6\text{a}$		728	β_{21}	1462	
17a	812		β_{22}	1468	
β_6	817		14	1477	
12	831	834	β_{23}	1482	
$\beta_2+\beta_3+6\text{a}$		862	19a	1491	
$\beta_4+6\text{a}/\text{CH}_2$ rock		873	19b	1507	
β_7	868		8a	1589	1596
17b	886		vCC	1602	
12/CH ₂ rock	893		$\beta_2+18\text{b}$		1619
β_8	909	909	8b	1643	1647
5	912		2*12		1664
vCC	972		$\beta_2+\beta_3+6\text{a}+12$		1696
β_9	988		$\beta_2+9\text{b}+6\text{a}+6\text{a}/\text{CH}_2$ rock		1853
$\beta_2+\beta_4+6\text{a}/\text{CH}_2$ rock		1005	6a+2*6a/CH ₂ rock		1892
1	1015	1025			
$\beta_1-\beta_{23}$: Deformationsschwingungen des gesamten 3-Ring-Systems.					

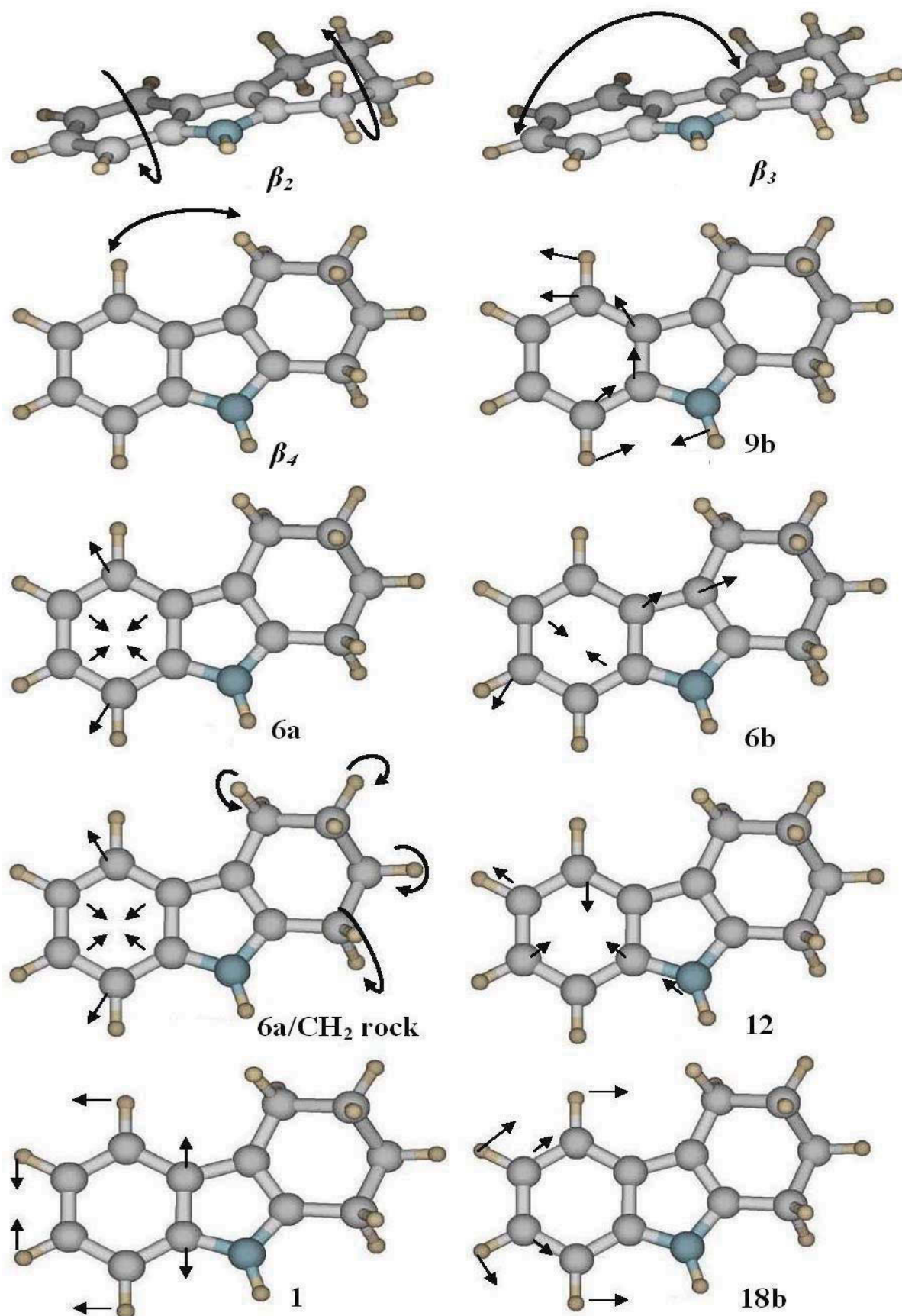


Abbildung 8.4: Schematische Darstellung einiger Normalschwingungen von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.

8.1.5 Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

Die dispergierten Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol sind in Abbildungen 8.5 und 8.6 zu sehen. Die Linienpositionen sind auf die Frequenz des Anregungslasers bezogen. Durch gezielte Anregung einzelner vibronischer Übergänge wurden 15 dispergierte Fluoreszenzspektren aufgenommen. Die Zuordnung der Schwingungsfrequenzen des elektronischen Grundzustands ist in Tabelle 8.2 zu finden.

