

den zuerst die beiden  $\pi$ -Radikalanionen und dann die  $\pi$ -Dianionen gebildet. Die einzelnen Chinoneinheiten verhalten sich, bedingt durch Coulomb-Effekte, elektrochemisch unterschiedlich. Eine Zugabe von  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  hebt diesen Effekt auf, zumindest für die Bildung der  $\pi$ -Radikalanionen, und stabilisiert die entstehende negative Ladung durch Bildung von Ionenpaaren. Diese Stabilisierung beträgt etwa 490 meV und entspricht der Differenz der Stabilitätskonstanten für die Bindung von Kationen an die Chinone und ihre  $\pi$ -Radikalanionen. Bei einem Kationenüberschuß ist die elektrochemische Reduktion irreversibel, wobei das gebundene Kation oder ein Kation aus der Lösung an der Ionenpaarbildung beteiligt sein kann. Ähnlich verhält sich **1**, allerdings ist das Potential hier lediglich um ca. 140 meV verschoben, was nahelegt, daß die Änderung der Stabilitätskonstante beim Übergang vom Chinon zum  $\pi$ -Radikalanion geringer ist, vermutlich, weil die Chinon-O-Atome bereits an der Komplexbildung beteiligt sind und/oder weil der dikationische Donor eine zusätzliche Ionenpaarbildung verhindert. Für **2** beträgt die Stabilisierung des  $\pi$ -Radikalanions durch  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  ca. 600 meV, was nahelegt, daß bei der Ionenpaarbildung überwiegend ein zweites Kation aus der Lösung beteiligt ist.

- [13] A. C. Benniston, A. Harriman, V. Grosshenny, R. Ziessel, *New J. Chem.* **1997**, 21, 405.  
 [14] B. Brocklehurst, *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 536.  
 [15] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 811, 265.  
 [16] a) K. Ozutsumi, K. Kohyama, K. Ohtsu, T. Kawashima, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1995**, 3081; b) die quantitative Auswertung der Fluoreszenztitration (auszugsweise in Abb. 3a) ergibt für die Komplexbildung von  $\text{K}^+$  durch [18]Krone-6 unter diesen Bedingungen  $\lg K = 4.26$ .  
 [17] P. D. Beer, P. A. Gale, Z. Chen, M. G. B. Drew, J. A. Heath, M. I. Ogden, H. R. Powell, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 5880.  
 [18] S. Shinkai, S. Araki, M. Kubota, T. Arimura, T. Matsuda, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 295.  
 [19] J. Blixit, C. Detellier, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 8536.  
 [20] M. Gomez-Kaifer, P. A. Reddy, C. D. Gutsche, L. Echegoyen, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5222.

## Rekonstitution eines de novo synthetisierten Hämproteins auf einer Oberfläche für bioelektronische Anwendungen\*\*

Eugenii Katz, Vered Heleg-Shabtai, Itamar Willner,\*  
 Harald K. Rau und Wolfgang Haehnel\*

Die Herstellung eines elektrischen Kontaktes zwischen redoxaktiven Proteinen und Elektrodenoberflächen ist von grundlegendem Interesse bei der Anwendung redoxaktiver Biomaterialien für bioelektronische Geräte,<sup>[1]</sup> Biosensoren,<sup>[2]</sup> Brennstoffzellen mit Proteinkatalysatoren<sup>[3]</sup> und optobioelektronische Systeme.<sup>[4]</sup> Durch die Abwandlung von Redoxenzymen mit elektroaktiven Relaisgruppen<sup>[5]</sup> oder durch die

Immobilisierung von Biokatalysatoren auf Polymeren mit redoxaktiven Gruppen<sup>[6]</sup> ist es möglich, eine elektrische Kommunikation zwischen den redoxaktiven Zentren des Proteins und der Elektrodenoberfläche herzustellen. Kürzlich wurde die Rekonstitution eines Apoflavoenzym auf einer Elektrode beschrieben, die mit einer Flavin-Adenosin-Dinucleotid(FAD)-Monoschicht funktionalisiert war. Dabei wurde eine Elektronenübertragung zwischen dem ausgerichteten Biokatalysator und der Elektrodenoberfläche gemessen.<sup>[7]</sup> Dieses Konzept wurde zum Aufbau von Enzymelektroden erweitert. Dazu wurden die aus Cofaktor und Biokatalysator bestehenden Affinitätskomplexe mit der Elektrodenoberfläche quervernetzt. Die derart konzipierten elektrisch verknüpften Enzymelektroden wurden als Biosensoren eingesetzt.<sup>[8]</sup>

Ein ausgedehntes Forschungsgebiet beschäftigt sich mit der De-novo-Proteinsynthese, die für die biomimetische Chemie neue Perspektiven bietet.<sup>[9, 10]</sup> Besonders die Herstellung synthetischer Proteine mit antiparallelen  $\alpha$ -Helix-Elementen an einem cyclischen Peptid ist ein erfolgreiches Verfahren zur Synthese gezielt entworfener Strukturen.<sup>[11]</sup> Diese Methode führte auch bei der Synthese eines Cytochrom-b-Analogons zum Erfolg, bei dem sich vier antiparallele Helices, die zwei Häm-Bindungsstellen im hydrophoben Kern enthielten, zusammenlagerten.<sup>[12]</sup> Die Erforschung der katalytischen Eigenschaften und der maßgeschneiderten Redoxfunktionen dieser synthetischen Proteine ist für die zukünftige Bioelektronik im Nanometermaßstab eine Herausforderung.

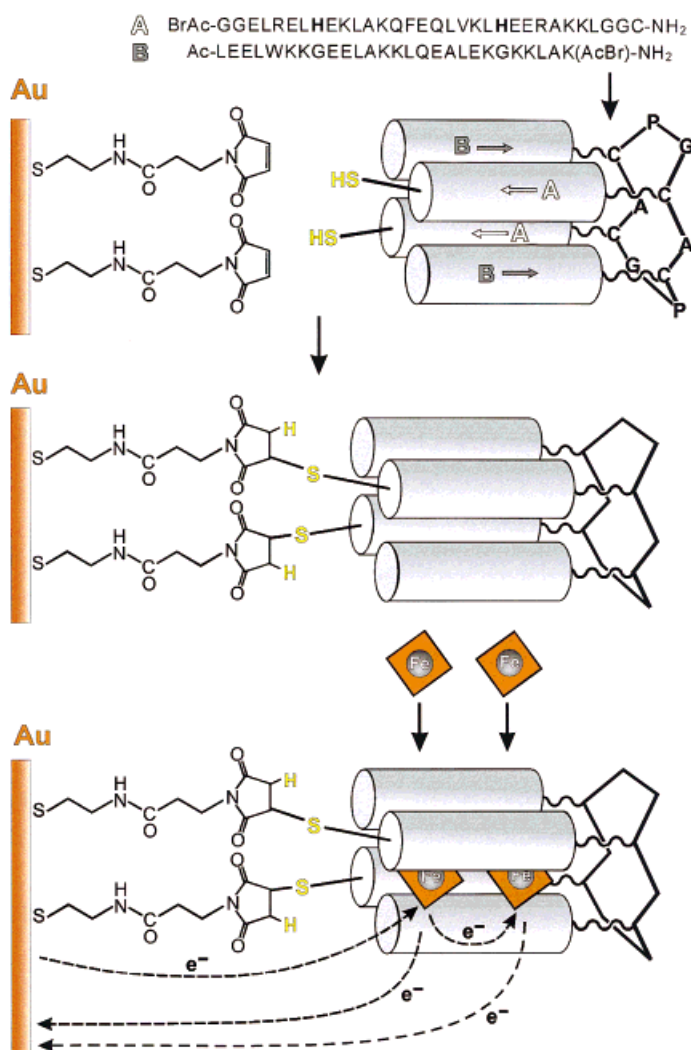
Wir berichten hier über das Aufbringen einer Monoschicht eines synthetischen Vier-Helix-Bündel-Protein besteht, auf eine Au-Elektrode und zeigen, wie zwei  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Protoporphyrin-IX-Komplexe schrittweise in dieses synthetische Protein eingebaut werden. Dabei entsteht ein elektrischer Kontakt zwischen dem rekonstituierten Protein und der Elektrodenoberfläche, und ein gerichteter Elektronentransfer findet in dieser geordneten, redoxaktiven Monoschicht statt. Dabei wirkt das synthetische Hämprotein als Gleichrichter. Wir zeigen auch, daß das synthetische Hämprotein als Vermittler für den Elektronentransfer zum natürlichen Redoxprotein Nitratreduktase dient und so die bioelektrokatalysierte Reduktion von Nitrat fördert.

Die Struktur des de novo synthetisierten Proteins ist in Schema 1 gezeigt. Das Protein (14728 Da) besteht aus 128 Aminosäuren und wurde aus ungeschützten, zuvor mit HPLC gereinigten Peptiden aufgebaut.<sup>[12]</sup> Dazu wurden die  $N_\epsilon$ -Bromacetyllysine der Helix B und die Bromacetylglutaminreste der Helix A an die Cystein-SH-Gruppen des Templates gekuppelt. Über die flexiblen Gly-Gly-Einheiten in den beiden A-Helices wurde das de novo synthetisierte Protein kovalent an die Elektrodenoberfläche gebunden. Jedes Helixbündel enthält vier Histidinreste, die so angeordnet sind, daß sie als axiale Liganden für die  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Ionen in den Häm-Gruppen fungieren können.

Schema 1 zeigt auch die Anlagerung des synthetischen Proteins als Monoschicht auf der Au-Oberfläche. Hierzu wurde das heterobifunktionelle Reagens *N*-Succinimidyl-3-maleinimidopropionat zuerst an eine Cysteamin-Monoschicht auf der Au-Elektrode gekuppelt und anschließend über die endständigen Maleinimidgruppen kovalent mit den Thiol-

[\*] Prof. I. Willner, Dr. E. Katz, V. Heleg-Shabtai  
 Institute of Chemistry, The Hebrew University of Jerusalem  
 Givat Ram, Jerusalem 91904 (Israel)  
 Fax: (+972) 2-6527715  
 E-mail: willnea@vms.huji.ac.il  
 Prof. W. Haehnel, H. K. Rau  
 Institute für Biologie II/Biochemie der Universität  
 Schänzlestraße 1, D-79104 Freiburg  
 E-mail: haehnel@uni-freiburg.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom BMBF (Beo22) und von der Volkswagenstiftung gefördert.



Schema 1. Schrittweiser Aufbau der Monoschicht des de novo synthetisierten, rekonstituierten Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin-Proteins auf einer Au-Elektrode.

gruppen des Proteins verknüpft.<sup>[13]</sup> Die so gebildete Monoschicht wurde mit Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX in Kontakt gebracht. Ihr Cyclovoltammogramm weist eine einzige Redoxwelle auf (Einschub in Abb. 1A). Bei der differentiellen Pulsvoltammetrie erhält man für die beiden Hämgruppen zwei sich überlappende Redoxwellen (Abb. 1A), die sich auf zwei separate elektrochemische Prozesse zurückführen lassen: erstens in die Reduktion des einen Hämzentrums bei  $-0.423\text{ V}$  (gemessen gegen die gesättigte Kalomelelektrode (SCE)) und zweitens in die um ca.  $66\text{ mV}$  zu einem positiven Potential verschobene Reduktion des zweiten Hämzentrums bei  $-0.357\text{ V}$  (gegen SCE). Diese Werte stimmen mit denen für das lösliche Protein gemessenen überein. Der coulometrischen Analyse der Redoxwellen für die beiden gebundenen Hämgruppen zufolge liegen pro Proteinbündel zwei Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin-IX-Einheiten vor. Die Beladung der Oberfläche mit rekonstituiertem synthetischem Hämprotein beträgt  $2.5 \times 10^{-11}\text{ mol cm}^{-2}$ . Ähnliche Cyclovoltammogramme und differentielle Pulsvoltammogramme erhielten wir für ein synthetisches Hämprotein, das in Lösung mit Fe<sup>III</sup>-Protopor-

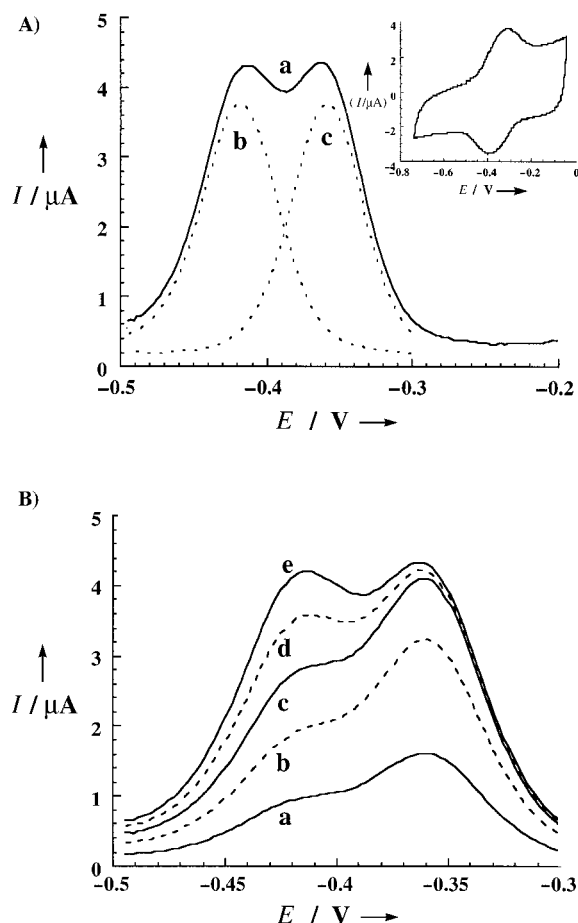


Abb. 1. A) Differentielles Pulsvoltammogramm (a) und dessen Auftrennung in zwei Voltammogramme (b, c) für das Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX, in einer Monoschicht eines synthetischen Proteins auf einer Au-Elektrodenoberfläche rekonstituiert wurde. Einschub: Cyclisches Voltammogramm dieses Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrins. Vorschubgeschwindigkeit:  $200\text{ mV s}^{-1}$ . B) Differentielle Pulsvoltammogramme für Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX im Verlauf der Rekonstitution in das synthetische Protein nach: a) 20 min, b) 40 min, c) 60 min, d) 80 min, e) 100 min. Die Rekonstitution wurde mit einer Lösung von Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX in DMSO ( $1 \times 10^{-4}\text{ M}$ ) durchgeführt. Die Vorschubgeschwindigkeit betrug für alle differentiellen Pulsvoltammogramme  $20\text{ mV s}^{-1}$ , die Pulshöhe  $2\text{ mV}$ . Messungen in  $0.1\text{ M}$  Phosphatpuffer, pH 7.0,  $25^\circ\text{C}$ , Elektrodenoberfläche  $0.2\text{ cm}^2$ , Rauigkeitsfaktor 1.3.

phyrin IX rekonstituiert und dann an die Elektrode gekuppelt wurde. Bei einem angenommenen Durchmesser von ca.  $25\text{ Å}$  für die Grundfläche des Vier-Helix-Bündels ergibt sich für deren theoretische Oberflächenkonzentration ca.  $2.7 \times 10^{-11}\text{ mol cm}^{-2}$ . Wir folgern daraus, daß das Bündel aus vier Helices eine annähernd dichtest gepackte, also nahezu vollständig geschlossene Monoschicht bildet. Abb. 1B zeigt die Wellen der differentiellen Pulsvoltammogramme nach verschiedenen Zeitintervallen nach der Zugabe von Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX zur Monoschicht. Es ist ersichtlich, daß sich die Hämgruppe mit dem etwas negativeren Redoxpotential etwas langsamer im synthetischen Protein einlagert. Die Ergebnisse zeigen auch, daß die einzelnen Redoxpotentiale der beiden Hämgruppen von der Proteinumgebung an den Bindungsstellen beeinflusst werden.

Abb. 2A zeigt das chronoamperometrische Verhalten der Proteinmonoschicht nach der Zugabe der Hämgruppen. Man

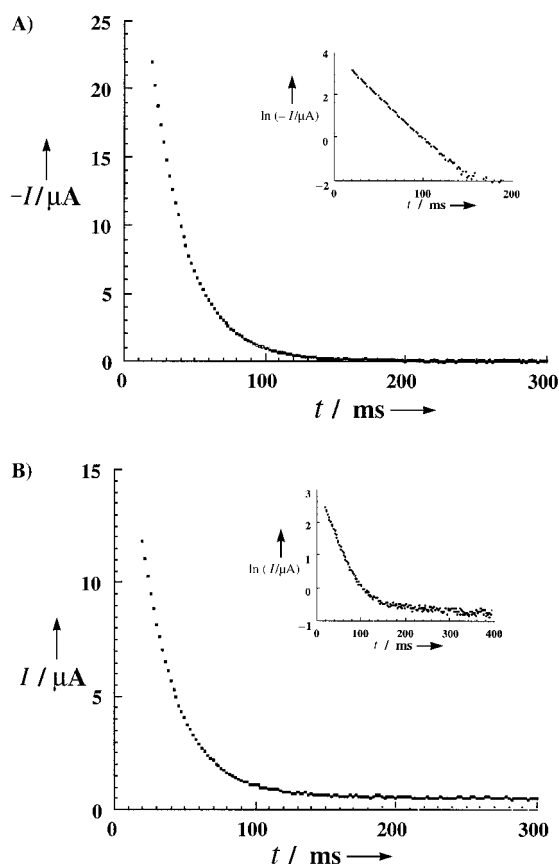


Abb. 2. A) Die chronoamperometrische Reaktion auf die Reduktion der Monoschicht des auf der Elektrodenoberfläche rekonstituierten, synthetischen  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Protoporphyrin-IX-Proteins (Potentialschritt von  $-0.2$  bis  $-0.5$  V gegen SCE). Einschub: halblogarithmische Auftragung des Stromabfalls bei der Reduktion. B) Chronoamperometrische Reaktion auf die Oxidation der Monoschicht des auf der Elektrodenoberfläche rekonstituierten, synthetischen  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Protoporphyrin-IX-Proteins (Potentialschritt von  $-0.6$  bis  $-0.3$  V gegen SCE). Einschub: halblogarithmische Auftragung des Stromabfalls bei der Oxidation. – Alle Messungen wurden in  $0.1\text{ M}$  Phosphatpuffer bei pH 7.0 bei  $25^\circ\text{C}$  durchgeführt.  $I$  = Stromstärke,  $E$  = Potential gegen SCE.

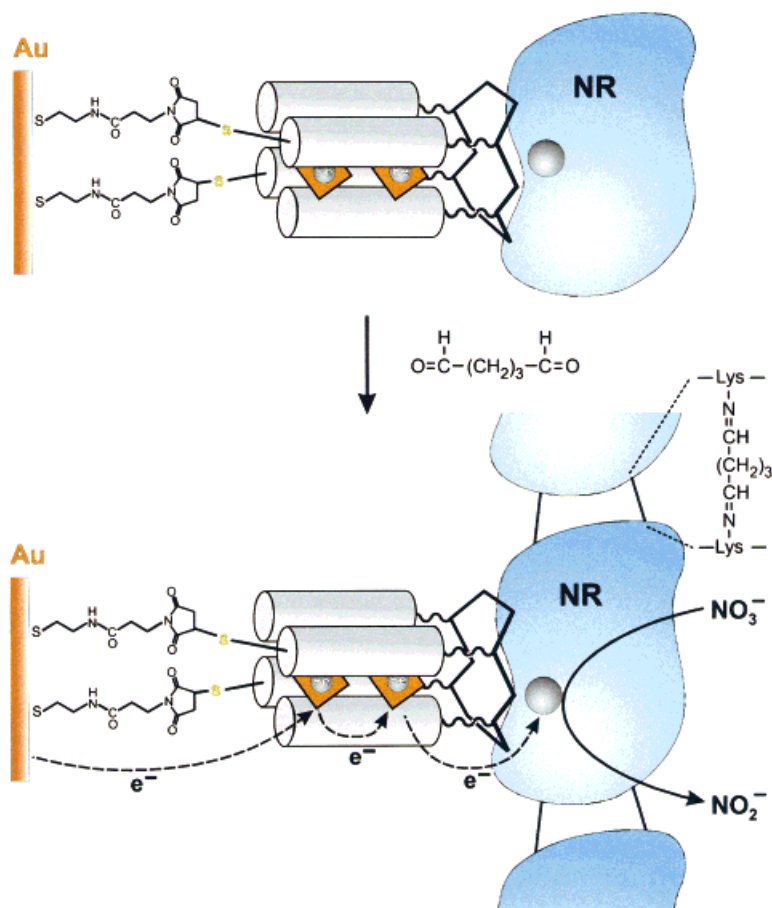
erwartet bei zwei Hämgruppen mit verschiedenem Abstand zur Elektrodenoberfläche einen biexponentiellen Stromabfall mit einem schnelleren Elektronentransfer auf das der Elektrode am nächsten gelegene Häm.<sup>[14]</sup> Der transiente Strom zeigt jedoch eine einfache exponentielle Elektronentransfergeschwindigkeit an (Einschub in Abb. 2 A), was sich auf einen gerichteten Elektronentransfer innerhalb der bifunktionellen  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Protoporphyrin-IX-Gruppierung (Schema 1) zurückführen läßt. Die einfache Geschwindigkeitskonstante entspricht dem schnellen Elektronentransfer auf das der Elektrode näher gelegene Häm. Ein schneller Elektronentransfer von dieser Hämgruppe zum zweiten Häm konkurriert mit dem direkten Elektronentransfer von der Elektrode über eine größere Entfernung zum zweiten Häm. Darum ist die Reduktionsgeschwindigkeit für diese bifunktionelle Anordnung von der Geschwindigkeit des Elektronentransfers von der Elektrode auf das ihr am nächsten gelegene Häm bestimmt. Daraus folgt das Auftreten einer Elektronentransferkaskade, bei der dieses Häm das negativere Potential haben muß. Daß sich das  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -Protoporphyrin mit dem

negativeren Potential im Protein langsamer rekonstituiert, läßt sich mit einem erschwerten Zugang des Häms zur unmittelbaren Nähe der Elektrodenoberfläche erklären. Die Aussage über die gerichtete Elektronentransferkaskade in diesem synthetischen Hämprotein wird unterstützt durch das chronoamperometrische Verhalten des reduzierten Systems (Abb. 2 B). Dessen Oxidation folgt mit einem biexponentiellen Stromabfall mit einem schnellen ( $k = 40\text{ s}^{-1}$ ) und einem langsamen Elektronentransfer ( $k = 1\text{ s}^{-1}$ ) verbunden (Einschub in Abb. 2 B). Die Geschwindigkeit für den schnellen Elektronentransfer ist identisch mit jener, die man für die Reduktion mißt, und entspricht folglich der Oxidation des der Elektrodenoberfläche am nächsten gelegenen  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Häms. Die Geschwindigkeit des langsamen Elektronentransfers wird der Oxidation des entfernteren  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Zentrums zugeordnet, die sich deshalb beobachten läßt, weil das der Elektrode am nächsten gelegene Häm wegen seines negativeren Redoxpotentials nicht als Vermittler für diese Oxidation fungieren kann. Die Anordnung aus dem bifunktionellen Häm und dem de novo synthetisierten Protein weist folglich Eigenschaften eines bioelektronischen Gleichrichters auf. Der vektorielle Elektronentransfer ist in diesem System deshalb so effektiv, weil hier die Reduktionspotentiale der beiden Hämzentren in geeigneter Weise aufeinander abgestimmt sind. Der umgekehrte Elektronentransfer zurück zur Elektrode ist verzögert, weil das erste, der Elektrode am nächsten gelegene Häm als Barriere für den Oxidationsprozeß wirkt.

Die auf die Elektrode aufgebraute Monoschicht des De-novo-Hämproteins, die in elektrischem Kontakt mit der Elektrode steht, fördert den Elektronentransfer auf native Redoxproteine und vermittelt bioelektrokatalysierte Reaktionen. Die Wechselwirkung der Monoschicht des synthetischen bifunktionellen Hämproteins auf der Elektrode mit der nativen Cytochrom-abhängigen Nitratreduktase (NR; EC 1.9.6.1) aus *E. coli* führt zur Bildung eines Affinitätskomplexes (Schema 2). Dieser Befund stützt sich auf mikrogravimetrische Messungen mit einer Quarzkristall-Mikrowaage. Die Annahme, daß die Nitratreduktase an das cyclische Gerüst des Proteins bindet, wird durch die Tatsache gestützt, daß das De-novo-Protein dicht gepackt vorliegt. Dieser Affinitätskomplex wurde mit Glutardialdehyd quervernetzt, und man erhielt so eine stabile, integrierte, bioelektrokatalytisch aktive Elektrode.

Abbildung 3 zeigt das Cyclovoltammogramm für das auf der Elektrodenoberfläche integrierte Enzym. Der elektrokatalytische Kathodenstrom zeigt nach Zugabe von Nitrat die bioelektrokatalysierte  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion bei einem für das synthetische Hämprotein charakteristischen Potential. Bei Kontrollexperimenten ohne NR oder, wenn die NR direkt an die Maleinimid-Monoschicht auf der Elektrode gekuppelt ist, erfolgt keine bioelektrokatalysierte  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion. Folglich erleichtert das an die Elektrode geknüpfte synthetische Hämprotein den Elektronentransfer zur NR und vermittelt die bioelektrokatalysierte  $\text{NO}_3^-$ -Reduktion. Das amperometrische Verhalten der integrierten bioelektrokatalytischen Elektrode ist von der Nitratkonzentration abhängig (Einschub in Abb. 3).

Wir haben in dieser Arbeit die Eigenschaften einer Monoschicht eines de novo synthetisierten Proteins mit zwei



Schema 2. Aufbau der integrierten Schichtelektrode, die aus Nitratreduktase (NR) und dem rekonstituierten Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin-IX-Protein zusammengesetzt ist.

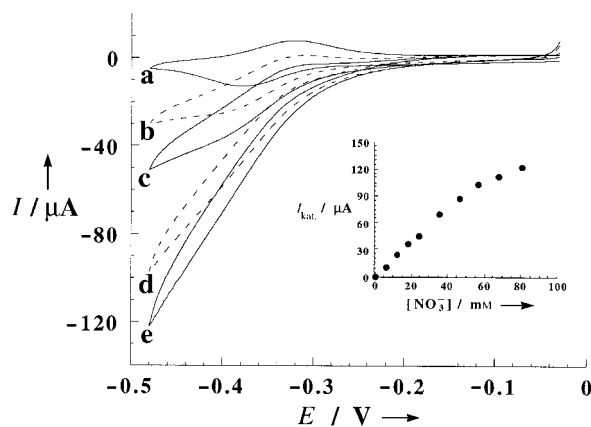


Abb. 3. Cyclische Voltammogramme der integrierten Schichtelektrode, die aus quervernetzter Nitratreduktase und dem Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin-IX-de-novo-Protein zusammengesetzt ist, bei folgenden NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentrationen: a) 0 mM, b) 12 mM, c) 24 mM, d) 46 mM, e) 68 mM (Vorschubgeschwindigkeit 5 mV s<sup>-1</sup>). