

Beate Röder

Zur Photobiophysik von Tetrapyrrolen und ihrer Bedeutung für die Biosphäre der Erde

Die Entstehung, Entwicklung und der Fortbestand des Lebens auf der Erde sind wesentlich mit der Existenz der Sonne als unikale Quelle freier Energie verknüpft. In frühen Phasen der präbiontischen Evolution unter anaeroben Bedingungen war vor allem die hochenergetische kurzwellige UV-Strahlung als Energiequelle zur Entstehung biologisch relevanter Moleküle, wie z. B. Zucker, Aminosäuren, Nukleotide und Peptide, von Bedeutung. Mit der Herausbildung von Biopolymeren wie RNS, DNS und Proteinen, die vorzugsweise im UVC- (100–280 nm) und UVB-Bereich (280–315 nm) Strahlung absorbieren, wandelte sich die Bedeutung der energiereichen UV-Strahlung jedoch in die eines wesentlichen Umweltfaktors. Gleichzeitig bildeten die Organismen eine Reihe von Schutzmechanismen gegenüber dieser Strahlung aus. Mit der für die biologische Evolution auf der Erde revolutionären Entstehung des Photosyntheseapparates war es für Organismen möglich geworden, die elektromagnetische Energie der Sonne im sichtbaren Spektralbereich direkt über die Spaltung von Wasser zur Aufrechterhaltung der Lebensprozesse zu nutzen. Zugleich entstand eine Sauerstoffatmosphäre, die die Koexistenz von autotrophen und heterotrophen Lebewesen auf der Erde ermöglichte. Während die für die Speicherung und Weitergabe von Informationen, die Aufrechterhaltung von Stoffwechselprozessen und Strukturbildungsprozesse relevanten Biopolymere im UV Energie absorbieren, müssen die für den Energie- und Ladungstransfer wichtigen Moleküle vor allem Strahlung im sichtbaren Bereich absorbieren. Diese Anforderung ist nicht so trivial wie sie auf den ersten Blick erscheint, da eine Verschiebung der Absorption in den energieärmeren Spektralbereich eine Vergrößerung des p-Elektronensystems voraussetzt. Dies wiederum ist mit einer zunehmenden Instabilität der Verbindungen verknüpft. Als eine exzellente Lösung dieses Problems durch die Natur ist die Evolution der zyklischen Tetrapyrrole anzusehen,

die aufgrund ihrer besonderen elektronischen Eigenschaften eine Schlüsselrolle bei Energie- und Elektronentransferreaktion in lebenden Organismen spielen. Von grundsätzlicher Bedeutung sind hierbei ihre Rolle in der Photosynthese (Chlorophyll, Bacteriochlorophyll) sowie der Arbeit der Enzyme der Atmungskette (Cytochrome). Eine wesentliche Rolle spielen sie außerdem beim Transport von Sauerstoff im Blut (z. B. das Häm im Myoglobin und Hämoglobin) einer Vielzahl heterotropher Organismen. Zu erwähnen sei auch, daß das lebenswichtige Vitamin B₁₂ (Cyanokobalamin) aus einem zyklischen Tetrapyrrol mit einem Cobalt-Ion in zentraler Position besteht. Die Aufklärung und das Verständnis dieser vielfältigen, für die Lebensprozesse so überaus wichtigen Vorgänge nahm und nimmt in den Biowissenschaften einen breiten Raum ein [Do 87]. In zunehmendem Maße sind jedoch, ausgehend von dem wachsendem Verständnis der molekularen Mechanismen dieser Prozesse, die Entwicklung biomimetischer Systeme zur Photosynthese sowie die Nutzung photodynamischer Prozesse in der medizinischen Therapie (z. B. Photodynamische Therapie von Tumoren, Gentherapie), auf der Basis von Tetrapyrrolen von Interesse. Damit gewinnt diese Substanzgruppe eine weit über ihre „biologische Rolle“ hinaus reichende Bedeutung. Die Lösung dieser sehr komplexen Fragestellungen sind nicht mehr nur auf die Biowissenschaften begrenzt, sondern fordern vielmehr eine interdisziplinäre Forschungsarbeit von Naturwissenschaftlern nahezu aller Gebiete sowie von Medizinern.

1 Photophysikalische Eigenschaften von Tetrapyrrolen

1.1 Struktur

Zyklische Tetrapyrrole sind makrozyklische Verbindungen. Unter der Bezeichnung „Tetrapyrrole“ werden verschiedene Substanzgruppen zusammengefaßt wie z. B. Porphyrine, Chlorophylle, Phorbide, Phthalocyanine und Naphthalocyanine. Allen diesen Verbindungen ist ein makrozyklisches Gerüst mit vier Pyrrolen, eigen. Die Struktur der Porphyrine basiert auf dem Porphin (Abb. 1), das aus vier Pyrrolen gebildet wird, die über Methinbrücken miteinander verknüpft sind.

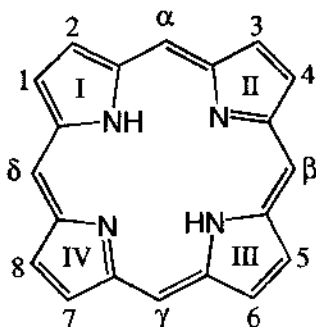


Abb. 1: Strukturformel des Porphins

Zu ihnen zählen u. a. der Hämfarbstoff des Blutes sowie das lebenswichtige Vitamin B₁₂. **Chlorophylle** sind für autotrophe Organismen von essentieller Bedeutung. Ohne diese Tetrapyrrole wäre die Photosynthese und damit die Nutzung der Sonnenenergie für das heutige Leben auf der Erde undenkbar. Die Grundstruktur der Chlorophylle und Phorbide bildet das *Phorbin*, das sich vom Porphin durch einen zusätzlichen isozyklischen Ring (V) am Ring III unterscheidet. In der Natur sind verschiedenste Chlorophylle und Bacteriochlorophylle am Prozeß der Photosynthese beteiligt [Ve 66], denen die makrozyklische Grundstruktur, das Zentralatom Magnesium sowie der Phitylrest in Position 7 gemeinsam ist. Die strukturellen Unterschiede beschränken sich auf Variationen der Substituenten am makrozyklischen Ring. Eine wesentliche Rolle in der Photosynthese kommt auch dem Phäophytin a zu, das sich vom Chlorophyll a lediglich durch Fehlen des Zentralatoms unterscheidet. Ein Abbauprodukt des Phäophytin a ist das Phäophorbid a, welches durch Abspaltung des Phitylrestes (vgl. Insert in Abb. 2) entsteht.

Phthalocyanine existieren nicht in der Natur. Sie spielen jedoch als künstliche Farbstoffe (Lebensmittel, Textilien usw.) eine wichtige Rolle in unserem Leben. Phthalocyanine unterscheiden sich von Porphyrinen dadurch, daß die Kohlenstoffatome in den *meso*-Positionen (α, β, γ, δ in Abb. 1) des Ringsystems durch Stickstoffatome ersetzt sind und an den Pyrrolringen I bis IV je ein weiterer Ring angefügt ist. **Naphthalocyanine** sind als Abkömmlinge der Phthalocyanine zu verstehen, wobei vier weitere Ringe am Phthalocyanin anniliert sind.

1.2 Elektronische Eigenschaften

Zyklische Tetrapyrrole zeichnen sich durch eine relative hohe Stabilität aus und sind in ihren elektronischen Eigenschaften durch eine Änderung des Zentralatoms oder

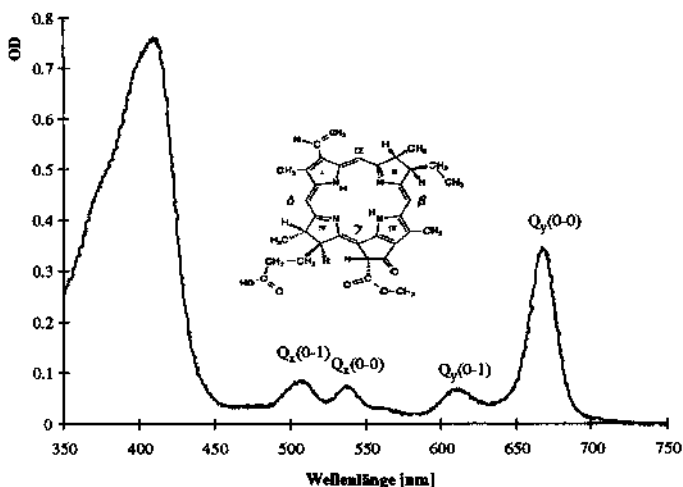


Abb. 2: Absorptionsspektrum von Phäophorbid a

Substitutionen an den Außenpositionen des Ringsystems in einem bestimmten Rahmen sehr variabel. Die charakteristischen elektronischen Eigenschaften werden jedoch wesentlich von ihrem ausgedehnten makrozyklischen π -Elektronensystem bestimmt. Deshalb ist es möglich, für die verschiedenen Substanzgruppen der Tetrapyrrole ein Modell zur Beschreibung der elektronischen Spektren zu nutzen. Allgemein wendet man das von Gouterman [Go 59] entwickelte Vier-Orbital-Modell an, bei dem die zwei höchsten besetzten (HOMO) und die beiden niedrigsten leeren (LEMO) Molekülorbitale in die Betrachtung einbezogen werden. Ausgehend von gruppentheoretischen Überlegungen können Metalloporphyrine als zyklische Polyene bestehend aus 16 Atomen behandelt werden. Da zudem die verbotenen Übergänge entartet sind, liegen sie in einer $D_{4v,h}$ -Symmetrie vor. Im Gegensatz dazu stabilisieren die beiden H-Atome im metallfreien Tetrapyrrol den 18-atomigen Ring. Entsprechend liegt eine $D_{4v+2,h}$ -

Symmetrie vor und die beiden Übergänge (Q_x und Q_y) spalten auf. Die Zuordnung der Übergänge erfolgt durch Definition der x-Achse in Richtung der beiden Wasserstoffatome im Innern des Rings. Allerdings unterscheiden sich die Oszillatorstärken der einzelnen Q-Banden für unterschiedliche Tetrapyrrolstrukturen sehr wesentlich. Während z. B. die Relation der Intensität von Soret- und die niederenergetischste Q -Bande für Porphyrine bei ca. 10 : 1 liegt, erreicht sie für Phorbide und Chlorophylle wegen des zusätzlichen Ringes V (Abb. 2) einen Wert von bis zu 2 : 1. Nach dem Modell von Gouterman wird das UV-Vis-Spektrum der Tetrapyrrole mit der Soret-Bande (B-Bande: B_x und B_y) und den Q-Banden (Q_x und Q_y) beschrieben. (Abb. 2). Außerdem ist wegen des zyklischen π -Elektronensystems das Spinverbot des Interkombinationsüberganges (ISC) zwischen erstem angeregten Singulett- und Triplettzustand wegen starker spin-Bahn-Kopplung teilweise aufgehoben, so daß der langlebige Triplettzustand nach Lichtanregung mit hoher Quantenausbeute (bis zu 90%) gebildet werden kann. Damit sind diese Verbindungen prädestiniert [1], nach Photoaktivierung als Ausgangspunkt von Energie- und Elektronentransferprozessen zu dienen. Diese Prozesse laufen in der Regel in Konkurrenz ab. Ihre relative Effizienz hängt nicht nur von den Eigenschaften des Moleküls sondern auch von der Umgebung (z. B. pH-Wert, Temperatur, Akzeptormoleküle usw.) ab.

2. Photosensibilisierung

Der Prozeß der Photosensibilisierung ist in der Natur zum einen wesentlicher Bestandteil der Photosynthese (Absorption des Lichtes über Antennenpigmente und folgender Weiterleitung an Reaktionszentren) und ist zum anderen häufig als Nebeneffekt nach intensiver Lichtbestrahlung zu beobachten. Seine weiterreichende Bedeutung wurde jedoch erst in diesem Jahrhundert voll verstanden. Ende des vergangenen Jahrhunderts entdeckte O. Raab, der unter der Leitung von v. Tappeiner arbeitete, den photodynamischen Effekt an Einzellern, als er die Wirkung einer Lösung von salzsaurem Acridin auf *Paramecium* untersuchte [Ta 00]. Er fand, daß die *Paramecien* eingingen, sobald die Lösung dem Licht ausgesetzt wurde, während an im Dunkeln gehaltenen Proben keine Reaktion zu verzeichnen

war. Tappeiner verfolgte diese Beobachtung mit seinen Schülern weiter und zeigte, daß eine ganze Reihe anderer Farbstoffe (Eosin, Erythrosin, Methylenblau usw.) in Lösung die gleiche Wirkung hervorrufen. Damit begann die intensive wissenschaftliche Beschäftigung mit dem Phänomen der Photosensibilisierung von Organismen. Nach Blum [Bl 64] versteht man unter photodynamischen Prozessen photosensibilisierte Reaktionen, die durch sichtbares Licht in biologischen Systemen induziert werden und bei denen molekularer Sauerstoff verbraucht wird. Bereits zu Beginn dieses Jahrhunderts wurde vorgeschlagen, diesen Effekt für die Photomedizin als nichtinvasive, niederenergetische Therapieform zu nutzen. Meyer-Betz zeigte in seinem mittlerweile berühmten Selbstversuch von 1913 die photodynamische Wirksamkeit des Hämatoporphyrins und seiner Derivate. In weiteren Arbeiten in der Mitte des Jahrhunderts wurden systematische Untersuchungen zur Nutzung des photodynamischen Effektes in der Photomedizin durchgeführt. Allerdings waren diese Arbeiten, dem damaligen Stand der Technik entsprechend auf die Anwendung bei Hauterkrankungen beschränkt. Besonders hervorgehoben seien dabei die Arbeiten von Auler und Banzer [Au 42] sowie von Vogel [Vo 54]. Es zeigte sich, daß vor allem Tetrapyrrole hervorragende photosensibilisierende Wirkungen zeigten.

2.1. Molekularer Mechanismus der Photosensibilisierung

Nach Absorption von Licht durch einen Photosensibilisator erfolgt der Übergang des Moleküls in den ersten angeregten Singulettzustand. Von dort erfolgt die strahlungslose Relaxation in den langlebigen Triplettzustand, von dem die nachfolgenden Photosensibilisierungsreaktionen ausgehen. Dabei unterscheidet man prinzipiell zwei Mechanismen [Fo 68]: den radikalischen **Typ I** und den **Typ II** der photodynamischen Wirkung, vermittelt durch den Energietransfer vom optisch angeregten Photosensibilisator zu molekularem Sauerstoff. Da molekularer Sauerstoff im Grundzustand – im Gegensatz zu den meisten anderen Molekülen – einen Triplettcharakter aufweist, erfolgt der Energietransfer vom Triplettzustand des Sensibilisator-moleküls mit hoher Effizienz. In der neueren Literatur [La 86] wird auch teilweise von einem **Typ III** der Photosensibilisierung,

der ohne Beteiligung von molekularem Sauerstoff abläuft, gesprochen. Wendet man diese Definition konsequent an, zählen auch Elektronentransferprozesse zu den photosensibilisierten Reaktionen.

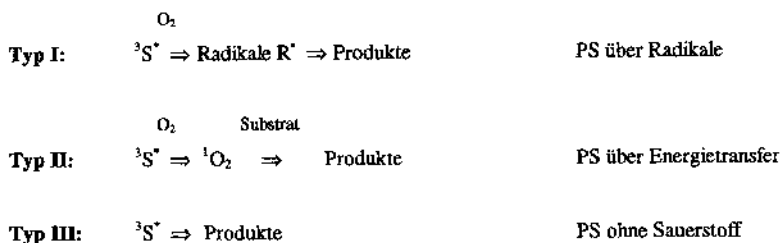
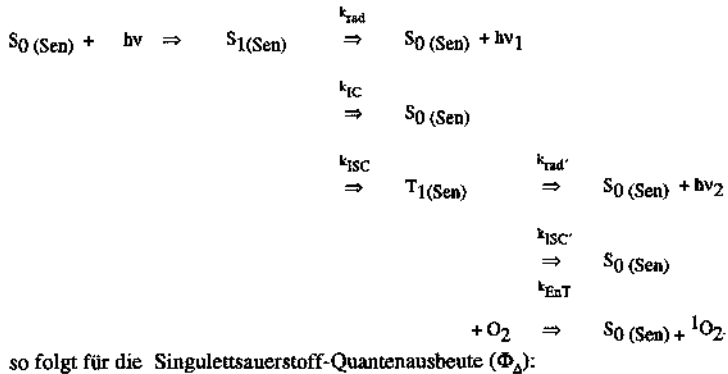


Abb. 3: Zusammenfassung der drei Typen der Photosensibilisierung (PS)

Der radikalische **Typ I** der Photosensibilisierung kann auf unterschiedlichem Wege ablaufen. In Wechselwirkung des Sensibilistormoleküls mit dem Substratmolekül kann je nach Redoxpotential ein Elektron aufgenommen oder abgegeben werden. Das entstandene Radikalion reagiert weiter mit molekularem Sauerstoff unter Bildung des Sauerstoff – Superanionradikals (${}^{\cdot}\text{O}_2$). Ebenso ist eine Wechselwirkung unter Abspaltung eines Wasserstoffatoms möglich, wobei das erzeugte Radikal mit Sauerstoff unter der Bildung von Peroxiden reagiert. Seltener anzutreffen ist die Wechselwirkung des angeregten Sensibilisators mit molekularem Sauerstoff in einem Charge-Transfer-Komplex (CTK), worin der Sauerstoff als Elektronenakzeptor fungiert. Im Resultat kann ebenfalls ${}^{\cdot}\text{O}_2$ entstehen.

Der **Typ II** ist deshalb von besonderem Interesse, da das Sensibilisatormolekül hier eine „katalysierende“ Wirkung hat. In immer neuen Zyklen kann auf dem Weg der Energietübertragung Singulett-Sauerstoff generiert werden: ${}^3\text{S}^* + {}^3\text{O}_2 \Rightarrow {}^1\text{S} + {}^1\text{O}_2$. Der gebildete Singulett-Sauerstoff kann in nachfolgenden physikalischen oder chemischen Löschprozessen (CTK, Energietransfer, Reaktion mit oxidierbaren Substraten) deaktiviert werden. Aufgrund der Tatsache, daß der Sensibilisator bei diesem Typ der Photosensibilisierung nicht verbraucht wird, ist die phototoxische Wirksamkeit der Sensibilisatoren um ein vielfaches höher als in der Photochemotherapie. Dieser Mechanismus der photodynamischen Aktivität von Tetrapyrrolen wird zunehmend im Pflanzenschutz und vor allem in der

Photomedizin zur Behandlung von Hauterkrankungen, von Tumoren u. a. Erkrankungen genutzt [Rö 93]. Diese breite Anwendung des bereits Anfang unseres Jahrhunderts entdeckten Prinzips ist heute durch die Entwicklung von Lasern und der modernen Lichtleittechnik möglich geworden, da nunmehr auch innere Oberflächen des Organismus für die **Photodynamische Therapie** (vgl. Abb. 4) zugänglich geworden sind. Die Anforderungen an einen guten Photosensibilisator umfassen sowohl physiko-chemische wie biomedizinische Aspekte. Zum einen sollte die Absorption des Sensibilisators im Bereich geringer Absorption des Gewebes, also zwischen ca. 600 nm und 900 nm liegen, andererseits muß die energetische Lage des niedrigsten angeregten Singulettzustandes nach Übergang in den Triplettzustand des Moleküls die Aktivierung von molekularem Sauerstoff ermöglichen. Da die Aktivierungsenergie für Singulett-sauerstoff 0,96eV beträgt, sollte die S₁-Absorption bei ca. 600 nm bis 840 nm liegen. Analysiert man die Prozesse, die zur Bildung von Singulett-sauerstoff führen:



$$\Phi_{\Delta} = \left\{ k_{\text{ISC}} \cdot (k_{\text{rad}} + k_{\text{IC}} + k_{\text{ISC}})^{-1} \right\} \cdot \left\{ (k_{\text{Ent}} [O_2]) \cdot (k_{\text{ISC}'} + k_{\text{rad}'} + k_{\text{Ent}} [O_2])^{-1} \right\} \cdot S_A$$

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\text{ISC}} \cdot \tau_T \cdot k_{\text{Ent}} [O_2] \cdot S_A \quad (1)$$

Darin bedeuten k die Ratenkonstanten für die entsprechenden Übergänge (ISC: Interkombinationsübergang von S₁ nach T₁; IC: interne Umwand-

lung; rad: Fluoreszenz des Sensibilisators; rad': Phosphoreszenz des Sensibilisators; ISC': Interkombinationsübergang von T_1 nach S_0 ; Ent: Energietransfer zum molekularen Sauerstoff). Mit dem Faktor S_A wird der Umstand berücksichtigt, daß nicht alle Sensibilisatormoleküle im Triplettzustand über einen Energietransfer zu molekularem Sauerstoff deaktiviert werden. Der direkte Nachweis von Singulett-Sauerstoff ist über dessen Phosphoreszenz bei 1269 nm möglich. Obwohl diese Lumineszenz eine außerordentlich geringe Quantenausbeute hat, stellt der Nachweis in organischen Lösungsmitteln heute kein besonderes Problem mehr da. Schwierig ist jedoch auch heute noch der Nachweis in wässriger Umgebung wegen der dort sehr geringen Lebensdauer (ca. 4 μ s) des Singulett-Sauerstoffs. Noch komplizierter ist der Nachweis in mikroheterogenen Systemen, in denen eine Vielzahl unterschiedlicher Lösmechanismen zur Deaktivierung des Singulett-Sauerstoffs beitragen können, was eine weitere Verkürzung der Lebensdauer mit sich bringt. Aus diesen Schwierigkeiten resultiert auch der Umstand, daß es bisher nicht gelungen ist, den Nachweis in biologischen Systemen zu führen. Wie aus der angeführten Formel (1) zu sehen ist, sind neben der bereits oben diskutierten energetischen Lage des Triplettzustandes des Sensibilisators auch dessen Triplettquantenausbeute (Φ_{ISC}) und Triplettlebensdauer (τ_T) für die Größe der Singulett-Sauerstoffquantenausbeute (Φ_Δ) von Bedeutung. Zieht man alle diese Faktoren in Betracht, so erscheinen die Tetrapyrrole als nahezu ideale Substanzgruppe für die Vermittlung photodynamischer Effekte. Als Photosensibilisatoren werden vor allem natürliche Tetrapyrrole wie Porphyrine, Chlorophylle, Phorbide und künstliche Tetrapyrrole wie Phthalocyanine auf ihre Eignung untersucht. Daneben spielt die Sauerstoffkonzentration ($[O_2]$) eine entscheidende Rolle für eine effiziente Generierung von Singulett-Sauerstoff. Insbesondere bei geringen Sauerstoffkonzentrationen kommt es zu einer drastischen Verringerung von Φ_Δ , was sehr leicht zu falschen Interpretationen von Versuchsergebnissen führen kann. Wie aus Abbildung 4 zu entnehmen ist, wird neben den bisher diskutierten Bedingungen eine selektive Anlagerung des Photosensibilisators im Zielgewebe gefordert. Da Tetrapyrrole über keinen solchen Mechanismus verfügen, kann man entweder mit einem geringen Konzentrationsunterschied in gesundem und krankem Gewebe aufgrund unterschiedlicher Aktivität von Stoffwechselprozessen arbeiten oder mit Transportmolekülen

Prinzip der Photodynamischen Therapie

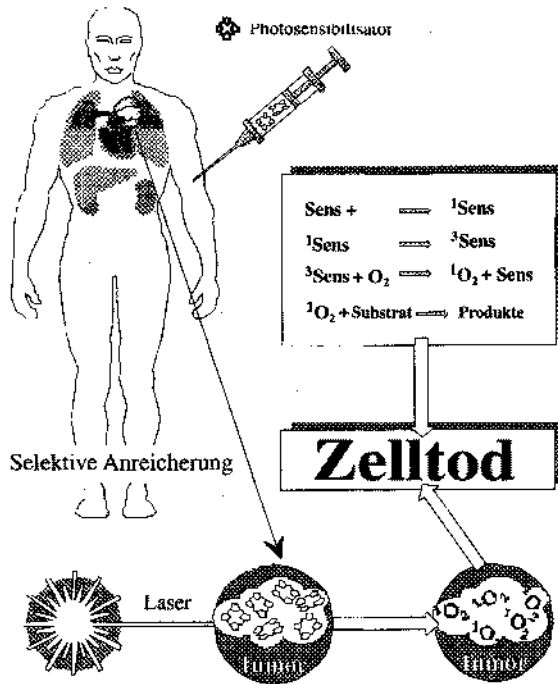


Abb. 4: Prinzip der Photodynamischen Therapie (PDT)

(carrier) arbeiten. Die Entwicklung solcher carrier-Systeme ist im Moment ein weltweit stark bearbeitetes Gebiet, welches nicht nur den Transport von Photosensibilisatoren, sondern natürlich auch von anderen z. T. hoch toxischen Arzneimitteln umfasst.

Wie bereits ausgeführt spricht man erst seit kurzer Zeit von einem **Typ III** der Photosensibilisierung, welcher ohne die Beteiligung von molekularem Sauerstoff abläuft. Dieser Mechanismus kann nur unter sehr spezifischen Bedingungen relevante Größenordnungen annehmen, wie sie z. B. in desoxygenierten Systemen oder sehr hohen lokalen Konzentrationen der Reaktionspartner gegeben sind. Als ein Beispiel sei die Photoaddition von Furocoumarinen (Psoralenen) an die DNS genannt. Weiterhin können auch die Vorgänge in Molekülkomplexen zur Erzeugung langlebiger pho-

toinduzierter Ladungstrennung, wie das Arnon-Krasnovsky-System, als Typ III-Prozesse diskutiert werden. Ebenso ist nach dieser Definition der photoinduzierte Elektronentransfer in einem Porphyrin-Chinon-System als photosensibilisierte Reaktion zu verstehen.

3. Elektronentransferprozesse

Der vektorielle Elektronentransfer spielt eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung wesentlicher Lebensprozesse wie z. B. der Photosynthese bei autotrophen Lebewesen oder der Wirkung von Enzymen in der Atmungskette. Wesentliches Merkmal dieser Prozesse ist ein sequentieller Ladungstransfer (zeitlich und räumlich) in einem System von Sensibilisator-, Donator- und Akzeptormolekülen, die anisotrop in einer Proteinmatrix angeordnet sind. Von besonderem Interesse ist hierbei, daß diese definierte Anordnung über nicht kovalente Wechselwirkungen erzielt wird. Die Erforschung der molekularen Mechanismen der Photosynthese [De 84] brachte natürlicherweise den Wunsch mit sich, diesen Prozeß in künstlichen Systemen mit möglichst hoher Effizienz nachzugestalten. Die Entwicklung eines solchen Systems wäre von revolutionärer Bedeutung für die Erschließung der Sonnenenergie als alternative Energiequelle. Damit wäre ein steter Lieferant von elektrischer und chemischer Energie gegeben. Nachdem zunächst vor allem die Möglichkeiten von Halbleitermaterialien (anorganische und organische) als Solarzellen untersucht und getestet wurden, rücken nunmehr immer mehr molekulare Assemblagen in den Mittelpunkt des Interesses der Forschung. Dabei sind sowohl Fragen der Grundlagenforschung auf experimentellem und theoretischen Gebiet von aktuellem Interesse wie auch Probleme der technischen Umsetzung, insbesondere der Stabilität der Systeme über einen langen Zeitraum von essentieller Bedeutung. Um die wesentlichen Aspekte zur Entwicklung solcher biomimetischen Systeme heraus zuarbeiten seien zunächst die Primärprozesse der Photosynthese am einfachen Beispiel photosynthetisierender Bakterien erläutert.

3.1 Die Primärschritte der natürlichen Photosynthese

Der in Abb. 5 gezeigten schematischen Darstellung der wesentlichen Bestandteile des Reaktionszentrums liegen die durch Deisenhofer et al. [De 84] mittels Röntgenkristallstrukturanalyse an *Rhodospseudo-monas viridis* bestimmte Proteinstruktur und Pigmentanordnung zugrunde. Die Abmessungen des Reaktionszentrums lassen sich mit ca. $21 \times 21 \times 11 \text{ nm}$ angeben. Das Reaktionszentrum selbst besteht aus Farbstoffen, die in einer Proteinmatrix in definierten Abständen und Orientierungen zueinander fixiert sind. Ihre spezifische Anordnung wird durch die Proteinstruktur bestimmt. Die Proteine wiederum sind innerhalb der Chloroplasten in den Thylakoidmembranen eingebettet.

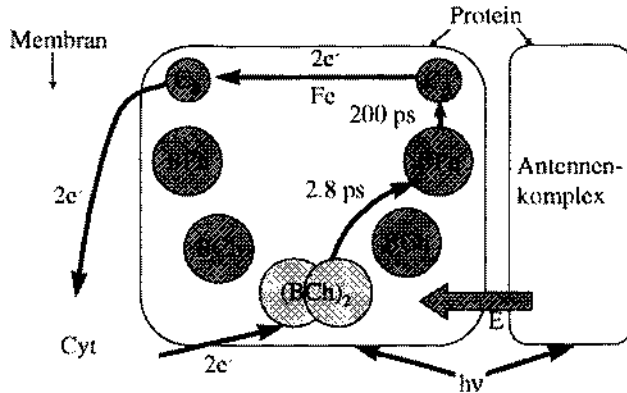


Abb.5: Schematische Darstellung des Photosynthesereaktionszentrums von Purpurbakterien (Cyt-Cytochrom, $(BCh)_2$ -Bacteriochlorophyll-Dimer „special pair“, Bch – Bacteriochlorophyll, BPh – Bacteriopheophytin, C^A – Menachinon, C_B – Ubochinon, Fe – Eisen

Die wesentlichen Farbstoffe des Reaktionszentrums sind vier Bacteriochlorophyll-Moleküle (BChl), zwei Bacteriopheophytine (BPh) sowie zwei Chinone (C_A und C_B). Die der im Reaktionszentrum erfolgenden Ladungsseparation vorangehenden Prozesse sollen hier nur kurz erwähnt werden, obwohl auch diese Prozesse der Energieleitung hoch interessant und Gegenstand ausgedehnter Forschungen sind. Nach Absorption eines Photons im Antennenkomplex durch Carotenoide, Phycobiline oder

Chlorophylle, wird die Energie zum „special pair“ des Reaktionszentrums, einem Bacteriochlorophyll dimer (BChl)₂ übertragen [Pe 82].

Dies wird durch die im Vergleich zu den Bacteriochlorophyll – Monomeren geringere Energie des ersten angeregten Singulettzustandes des Dimers begünstigt. Das nach dem Energietransfer angeregte (BChl)₂ ist der Ausgangspunkt des Ladungstransfers. Zunächst erfolgt in ca. 2,8ps ein Ladungstransfer zum ca. 1,7 nm entfernten BPh. Die Rolle des BChl-Monomers bei diesem Prozeß ist dabei noch weitgehend unklar. Danach wird ein Elektron vom BPh in ca. 200 ps zum Menachinon (C_A) übertragen. In einem dritten Schritt erfolgt dann der Elektronentransfer zum Ubichinon (C_B). Mit diesem schrittweisen Elektronentransfer wird eine Ladungsseparation über die gesamte Membran erreicht. Das Ubichinon ist nur locker am Reaktionszentrum gebunden und löst sich nach zweimaligem Durchlaufen des Zyklus. Sein Platz im Reaktionszentrum wird von einem nichtreduzierten Ubichinon eingenommen. Die Rekombination des oxidierten (Bchl)₂ erfolgt durch das Cytochrom (Cyt), welches ebenfalls nicht fest gebunden ist. Wesentlich für die hohe Effizienz der Ladungsseparation ist der Umstand, daß der Elektronentransfer in der beschriebenen Richtung für jeden einzelnen Schritt um Größenordnungen wahrscheinlicher als der Rücktransfer ist. Somit sind die Aufklärung und das Verständnis der Bedingungen für einen effizienten *vektoriellen* Elektronentransfer sowie deren Nachgestaltung wesentliche Fragestellungen der biophysikalischen Forschung.

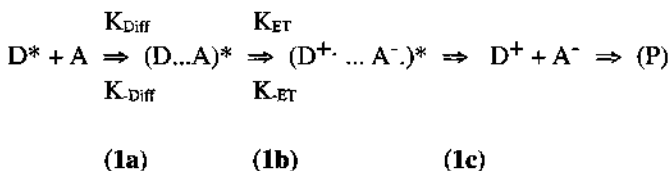
3.2 Grundlagen

Da in den meisten Systemen Energie- und Elektronentransferprozesse in Konkurrenz ablaufen, ist es wichtig, zunächst die wesentlichen Unterschiede herauszuarbeiten. Ähnlich wie bei der Austauschwechselwirkung bei Energietransfer muß eine Überlappung der Orbitale der an der Elektronenübertragung beteiligten Zustände von Donator und Akzeptor vorliegen. Mit anderen Worten, es muß eine Art „Zusammenstoß“ der beiden Moleküle erfolgen können, um einen Ladungstransfer zu realisieren. Sofern Donator und Akzeptor nicht kovalent gebunden sind und damit ihr Abstand und ihre Orientierung festgelegt sind, kann die erforderliche

räumliche Nähe über die Bildung eines Exzimers, eines Charge-Transfer-Komplexes oder über ein Lösungsmittel-separiertes-Ionenpaar verwirklicht werden. Auf die Einzelheiten der Bildung dieser verschiedenen Komplexe soll an dieser Stelle nicht eingegangen, sondern auf die sehr ausführliche Behandlung dieser Problematik bei Kavarnos [Ka 93] verwiesen werden.

Gleichzeitig wird deutlich, daß es experimentell recht schwierig werden kann, bei einer unbekanntem Quenchingreaktion eindeutig zwischen einer Desaktivierung durch Energie- oder Elektronentransfer zu entscheiden. Einen ersten Hinweis darauf, ob ein Ladungstransfer überhaupt möglich ist, kann eine Betrachtung der Redoxpotentiale von Donator und Akzeptor liefern. Im weiteren gehen wir davon aus, daß der Photoinduzierte Elektronentransfer (PIET) zwischen neutralen Donator-(D) und Akzeptor (A)-Molekülen stattfinden soll. Würden wir diese Voraussetzung nicht treffen, müßten zusätzlich mögliche elektrostatische Effekte berücksichtigt werden. Außerdem setzen wir voraus, daß sich entweder der Donator oder der Akzeptor in einem elektronisch angeregten Zustand (D^* bzw. A^*) befinden soll, der nach Absorption eines Lichtquants erreicht wird. Dabei soll es zunächst unerheblich sein, ob der PIET über das Singulett- oder das Triplett-System abläuft. Zur Vereinfachung der Betrachtung nehmen wir an, daß sich der Donator im angeregten Zustand befinden soll.

Allgemein kann eine Elektronentransfer-Reaktion nach Photoanregung als Drei-Stufen-Prozeß beschrieben werden:



Wenn Donator und Akzeptor kovalent gebunden sind, oder sich in einer Matrix (z. B. einem Protein) befinden, fällt der Teilschritt (1a) weg und K_{ET} kann direkt gemessen werden.

Um die jeweilige im Experiment beobachtete Kinetik interpretieren zu können, ist einige Kenntnis über die konkreten Zustandsenergien von Donator und Akzeptor erforderlich. Die Größe des Redoxpotentials von

D^+ und A^- kann aus Voltammetrischen Messungen gewonnen werden. Daraus läßt sich die Differenz der freien Enthalpie (DG°) zwischen dem Ausgangszustand $D + A$ und dem ladungsseparierten Zustand $D^+ + A^-$ nach folgender Beziehung berechnen:

$$DG^\circ = e (E^\circ_{D/D^+} - E^\circ_{A/A^-}) + w^P - w^R$$

darin bedeuten: E°_{D/D^+} und E°_{A/A^-} das Standard-Reduktions- bzw. Oxydations-Potential für D^+ und A^- ; w^P und w^R stehen für die Arbeit (in der Regel negativ), die aufgewandt werden muß, um $D^+ + A^-$ (Produktzustand – P) bzw. D^* und A (Reaktantenzustand – R) zusammenzubringen; e schließlich steht für die Elementarladung. Die relative Lage der Zustandsenergien ist immer lösungsmittelabhängig. So werden w^P und w^R bei schwacher Wechselwirkung allein durch die Coulombabstoßung definiert. Ist eines der beteiligten Moleküle ungeladen, werden sie praktisch Null. Für Untersuchungen in polaren Lösungsmitteln heißt dies, daß w^P und w^R vernachlässigbar klein werden. Somit kann bei derartigen Untersuchungen die freie Enthalpie unmittelbar aus dem Redoxpotential von Donator und Akzeptor ermittelt werden. Beim PIET müssen zusätzlich die Anregungsenergien bekannt sein ($D \rightleftharpoons D^*$). Für einen PIET aus dem S_1 (Singulett-Transfer) ist diese Information relativ einfach über Absorptions- bzw. Fluoreszenzmessungen zu erhalten. Komplizierter wird es bei einem PIET aus dem T_1 -Zustand (Triplet-Transfer). Teilweise können Phosphoreszenzmessungen oder die Transiente Absorptionsspektroskopie genutzt werden, oft sind aber nur indirekte Methoden anwendbar.

Wie bereits im letzten Abschnitt ausgeführt, stellt der Schritt (1b) im o.a. Schema den für den Elektronentransfer wesentlichen Übergang dar. Im Fall des PIET wird der Elektronentransfer durch eine Photoanregung des Donators (oder Akzeptors) initiiert. Durch die elektronische Anregung wird das Donator-Akzeptor-System in einen energetisch günstigen Ausgangszustand gebracht, aus dem der Elektronentransfer dann erfolgen kann. Schematisch sind die für den PIET wesentlichen Energieniveaus in Abbildung 6 zusammengefaßt. Der Produktzustand $D...A$ kann dabei sowohl ein kovalent, wie auch ein nichtkovalent gebundener Donator-Akzeptor-Komplex sein. S-ET und T-ET stehen für den Singulett- und

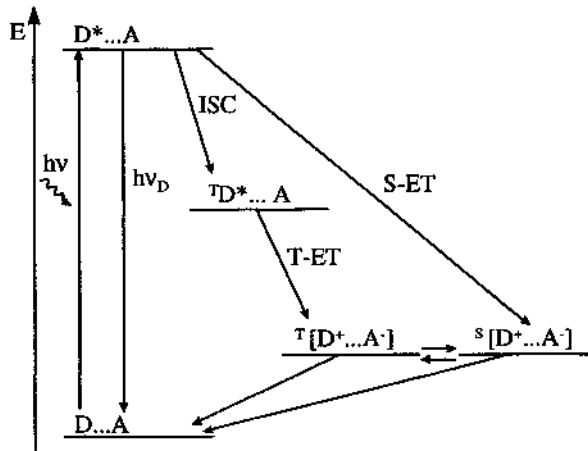


Abb. 6: Schematische Darstellung der am PIET beteiligten Energieniveaus (Erläuterung im Text)

Triplet-Elektronentransfer. Die ladungsseparierten Zustände tragen entsprechend Singulett- oder Triplet-Charakter. Da der energetische Unterschied zwischen dem Singulett- und Triplet-Zustand oft sehr gering ist (kleiner als die Hyperfeinwechselwirkung), ist ein Übergang zwischen beiden Zuständen leicht möglich. Der ladungsseparierte Zustand geht dann wieder über emissive oder strahlungslose Desaktivierungsprozesse in den Grundzustand ($D...A$) über. Photophysikalisch kann der Elektronentransfer als ein Lumineszenzlöschprozeß beschrieben werden, durch den die Fluoreszenz (S-ET) und /oder Phosphoreszenz (T-ET) des Donator-Akzeptor-Systems im Vergleich zum Verhalten separierter Donator- und Akzeptor-Moleküle gelöscht wird. Deshalb kann über die Bestimmung der Abnahme der Lebensdauern des Singulett- bzw. Triplet-Zustandes als Folge des PIET die Ratenkonstante (KET) des Elektronentransfers bestimmt werden. Obwohl die prinzipielle Möglichkeit eines Triplet-Elektronentransfers hier aufgezeigt wurde, ist doch erwiesen, daß der im Photosynthese-Reaktionszentrum erfolgende Ladungstransfer über einen Singulett-Mechanismus erfolgt. Um diesen Prozeß in entsprechenden Modellsystemen nachgestalten zu können, sind eine Reihe von Faktoren zu berücksichtigen, deren Einfluß auf die Effizienz des Ladungs-

transfers in den vergangenen Jahren Gegenstand systematischer Untersuchungen waren und auch heute sind.

3.3 Biomimetische Systeme für den Photoinduzierten Elektronentransfer

Prinzipiell wird zwischen dem intra- und intermolekularen Elektronentransfer unterschieden. Für die grundlegenden Untersuchungen zum Einfluß verschiedener Faktoren auf die Effizienz des PIET haben sich kovalent verknüpfte Systeme als besonders gut geeignet erwiesen, da bei ihnen (wie im vorherigen Abschnitt ausgeführt) die Elektronentransferrate direkt bestimmt werden kann. Beim intramolekularen PIET existieren wiederum zwei Möglichkeiten des Transfers – entlang der Bindung oder durch den Raum. Zur Untersuchung der Relevanz dieser verschiedenen Mechanismen wurden Systeme mit starren und beweglichen Brücken unterschiedlichster Länge und Struktur untersucht. Im Ergebnis konnten allgemeine Aussagen bzgl. des Ladungstransfers über Ionen-Paar-Bildung oder Exziplex-Bildung in Abhängigkeit von der Struktur der Systeme und des umgebenden Lösungsmittels abgeleitet werden. Wesentlich trug zu diesem allgemeinen Verständnis die Ausarbeitung eines theoretischen Konzeptes von Marcus [Ma 56] zur Beschreibung des Elektronentransfers bei, wofür er mit dem Nobel-Preis geehrt wurde. Die nach ihm benannte Marcustheorie ist heute allgemein akzeptiert und ein wichtiges Hilfsmittel zur Beurteilung von biomimetischen Systemen für den PIET.

Im Ergebnis dieser grundlegenden systematischen Untersuchungen folgten in den 80er Jahren intensive Arbeiten zur Synthese und Charakterisierung von Photosynthesemodellsystemen auf der Basis kovalent verknüpfter Moleküle. Dabei wurden Diaden, bestehend aus einem Porphyrin und einem Chinon (P-Q), Triaden, bestehend aus einem Carotenoid, Porphyrin und Chinon (C-P-Q), Tetraden (C-P-Q_A-Q_B) sowie (C-P_A-P_B-Q) bis hin zu Pentaden (C-P_A-P_B-Q_A-Q_B) hergestellt und untersucht [Mo/Gu 84–90]. Das Ergebnis entsprach leider nicht den Erwartungen, die, man an diese aufwendigen Synthesen geknüpft hatte. Während die Lebensdauer des ladungsseparierten Zustandes einer Triade höher als für eine Diade war, nahm diese für Tetraden und Pentaden wie-

der ab. Somit ist ein Zustand erreicht, der alle Möglichkeiten der Optimierung des PIET in kovalent verknüpften Systemen ausgeschöpft hat. Um eine weitere Erhöhung der Effizienz des PIET in künstlichen Systemen erreichen zu können, müssen offensichtlich strukturbildende nicht kovalente Wechselwirkungen, wie sie in den Thylakoidmembranen zum tragen kommen, modelliert werden. Somit stehen nunmehr neben supra-molekularen auch komplexere Systeme wie z. B. dendritische Strukturen oder molekulare Assemblagen im Mittelpunkt von Forschungen zur Schaffung biomimetischer Systeme zur Umwandlung von Sonnenenergie.

4. Methoden

Aus den bisherigen Ausführungen läßt sich leicht ableiten, daß optische Methoden für die Untersuchung der oben diskutierten Prozesse besonders geeignet sind. Neben den klassischen stationären Methoden der Absorptions- und Emissionsspektroskopie sind das vor allem die dynamische Fluoreszenzmessung und Phosphoreszenzmessung, insbesondere der Nachweis der Singulett-sauerstofflumineszenz (bei 1270 nm) sowie die dynamische Absorptionsspektroskopie im ns-, ps- und fs-Zeitbereich. Bei der Untersuchung von Ladungstransferprozessen über das Triplettssystem der Moleküle wird außerdem die stationäre und die dynamische ESR-Spektroskopie genutzt. Bei Kombination dieser Methoden kann ein nahezu vollständiges Bild der Energie- und Ladungstransferprozesse an tetrapyrrolichen Systemen gewonnen werden

5. Zusammenfassung

Die Untersuchung von photoinduzierten Energie- und Ladungstransferprozessen an Tetrapyrrolen nimmt einen breiten Raum in der heutigen biophysikalischen Forschung ein. Sie reicht von der Untersuchung molekularer Primärprozesse der Photosynthese über die Entwicklung biomimetischer Systeme der Photosynthese bis hin zur Entwicklung nichtinvasiver Therapien in der modernen Photomedizin. Darüber hinaus ist die Nutzung

von Kenntnissen zur Struktur und Funktion von Tetrapyrrolen Voraussetzung für eine erfolgreiche Umsetzung von Konzepten zur Energiegewinnung und -speicherung nicht nur in Form elektrischer, sondern auch chemischer Energie (Biomasseproduktion in „der Retorte“), zur Informationsverarbeitung (organische Mikroelektronik), in der Gentherapie usw. Aus dieser Aufzählung folgt bereits, daß eine Vielzahl heute existenter globaler Probleme, wie Energieversorgung, Ernährung und Gesundheit der Menschheit, sowie die Entwicklung umweltfreundlicher Technologien direkt oder indirekt mit der Erforschung und Modellierung der physikochemischen Eigenschaften von Tetrapyrrolen verknüpft sind (Abb. 7).

BIOLOGISCHE BEDEUTUNG VON TETRAPYRROLEN

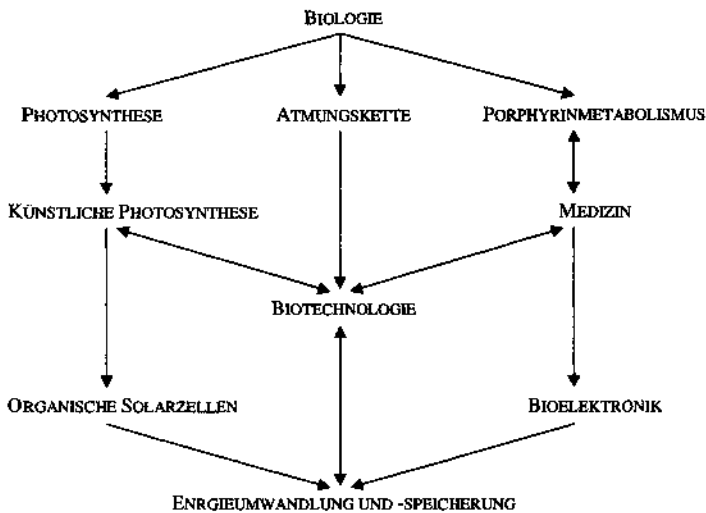


Abb. 7: Biologische Bedeutung von Tetrapyrrolen

Da diese außerordentlich komplexen Fragestellungen an sehr differenzierten, teilweise hochorganisierten Systemen untersucht werden, setzt ihre erfolgreiche Bearbeitung die interdisziplinäre Zusammenarbeit verschiedenster Bereiche der Naturwissenschaften voraus: Experimentelle und Theoretische Physik, Biophysik, Biochemie, organische und Kolloidchemie sowie verschiedene Bereiche der Biologie und Medizin. Somit läßt sich am Beispiel der Tetrapyrroolforschung in besonderem Maße die Fest-

stellung von C.-F. v. Weizsäcker „...daß die Entwicklung der Wissenschaft nicht nur zu einer zunehmenden Mannigfaltigkeit, sondern gleichzeitig auch zu einer wachsenden Vereinheitlichung der Wissenschaft führt...“ demonstrieren [We].

6. Literatur

- [Au 42] Auler H., Banzer G.: Krebsforsch. 53 (1942) 65
 [Bl 64] Blum F. H.: Photodynamic Action and Diseases Caused by Light, Hafner Publ., New York 1964
 [De 84] Deisenhofer J., Epp O., Miki K., Huber R., Michel H.: J.Mol. Biol. 180 (1984) 385
 [Do 87] Dolphin D. (Hrsg.): The Porphyrins, vol 1-6, Academic Press 1987
 [Fo 68] Foote C. S.: Science 162 (1968) 963
 [Go 59] Gouterman M.: J. Chem Phys. 30 (1959) 1139
 [Ka 93] Kavarnos G.J.: Fundamentals of Photoinduced Electron Transfer, VCH Publ. Inc. 1993
 [La 86] Laustriat G.: Biochim. 68 (1986) 771
 [Ma 56] Marcus R. A.: J. Chem. Phys. 24 (1956) 966
 [Me 13] Meyer-Betz F.: Dtsch Arch.Klein.Med. 112 (1913) 476
 [Mo/Gu 84-90] Moore T. A., Gust D. et al.: Nature 307 (1984) 630
 Gust D., Moore T. A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 107 (1986) 3631
 Gust D., Moore T. A.: Science 244 (1989) 35
 Gust D., Moore T. A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 108 (1987) 846
 Gust D., Moore T. A. et al.: Science 248 (1990) 199
 [Pe 82] Pearlstein R. M.: Photochem.Photobiol. 35 (1982) 835
 [Rö 93] Röder B.: Photosensibilisatoren für die PDT, in: Angewandte Lasermedizin, Hrsg.: Berlien H.-P., Müller H., ecomed Verlag 1993, 6.Erg. Lfg. 2/93, III-3.15.1, S.1-12
 [Ta 00] v. Tappeiner H.: Münch. Med. Wochenschr. 47 (1900) 5
 [Ve 66] Vernon L. P., Seely G. R.: The Chlorophylls, Academic Press 1966
 [Vo 54] Vogel G.: Das Chlorophyll in Medizin und Kosmetik, Nürnberg 1954
 [We] v. Weizsäcker C.-F.: Die philosophische Interpretation der Physik, NOVA ACTA LEOPOLDINA, Neue Folge Nr. 207, Bd. 37/2, S.13