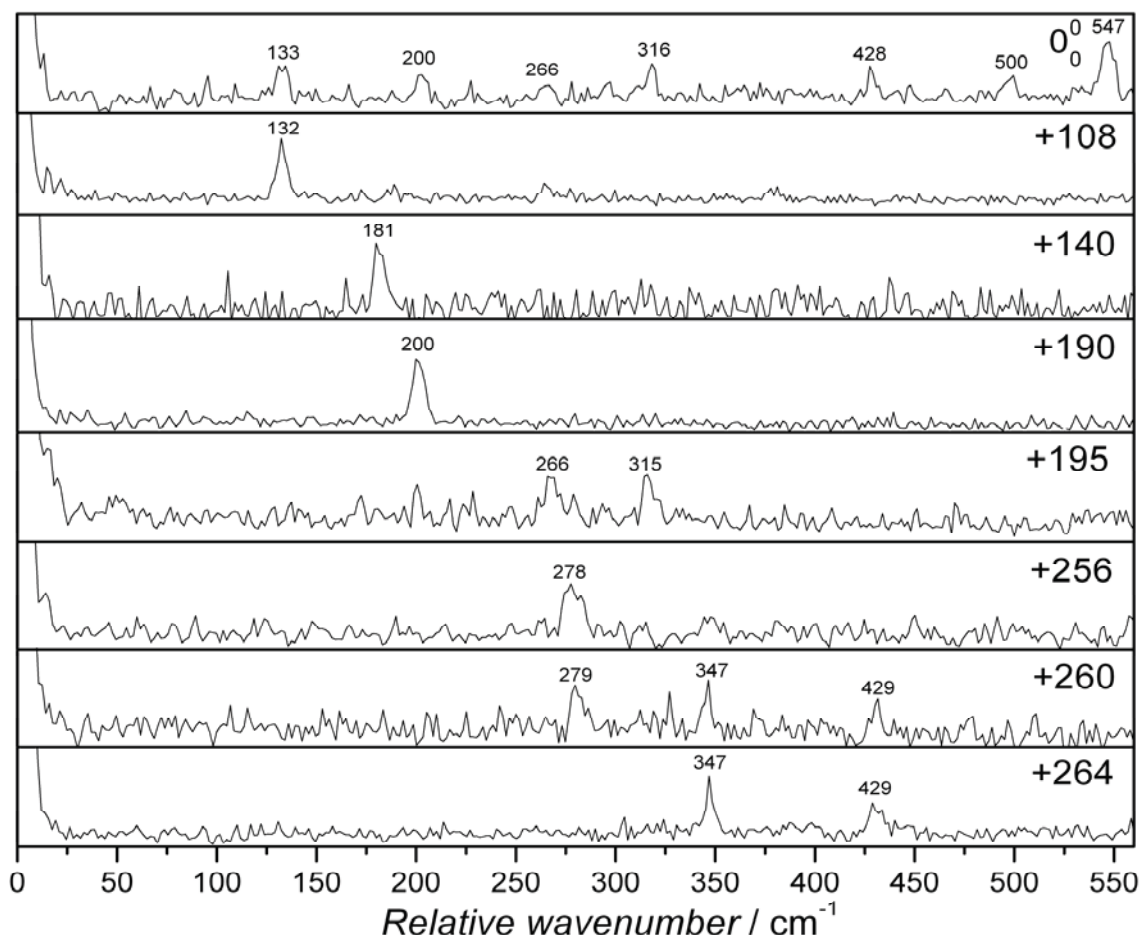


Abbildung 8.5: Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden bei 0^0_0 , +108, +140, +190, +195, +256, +260 und +264 cm^{-1} von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.

Wegen der schwachen Fluoreszenz sind in allen Spektren nur wenige Banden zu erkennen. Oberhalb 560 cm^{-1} wurde keine weitere Bande in allen dispergierten Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden beobachtet. Zum Vergleich ist das dispergierte Spektrum des elektronischen Ursprungs von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol in Abbildung 8.5 oben zu sehen. Die zweite Spur der Abbildung 8.4 zeigt das dispergierte Fluoreszenzspektrum der Bande bei $+108\text{ cm}^{-1}$. Die einzige Bande bei 132 cm^{-1} ist die zweite Deformationsschwingung des 3-Ring-Systems, β_2 . Die dritte Spur zeigt das dispergierte Fluoreszenzspektrum bei $+140\text{ cm}^{-1}$. Die Bande bei 181 cm^{-1} , die im dispergierten Fluoreszenzspektrum des 0^0_0 Übergangs nicht zu sehen ist, kann der dritten Deformationsschwingung des 3-Ring-Systems, β_3 , zugeordnet werden. Die nach Anregung der bei $+190$, $+195$, $+256$, $+260$ und $+264\text{ cm}^{-1}$ liegenden Übergänge erhaltenen dispergierten Fluoreszenzspektren von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol ist in Abbildung 8.4 unten dargestellt. Die Banden bei 200 , 278 , 347 und 429 cm^{-1} können jeweils den Deformationsschwingungen des 3-Ring-Systems β_4 , $\gamma_{\text{NH}}/10a$, *out-of-plane* Bewegung γ_{NH} und $16b$ zugeordnet werden.

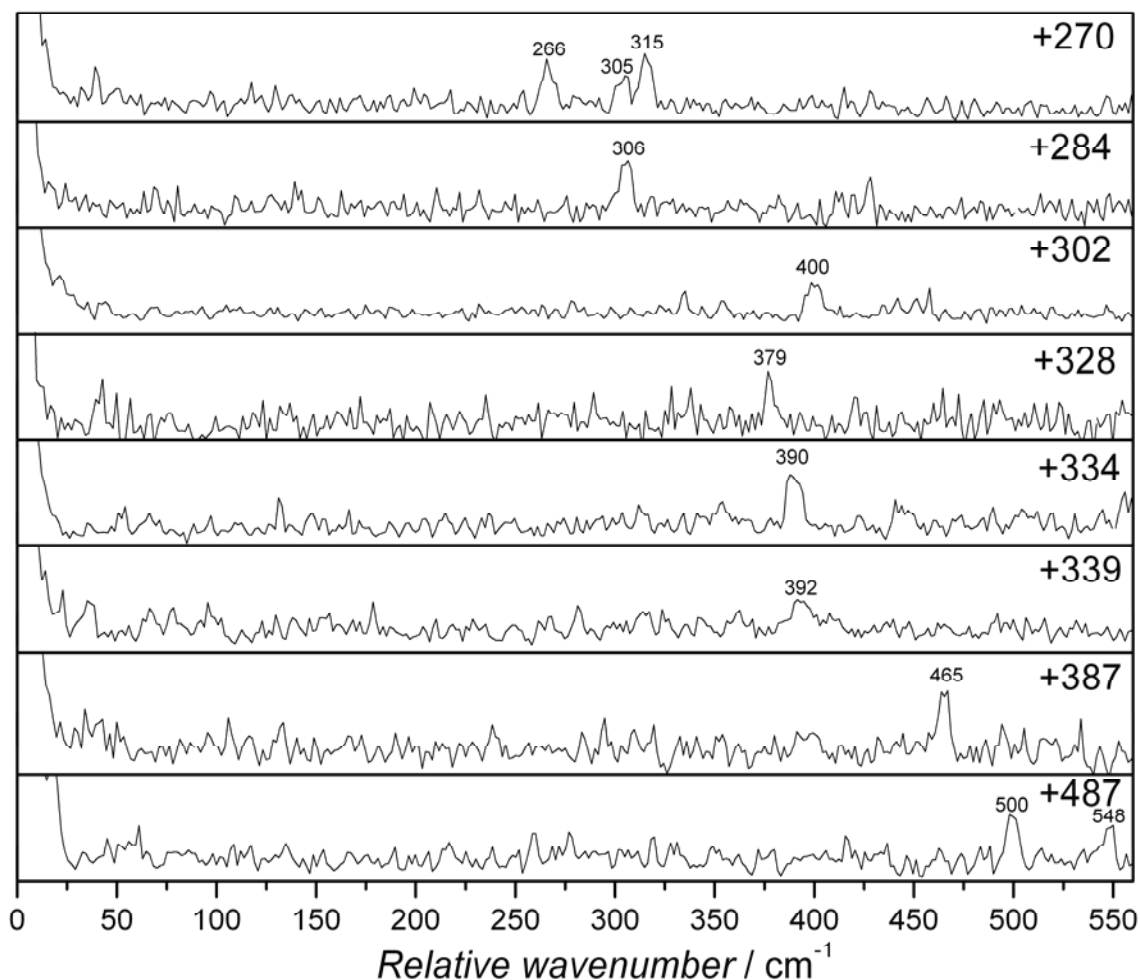


Abbildung 8.6: Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Banden bei +270, +284, +302, +328, +334, +339, +387 und +487 cm^{-1} von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.

Die Mode 10b bei 266 cm^{-1} ist in beiden dispergierten Fluoreszenzspektren der Banden +195 und $+270 \text{ cm}^{-1}$ zu finden. Die Bande bei 465 cm^{-1} im dispergierten Fluoreszenzspektrum der Bande bei $+387 \text{ cm}^{-1}$ lässt sich als Kombinationsbande mit dieser Mode erklären. Im dispergierten Fluoreszenzspektrum der Bande $+302 \text{ cm}^{-1}$ wird der Kombinationsbande, 10b mit der Mode β_2 , bei 400 cm^{-1} zugeordnet. Die Banden bei 315 cm^{-1} und 379 cm^{-1} werden zwei weitere Kombinationsbanden mit Mode β_3 zugeordnet. Die Banden bei 305, 390, 500 und 548 cm^{-1} werden jeweils der *out-of-plane* Bewegung 10a, γNH , 9b und der Mode 6a zugeordnet.

Tabelle 8.2: Experimentelle Grundzustandsschwingungswellenzahlen (mit Einheit cm^{-1}) nach Laseranregung der Banden 0_0^0 , 0_0^0+108 , 0_0^0+140 , 0_0^0+190 , 0_0^0+195 , 0_0^0+256 , 0_0^0+260 , 0_0^0+264 , 0_0^0+270 , 0_0^0+284 , 0_0^0+302 , 0_0^0+328 , 0_0^0+334 , 0_0^0+339 , 0_0^0+387 , und $0_0^0+487 \text{ cm}^{-1}$.

		S ₁ Übergänge																
		0 ⁰ ₀	108	140	190	195	256	260	264	270	284	302	328	334	339	387	487	
Zuordnung	Calc.																	
β_1	77																	
β_2	128	133	132															
β_3	177			181														
β_4	196	200			200						266							
10b	257	266				266												
γ NH/10a	298					278	279											
10a	314										305	306						
$\beta_2+\beta_3$		316				315						315						
γ NH	377							347	347									
$\beta_3+\beta_4$													379					
γ NH	384														390	392		
β_2+10b													400					
16b	416	428						429	429									
β_5	451																	
β_4+10b																465		
9b	491	500																
6a	534	548																

8.1.6 Diskussion

Der 1L_a -Zustand wird durch eine selektive Methylierung des Indol-Chromophors an Positionen 2 und 3 weiter als der 1L_b -Zustand rotverschoben, so dass diese beiden elektronischen Zustände noch näher liegen. [80] Im Vergleich mit 2,3 Dimethylindol zeigen die vibronischen Banden von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol eine deutlich größere Intensität im laserinduzierten Fluoreszenzspektrum und können somit dispergiert werden. Insbesondere ist es bemerkenswert, dass nur die mit einem Stern markierten Banden bis zu 489 cm^{-1} mittels dispergierter Fluoreszenzspektroskopie analysiert werden können, obwohl die Banden oberhalb 500 cm^{-1} im Fluoreszenzanregungsspektrum, wie z.B. die Banden 0^0_0+648 und 0^0_0+789 cm^{-1} , eine größere Intensität als einige dispergierbare Banden unterhalb 500 cm^{-1} besitzen, wie z.B. 0^0_0+195 und 0^0_0+302 cm^{-1} . Diese Banden oberhalb 500 cm^{-1} werden somit als mögliche 1L_a -Banden in Betracht gezogen. Um dies zu überprüfen, wird der Energieabstand zwischen den 1L_b - und 1L_a -Banden durch die DFT/MRCI Methode berechnet.

8.2 Weitere Systeme

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden noch zahlreiche andere Moleküle und deren Cluster untersucht. Aus verschiedenen Gründen sind diese Untersuchungen nicht gelungen. In diesem Abschnitt werden diese Ergebnisse kurz zusammengefasst.

8.2.1 Trp-Gly-OMe

Um Faltungswechselwirkungen der Peptide zu verstehen, wurde das geschützte Dipeptid zuerst synthetisiert und anschließend mittels LIF- und DF-Spektroskopie untersucht. Es wurde festgestellt, dass alle beobachteten Banden sowohl im LIF- als auch im DF-Spektrum zu Indol gehören. Dies deutet auf seine thermische Zersetzbarkeit hin.

8.2.2 2-Aminopurin-Wasser-Cluster

Um die Änderung der Lage der $\pi\pi^*$ und $n\pi^*$ Zustände durch Wasserstoffbrückenbindung zu verstehen, wurde versucht, LIF- und DF-Spektren von 2-Aminopurin-Wasser-Cluster zu bekommen. Einige nicht-dispergierbare Banden im roten Bereich vom 2-Aminopurin-Ursprung wurden im LIF-Spektrum detektiert. Allerdings verschwinden diese Banden im R2PI-Spektrum und können aufgrund mangelnder Information nicht Wasserclusterbanden zuordnen.

8.2.3 Vibronische Banden von 2,3-Dimethylindol

Das von Short und Callis veröffentlichte laserinduzierte Fluoreszenzanregungsspektrum und das dispergierte Fluoreszenzspektrum des elektronischen Ursprungs von 2,3-Dimethylindol [81] wurde erfolgreich reproduziert. Aufgrund der schwachen Fluoreszenz der vibronischen Banden von 2,3-Dimethylindol ist es nicht gelungen, diese Banden zu dispergieren.

8.2.4 Ac-Val-Phe-OMe

Das Dipeptid, Ac-Val-Phe-OMe, wurde als ein β -Faltblatt-Modellsystem mit Hilfe der LIF- und DF-Spektroskopie untersucht. Im LIF-Spektrum wurden drei Banden detektiert. Allerdings stimmt das LIF-Spektrum überhaupt nicht mit dem R2PI Spektrum von Unterberg und Gerhards *et al.* [109] überein. Somit stammen diese Banden wohl vom thermisch zersetzten Produkt.

8.2.5 Benzol-Acetylen-Cluster

Das von Shelley, Dai und Troxler veröffentlichte laserinduzierte Fluoreszenzanregungsspektrum vom Benzol-Acetylen-Cluster [108] wurde erfolgreich reproduziert. Aufgrund der schwachen Fluoreszenz der Benzol-Acetylen-Cluster-Banden ist es nicht gelungen, diese Banden zu dispergieren.

8.2.6 3-Hydroxyflavon

Flavonoide sind bekannt für ihre photoprotektiven Eigenschaften. Um Informationen über die Keto-Enol-Tautomerie benachbarter Hydroxyl- und Carbonylfunktionen nach der Photoanregung zu erhalten, wurde 3-Hydroxyflavon mittels LIF- und DF-Spektroskopie untersucht. Das von Itoh veröffentlichte laserinduzierte Fluoreszenzanregungsspektrum von 3-Hydroxyflavon [110] wurde erfolgreich reproduziert. Allerdings ist es mit Hilfe des Monochromators bis zu 600 nm nicht gelungen, diese Banden zu dispergieren.

Kapitel 9

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mit Hilfe der Molekularstrahltechnik LIF und DF-Experimente an Tryptamin, Tryptamin(H₂O)₁, 2-Aminopurin und 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol durchgeführt. Ziel dieser Doktorarbeit war zum einen die Untersuchung von niederfrequenten Torsionsschwingungen in Seitenketten von Chromophoren im Grund- und elektronisch angeregten Zustand zur Aufklärung von Faltungswechselwirkungen der Peptide. Darüber hinaus wurde die Wechselwirkung nahe zusammenliegender elektronischer Zustände und daraus folgende Fluoreszenzverhalten untersucht. Die wesentlichen Punkte dieser Arbeit werden im Folgenden noch einmal kurz zusammenfasst, um einen Überblick über die behandelten Themen zu geben.

Tryptamin

Die niederfrequenten Schwingungen vom Tryptamin-Modellsystem wurden untersucht, um die Wechselwirkung zwischen der Seitenkette und dem Chromophor in Bezug auf die verschiedenen Konformeren und das Wassercluster zu erfassen und somit Faltung von Peptiden im großen System zu verstehen.

Im ersten Teil wird das Fluoreszenzanregungsspektrum des Tryptamin, sowie die DF-Spektren der einzelnen Konformere unterhalb von 350 cm⁻¹ vorgestellt. Im Vergleich mit den *ab initio* Rechnungen auf MP2(6-311G(d,p)) und

B3-LYP/TVZP-Niveau werden die niederfrequenten Schwingungsfrequenzen des Grundzustandes zugeordnet. Bei den Normalkoordinatenanalysen fällt es auf, dass verschiedene Normalmoden stark von einer konformationellen Änderung der Seitenkette abhängig sind. Hierunter fällt insbesondere die Torsionsschwingung τ_2 entlang der C_α - C_β Bindung in der Seitenkette. Die τ_2 Mode der beiden *anti*-Konformeren liegt bei ca. 90 cm^{-1} , während diese Mode bei den *gauche*-Konformeren bei ca. 130 cm^{-1} liegt. Der Grund hierfür ist, dass die stärkere Wechselwirkung zwischen der Seitenkette und dem Indol-Ring bei den *gauche*-Konformeren zu einer dreifach größeren Kraftkonstanten im Vergleich zu den *anti*-Konformeren führt. Anschließend wird in der Veröffentlichung eine Schwingungssystematik anhand der DF-Spektren erstellt.

Tryptamin(H_2O)₁

Auch für das Wasserclustersystem Tryptamin(H_2O)₁ gelang es, die niederfrequenten Schwingungen der Seitenkette mit Hilfe der dispergierten Fluoreszenzspektren und *ab initio* Rechnungen zu untersuchen und mit den entsprechenden Schwingungen von Tryptamin A zu vergleichen. Die Frequenzschiebungen zwischen Tryptamin A und Tryptamin(H_2O)₁ aufgrund der Änderung der Kraftkonstanten und reduzierten Massen werden diskutiert. Außerdem werden zahlreiche Grundzustandschwingungen im kompletten dispergierten Spektrum durch Vergleich mit den harmonischen Frequenzen, die auf B3LYP/6-311G(d,p)-Niveau berechnet werden, zugeordnet. Die experimentellen Schwingungsfrequenzen stimmen sehr gut mit den gerechneten überein. In der Arbeit wurden vier Grundzustandschwingungsfrequenzen unterhalb von 350 cm^{-1} , Kraftkonstanten und reduzierte Massen von der niederfrequenten Schwingungen der Seitenkette von Tryptamin A und Tryptamin(H_2O)₁ auf RICC2/aug-cc-pVDZ Niveau zusammengefasst. Die verkleinerte reduzierte Masse von Mode τ_2 nach der Hydratisierung führt zu einer größeren Schwingungsfrequenz

im Wassercluster. Deshalb ist die Mode τ_2 besonders empfindlich bei Seitenkette-Indol Wechselwirkung.

2-Aminopurin

Das nächste System ist 2-Aminopurin, das sich vom Adenin nur durch die Stellung der Aminogruppe unterscheidet. In der Literatur [65] wurde es gezeigt, dass die Fluoreszenz-Quantenausbeute von 2-Aminopurin(2AP) in der unpolaren und in der polaren, aber aprotischen Lösung kleiner als in der protischen Lösung ist. Der Mechanismus der Fluoreszenz-Löschung beim isolierten oder nicht protisch solvatisierten 2AP kann durch eine Überführung von einem $^1\pi\pi^*$ Zustand in einen langlebigen dunklen $^1n\pi^*$ - oder Triplett Zustand erklärt werden. Wasserstoffbrückenbindung ist es bekannt, dass die Energie vom $\pi\pi^*$ -Zustand erniedrigt und die Energie vom $n\pi^*$ -Zustand erhöht wird. In den protischen Lösungen wie Wasser und Ethanol kann aufgrund einer Barriere zwischen dem $\pi\pi^*$ und $n\pi^*$ Zuständen zu einer Zunahme von Fluoreszenz führen, weil der $\pi\pi^*$ Zustand durch die Wasserstoffbrückenbindung unterhalb vom $n\pi^*$ Zustand liegt. Die durch LIF- und DF-Spektroskopie gezeigte schwache Fluoreszenz-Quantenausbeute von 2AP in der Gasphase bestätigt diese Erklärung, da die Bedingung in der Gasphase ähnlich sind wie die im Lösungsmittel, ohne die Möglichkeit, eine Wasserstoffbrückenbindung zu bilden.

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol

Um genauere Kenntnisse der zwei nah liegenden $\pi \rightarrow \pi^*$ Singulett-Zustände 1L_a und 1L_b von der Aminosäure Tryptophan zu erlangen, wurden die dispergierten Spektren

mehrerer vibronischer Banden von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol als 2,3-dialkylindol aufgenommen und analysiert. Durch eine selektive Methylierung des Indol-Chromophors an Positionen 2 und 3 werden diese beiden elektronischen Zustände noch näher liegen. Der elektronische Ursprung zeigt einen 1L_b -Charakter. Hinweise auf vibronische Übergänge im 1L_a -Zustand oberhalb 500 cm^{-1} wurden erhalten, indem diese Banden trotz guter Intensität im Vergleich zu den Banden unterhalb von 500 cm^{-1} keine dispergierten Fluoreszenzspektren liefern konnten.

Literaturverzeichnis

- [1] M. Tausch und D. Paterkiewicz, "*Fluoreszenz und Phosphoreszenz*" in *Praxis der Naturwissenschaften (Chemie)*, **1988**, 14, 36.
- [2] Wolfgang Roth, Dissertation, *Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*, **1998**.
- [3] Firma Bürklin, *Die ganze Elektronik '96/'97*.
- [4] M. Born und R. Oppenheimer, *Ann. Phys.*, **1927**, 84, 457.
- [5] D. R. Hartree und Proc. Cambridge, *Phil. Soc.*, **1928**, 24, 111.
- [6] C. Müller und M. S. Plesset, *Phys. Rev.*, **1934**, 46, 618.
- [7] A. Szabo und N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry*, Dover, New York, **1996**.
- [8] B. O. Roos und P.-O. Widmark, In *European Summerschool in Quantum Chemistry*, Chemical Centre Printshop, Lund, Sweden, **1999**.
- [9] A. Szabo und N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*, Macmillan Publishing Co., Inc., New York, **1982**.
- [10] R. McWeeny, *Methods of molecular quantum mechanics*, 2. Auflage, Academic Press Inc., London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, **1992**.
- [11] P. Hohenberg und W. Kohn, *Phys. Rev. B*, **1964**, 136, 848.
- [12] W. Kohn und L.J. Sham, *Phys. Rev. A*, **1965**, 140, 1133.
- [13] P. Hohenberg und W. Kohn, *Phys. Rev. B*, **1964**, 136, 864.
- [14] R.G. Parr und W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms und Molecules*, Oxford University Press, Oxford, **1989**.

- [15] R.M. Dreizler und E.K.U. Gross, *Density-Functional-Theory*, Springer-Verlag, Berlin, **1990**.
- [16] E. Fermi, *Rend. Accad. Lincei*, **1927**, 6.
- [17] N.H. March, *Electron Density Theory of Atoms und Molecules*, Academic Press, London, **1992**.
- [18] J. R. Carney und T. S. Zwier, *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104, 8677.
- [19] L. A. Philips und D. H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **1988**, 89, 85.
- [20] Y. R. Wu und D. H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **1989**, 91, 5278.
- [21] T. Nguyen, T. Korter, und D. Pratt, *Mol. Phys.*, **2005**, 103, 1603.
- [22] M. Schmitt, M. Böhm, C. Ratzer, C. Vu, I. Kalkman, und W. L. Meerts, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 10356.
- [23] M. Böhm und M. Schmitt (unpublished).
- [24] L. L. Connell, T. C. Corcoran, P. W. Joireman, und P. M. Felker, *Chem. Phys. Letters*, **1990**, 166, 510.
- [25] T. Nguyen und D. Pratt, *J. Chem. Phys.*, **2006**, 124, 054317.
- [26] W. Caminati, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, 6, 2806.
- [27] M. Schmitt, U. Henrichs, H. Müller, und K. Kleinermanns, *J. Chem. Phys.*, **1995**, 103, 9918.
- [28] W. Roth, C. Jacoby, A. Westphal, und M. Schmitt, *J. Phys. Chem. A*, **1998**, 102, 3048.
- [29] M. Schmitt, J. Küpper, D. Spangenberg, und A. Westphal, *Chem. Phys.*, **2000**, 254, 349.
- [30] S. Gerstenkorn und P. Luc, *Atlas du spectre d'absorption de la mol'ecule d'iode*, CNRS, Paris, **1982**.
- [31] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, Jr., R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, P. Salvador, J. J.

- Dannenberg, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. Undres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, und J. A. Pople, Gaussian 98, revision a.11 Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **2001**.
- [32] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, und M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.*, **1994**, 98, 11623.
- [33] C. Lee, W. Yang, und R. Parr, *Phys. Rev. B*, **1988**, 37, 785.
- [34] R. Ahlrichs, M. Bär, M. Häser, H. Horn, und C. Kölmel, *Chem. Phys. Letters*, **1989**, 162, 165.
- [35] A. Schäfer, C. Huber, und R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.*, **1994**, 100, 5829.
- [36] F. Furche und R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 117, 7433.
- [37] R. Ahlrichs, M. Bär, H.-P. Baron, R. Bauernschmitt, S. Böcker, P. Deglmann, M. Ehrig, K. Eichkorn, S. Elliott, und F. Furche, *Turbomole (version 5.6)*, Universität Karlsruhe, Germany, **2002**.
- [38] G. Varsanyi, *Assignments for Vibrational Spectra of 700 Benzene Derivatives*, Wiley, New York, **1974**.
- [39] M. Schmitt, R. Brause, C. M. Marian, S. Salzmann und W. L. Meerts, *J. Chem. Phys.*, **2006**, 125, 124309.
- [40] http://www.public.z.uni-duesseldorf.de/mschmitt/Gaussian_logs.html.
- [41] M. Schmitt, K. Feng, M. Boehm und K. Kleinermanns, *J. Chem. Phys.*, **2006**, 125, 144303.
- [42] Y. D. Park, T. R. Rizzo, L. A. Peteanu und D. H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **1986**, 84, 6539.
- [43] Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A.

- Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- [44] O. Christiansen, H. Koch und P. Jorgensen, *Chemical Physics Letters*, **1995**, 243, 409.
- [45] C. Hattig und F. Weigend, *J. Chem. Phys.*, **2000**, 113, 5154.
- [46] C. Hattig, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 118, 7751.
- [47] A. Kohn und C. Hattig, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 119, 5021.
- [48] O. Treutler und R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.*, **1995**, 102, 346.
- [49] F. Weigend und M. Haser, *Theoretical Chemistry Accounts*, **1997**, 97, 331.
- [50] F. Weigend, M. Haser, H. Patzelt und R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, **1998**, 294, 143.
- [51] P. Deglmann und F. Furche, *J. Chem. Phys.*, **2002**, 117, 9535.
- [52] P. Deglmann, F. Furche und R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, 2002, 362, 511.
- [53] P. Deglmann, K. May, F. Furche und R. Ahlrichs, *Chemical Physics Letters*, **2004**, 384, 103.
- [54] R. Krishnan, J. S. Binkley, R. Seeger und J. A. Pople, *J. Chem. Phys.*, **1980**, 72, 650.

- [55] D. E. Woon und T. H. Dunning, *J. Chem. Phys.*, **1993**, 98,1358.
- [56] J. R. Carney, B. C. Dian, G. M. Florio und T. S. Zwier, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 5596.
- [57] M. Schmitt, C. Jacoby und K. Kleinermanns, *J. Chem. Phys.*, 1998, 108, 4486.
- [58] C. E. Crespo-Hernandez, B. Cohen, P. M. Hare und B. Kohler, *Chemical Reviews*, **2004**, 104, 1977.
- [59] N. J. Kim, H. Kang, Y. D. Park und S. K. Kim, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, 6, 2802.
- [60] N. J. Kim, G. Jeong, Y. S. Kim, J. Sung, S. K. Kim und Y. D. Park, *J. Chem. Phys.*, **2000**, 113, 10051.
- [61] C. Marian, *J. Chem. Phys.*, **2005**, 122, 104314.
- [62] C. Canuel, M. Mons, F. Piuze, B. Tardivel, I. Dimicoli, M. Elhanine, *J. Chem. Phys.*, **2005**, 122, 074316.
- [63] R. K. Neely, S. W. Magennis, D. T. F. Dryden und A. C. Jones, *J. Phys. Chem. B*, **2004**, 108, 17606.
- [64] K. A. Seefeld, C. Plützer, D. Löwenich, T. Häber, R. Linder, K. Kleinermanns, J. Tatchen und C. M. Marian, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2005**, 7, 3021
- [65] J. Smagowicz und K. L. Wierzchowski, *Journal of Luminescence*, **1974**, 8, 210.
- [66] T. Haupl, C. Windolph, T. Jochum, O. Brede und R. Hermann, *Chemical Physics Letters*, **1997**, 280, 520.
- [67] T. M. Nordlund, S. Undersson, L. Nilsson, R. Rigler, A. Graslund und L. W. McLaughlin, *Biochemistry*, **1989**, 28, 9095.
- [68] S. Perun, A. L. Sobolewski und W. Domcke, *Molecular Physics*, **2006**, 104, 1113.
- [69] L. Serrano-Undres, M. Merchan und A. C. Borin, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2006**, 103, 8691.

- [70] Y. Lee, M. Schmitt, K. Kleinermanns und B. Kim, *J. Phys. Chem. A*, **2006**, *110*, 11819.
- [71] A. Holmen, B. Norden und B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 3114.
- [72] M. Schmitt, U. Henrichs, H. Müller, und K. Kleinermanns, *J. Chem. Phys.*, **1995**, *103*, 9918.
- [73] M. Busker, M. Nispel, Th. Häber, M. Etinski, T. Fleig, *ChemPhysChem*, **2008**, *9*, 1570.
- [74] G. Neukomm und M. Hesse, *Helvetica Chimica Acta*, **1977**, *60*, 2392431.
- [75] H. U. Schütt und H. Zimmermann, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **1963**, *67*, 54.
- [76] J. R. Platt, *J. Chem. Phys.*, **1949**, *17*, 484.
- [77] G. Berden, W. L. Meerts und E. Jalviste, *J. Chem. Phys.*, **1995**, *103*, 9596.
- [78] D. Creed, *Photochem. Photobiol.*, **1984**, *39*, 537.
- [79] H. Lami und N. Glasser, *J. Chem. Phys.*, **1986**, *84*, 597.
- [80] J. W. Hager, D. R. Demmer, und S. C. Wallace, *J. Phys. Chem.*, **1987**, *91*, 1375.
- [81] K. W. Short und P. R. Callis, *Chem. Phys.*, **2002**, *283*, 267.
- [82] N. A. Campbell, *Biologie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **2000**.
- [83] A. L. Lehninger, D. L. Nelson und M. M. Cox, *Prinzipien der Biochemie*, Spektrum Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1994**.
- [84] L. Stryer, *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1994**.
- [85] J. R. Lakowicz, *Topics in Fluorescence Spectroscopy, Volume 3: Biochemical Applications*, Plenum Press, New York, **1992**.
- [86] A. P. Demchenko, *Ultraviolet Spectroscopy of Proteins*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, **1986**.
- [87] B. W. Matthews, *X-Ray-Structures of Proteins*, in: *The Proteins* (Ed. H. Neurath und R. L. Hill), Academic Press, London, New York, **1977**.

- [88] L. Stryer, *Science*, **1968**, 162, 526.
- [89] D. M. Jameson, J. C. Croney und P. D. J. Moens, *Fluorescence: Basic concepts, practical aspects, und some anecdotes, in: Methods in Enzymology, Band 360 (Ed. G. Marriott und I. Parker)*, Academic Press, New York, **2003**.
- [90] S. D'Auria und J. R. Lakowicz, *Enzyme fluorescence as a sensing tool: new perspectives in biotechnology, Current Opinion in Biotechnology*, **2001**, 12, 99.
- [91] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Press, New York, **1999**.
- [92] E. Dufour, M. F. Devaux, P. Fortier und S. Herbert, *International Dairy Journal*, **2001**, 11, 465.
- [93] P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, 3. Auflage, Wiley –VCH, **2002**.
- [94] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, 4. Auflage, VCH-Verlag, **1997**.
- [95] W. D. Stohrer; "Die konzeptionellen Grundlagen der Photochemie" in *Praxis der Naturwissenschaften (Chemie)*, **1991**, 40, 15.
- [96] W. Demtröder, *Laser Spektroskopie*, 3. Auflage, Springer Verlag Berlin, **1993**.
- [97] Lubmann, D.; Rettner, Ch. T.; Zare, R. N.; *J. Phys. Chem* 86, 1129 (1982).
- [98] R. C Smalley, B. L. Ramakrishna, D. H. Levy, L. Wharton, *J. Chem. Phys.*, **1974**, 61, 436.
- [99] W. Demtröder und H. J. Foth, *Phys. Blätter*, **1993**, 43, 7.
- [100] R. E. Smalley, L. Wharton und D. H. Levy, *Acc. Chem. Res.*, **1977**, 10, 139.
- [101] A. Amirav, U. Even und J. Jortner, *Chem. Phys.*, **1980**, 51, 31.
- [102] B. B. Camparque, J. F. Pfanstiel, D. F. Plusquelli, D. W. Pratt, W. M. Van Herpen und W. L. Meerts, *J. Phys. Chem.*, **1990**, 94, 6.
- [103] P. Imhof, Dissertation, *Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*, **2001**.

- [104] K. U. Seefeld, Dissertation, *Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*, **2008**.
- [105] R. Brause, Dissertation, *Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*, 2006.
- [106] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Plenum Publishing, **1983**.
- [107] H. J. Galla, *Spektroskopische Methoden in der Biochemie*, Thieme, **1988**.
- [108] M. Y. Shelley, H. -L. Dai und T. Troxler, *J. Chem. Phys.*, **1999**, *110*, 9081.
- [109] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader und M. Gerhards, *J. Chem. Phys.*, **2003**, *118*, 8296.
- [110] M. Itoh, *Pure & Appl. Chem.*, **1993**, *65*, 1629.
- [111] Ahlrichs, R. et. al., TURBOMOLE, version 5.8; *Universität Karlsruhe*, **2005**. See also: http://www.cosmologic.de/QuantumChemistry/main_turbomole.html.
- [112] P. W. Atkins und R. S. Friedman, *Molecular Quantum Mechanics*, Oxford University Press, **2005**.
- [113] Jensen, F., *Introduction to Computational Chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapur, Toronto, **1999**.
- [114] Kutzelnigg, *Einführung in die Theoretische Chemie*, Wiley-VCH, **2002**.
- [115] J. Harris, *Phys. Rev. B*, **1985**, *31*, 1970.
- [116] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **1996**, *104*, 1040.
- [117] F. Coester, *Nucl. Phys.*, **1958**, *7*, 421.
- [118] F. Coester und H. Kümmel, *Nucl. Phys.*, **1960**, *17*, 477.
- [119] H. Kümmel, *Nucl. Phys.*, **1961**, *22*, 177.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Die 2D-Strukturen der drei aromatischen Aminosäuren in Proteinen.	5
1.2	Die 2D-Struktur von Indol.	6
2.1	Schematische Darstellung der Fluoreszenzemissions- (a) und der Fluoreszenzabsorptionsspektroskopie (b).	10
2.2	Jablonski-Diagramm photochemischer Prozesse.	11
2.3	Schema zur dispergierten Fluoreszenzspektroskopie.	12
3.1	Blockbild der Apparatur zur Aufnahme der LIF- und DF-Spektren.	14
3.2	Bild der heizbaren Pulsdüsenheizung (links) und das Probengefäß (rechts) mit angebauten Heizwiderständen. In der Mitte sind der Deckel, sowie der dazugehörige Dichtungsring zu sehen.	18
3.3	Pixel-Wellenlängen-Zuordnung für das Gitter bei einer Einstellung von 288 nm.	21
3.4	Kalibrierkurve für die Gitterposition 288 nm durch die Lasermarker (+) auf der CCD als Polynomfit vierter Ordnung. Die Abweichung der berechneten von der eingestrahnten Wellenlänge beträgt maximal $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.	22
5.1	Atomic numbering of TRA und definitions of the four low frequency vibrations of the back bone. τ_1 , τ_2 und τ_3 are three torsion vibrations around the C_1 - Ca , Ca - C_β und C_β -N single bonds, respectively. β_1 is a bending vibration between the back bone und the indol ring.	39
5.2	Vibrational modes of the Gpy(out) conformer of tryptamine below 360 cm^{-1} . Numbering of the modes refers to Table 5.1.	47

5.3	A Fluorescence excitation spectrum in the region of the electronic origins of the conformers <i>A</i> to <i>F</i> of tryptamine. Bunds marked with an asterisk are excited to obtain the dispersed fluorescence spectra. Bunds marked with a dagger have been measured with rovibronic resolution (see section 5.4.3).	49
5.4	Rotationally resolved fluorescence excitation spectrum of the electronic origin, the $0,0+41\text{ cm}^{-1}$, und the $0,0+124\text{ cm}^{-1}$ bunds of the tryptamine <i>A</i> conformer.	52
5.5	Fluorescence emission spectra obtained via excitation of the electronic origins of the conformers <i>A</i> to <i>F</i> . The vertical lines represent the MP2 calculated frequencies.	57
5.6	Fluorescence emission spectra obtained via excitation of the vibronic bunds $0,0+41$, $0,0+124$, und $0,0+228$ of conformer <i>A</i> . The vertical lines represent the MP2 calculated frequencies.	59
5.7	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>A</i> of tryptamine.	64
5.8	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>B</i> of tryptamine.	64
5.9	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>C(1)</i> of tryptamine.	65
5.10	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>D</i> of tryptamine.	65
5.11	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>E</i> of tryptamine.	66
5.12	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the electronic origin of the conformer <i>F</i> of tryptamine.	66
5.13	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition $+40\text{ cm}^{-1}$ of tryptamine <i>A</i> .	67

5.14	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 123 cm ⁻¹ of tryptamine <i>A</i> .	67
5.15	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 228 cm ⁻¹ of tryptamine <i>A</i> .	68
5.16	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 332 cm ⁻¹ of tryptamine <i>A</i> .	68
5.17	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 467 cm ⁻¹ of tryptamine <i>A</i> .	69
5.18	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 40 cm ⁻¹ of tryptamine <i>B</i> .	69
5.19	Dispersed fluorescence spectrum obtained via excitation of the vibronic transition + 119 cm ⁻¹ of tryptamine <i>C</i> .	70
6.1	Fluorescence excitation spectrum of tryptamine(H ₂ O) ₁ .	76
6.2	Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the electronic origin of conformer <i>A</i> of tryptamine, origin of tryptamine(H ₂ O) ₁ and the vibronic transition + 34 cm ⁻¹ of tryptamine(H ₂ O) ₁ . All vibrational frequencies are given in cm ⁻¹ .	77
6.3	Vibrational mode τ_2 (torsion about the C _{α} -C _{β} bond) of tryptamine und tryptamine(H ₂ O) ₁ as obtained from RICC2/aug-cc-pVDZ. Note the different displacements of the backbone atoms in the monomer und in the cluster.	81
6.4	Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the electronic origin of tryptamine(H ₂ O) ₁ .	84
6.5	Dispersed fluorescence spectra obtained via excitation of the vibronic transition + 34 cm ⁻¹ of tryptamine(H ₂ O) ₁ .	84
7.1	LIF (a) und REMPI (b) spectra of 2AP. The electronic origin 0 ₀ ⁰ is at 32371 cm ⁻¹ . Bunds marked with an asterisk are excited to obtain the dispersed fluorescence spectra.	92

7.2	Dispersed fluorescence spectra of the electronic origin of 2AP und the vibronic bund at 756 cm^{-1} . No fluorescence above 700 cm^{-1} could be observed upon dispersion of the $0_0^0 + 756\text{ cm}^{-1}$ transition (shown here up to 1300 cm^{-1}).	93
7.3	Delayed ionization of 2-aminopurine upon excitation of the electronic origin of 2AP at 32371 cm^{-1} (pump) und ionization at 193 nm (probe). The linear decay arises from the time- of-flight of 2AP out of the detection volume so that the lifetime of the dark state populated upon $\pi\pi^*$ excitation is $>1\text{ }\mu\text{s}$.	96
8.1	2D- und 3D-Strukturformeln des 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.	100
8.2	Fluoreszenzanregungsspektrum von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol. Die mit * gekennzeichneten Bunden können dispergiert werden. $T_o = 120^\circ\text{C}$, $T_D = 140^\circ\text{C}$.	103
8.3	Dispergiertes Fluoreszenzspektrum des 0_0^0 -Übergangs von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.	104
8.4	Schematische Darstellung einiger Normalschwingungen von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol	107
8.5	Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Bunden bei 0_0^0 , $+108$, $+140$, $+190$, $+195$, $+256$, $+260$ und $+264\text{ cm}^{-1}$ von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.	108
8.6	Dispergierte Fluoreszenzspektren der vibronischen Bunden bei $+270$, $+284$, $+302$, $+328$, $+334$, $+339$, $+387$ und $+487\text{ cm}^{-1}$ von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol.	110

Tabellenverzeichnis

- 5.1 Electronic ground state vibrations, calculated at the MP2/6-311G(*d,p*) level of theory, und excited state vibrations calculated at the TDB3-LYP/TZVP level along with the assignments of the vibrational modes of the *A* conformer of tryptamine. All frequencies are given in cm^{-1} . Modes marked with † are localized mainly in the ethylamino backbone, modes marked with * mainly in the pyrrole moiety. 45
- 5.2 Electronic ground state low frequency vibrations calculated at the MP2/6-311(*d,p*) (B3-LYP/TZVP) level und assignment of the vibrational modes of the seven tryptamine conformers. All frequencies are given in cm^{-1} .
For a description of the modes, see text. 46
- 5.3 Low frequency vibrations of the electronically excited $^1\text{L}_b$ state calculated at the TD-B3-LYP/TZVP level und assignment of the vibrational modes of the seven tryptamine conformers. All frequencies are given in cm^{-1} . 48
- 5.4 Molecular parameters of the low frequency bunds in the region of the electronic origins of the tryptamine conformers. The ΔB_g are defined as $B'_g - B'_g$, $g=A,B,C$.
The $\Delta\Delta B_g$ are defined as $\Delta B_g[0,0(A)+X] - \Delta B_g[0,0(A)]$ und $\Delta B_g[0,0(C)+X] - \Delta B_g[0,0(C)]$, respectively. 54
- 5.5 Experimental ground state (S_0) intermolecular vibrational frequencies observed after excitation of all S_1 states und assignments of the motions. All frequencies are given in cm^{-1} . 56

5.6	Schematic summary of the 24 vibrations of the ethylamino backbone of tryptamine.	61
6.1	Electronic ground state vibrations, calculated at the RICC2 / aug-cc-pVDZ level und at the MP2 / 6-311G(d,p) level along with the assignments of the experimentally observed vibrational modes of the A conformer of tryptamine (T) und the tryptamine-water (T-H ₂ O) cluster. All frequencies are given in cm ⁻¹ und are unscaled. The numbering of the indole vibrations follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.	79
6.2	Electronic ground state vibrational frequencies ν , force constants k und reduced masses μ of the low frequency bunds of the tryptamine A conformer und the tryptamine-water cluster, calculated at the RICC2/aug-cc-pVDZ level. All frequencies ν are given in cm ⁻¹ , k in mdyn/Å, μ in amu.	80
6.3	Comparison between the calculated B3LYP/6-311G(d,p) ground state vibrational frequencies und experimentally observed vibrations of the DF spectrum. All frequencies are given in cm ⁻¹ . The numbering follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.	83
7.1	Comparison between the calculated B3LYP/6-311G(d,p) ground state vibrational frequencies und experimentally observed vibrations of the single vibronic level DF spectrum. All frequencies are given in cm ⁻¹ . The designation of the vibrations follows the nomenclature of Varsanyi for benzene derivatives.	95
8.1	Vergleich zwischen den berechneten Grundzustundschwingungsfrequenzen auf RICC2/aug-cc-pVDZ Niveau und den experimentellen Grundzustundschwingungsfrequenzen von 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol (in cm ⁻¹).	106

8.2 Experimentelle Grundzustandschwingungswellenzahlen

(mit Einheit cm^{-1}) nach Laseranregung der Banden

0^0_0 , 0^0_0+108 , 0^0_0+140 , 0^0_0+190 , 0^0_0+195 , 0^0_0+256 ,

0^0_0+260 , 0^0_0+264 , 0^0_0+270 , 0^0_0+284 , 0^0_0+302 , 0^0_0+328 ,

0^0_0+334 , 0^0_0+339 , 0^0_0+387 , und $0^0_0+487 \text{ cm}^{-1}$.

111

Liste der verwendeten Abkürzungen

2AP	2-Aminopurin
AC	Acetyl
a.u.	arbitrary units
B3LYP	Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr
BBO	Bariumborat
CASSCF	Complete Active Space Self Consistent Field
CASPT2	Complete Active Space Second Order Perturbation Theory
CI	Configuration Interaction
CC	Coupled-Cluster
CCD	Charge-Coupled Device
D	Dimension
DF	Dispergierte Fluoreszenz
DFT	Dichtfunktionaltheorie
EtOH	Ethanol
f	fokus
FWHW	full width at half maximum
FSR	free spectral range
HF	Hatree-Fock
HRLIF	High-Resolution Laserinduced Fluorescence
IC	Internal Conversion
IR	Infrarot
ISC	Inter System Crossing
IVR	intramolecular vibrational relaxation
KDP	Kaliumdihydrogenphosphat

LIF	Laserinduzierte Fluoreszenz
MPn	Møller-Plesset Störungstheorie n-ter Ordnung
MRCI	Multireference configuration interaction
MO	Molekülorbital
Nd:YAG	Neodym-YAG (Yttrium-Aluminium-Granat)
PC	Personal Computer
Phe	Phenylalanin
PMT	Photo-Multiplier-Tubes
R2PI	Resonance Enhanced Two Photon Ionization
REMPI	Resonance Enhanced MultiPhoton Ionisation
SCF	Self consistent Field
SHG	Second Harmonic Generation
SVLF	Single Vibronic Level Fluorescence
T_o	Ofentemperatur
T_D	Düsentemperatur
T-H ₂ O	Tryptamin(H ₂ O) ₁
TRA(T)	Tryptamin
RI	Resolution if the Identity
TDDFT	Time-Dependent Dichtefunktionatheorie
UV	Ultraviolett
Val	Valin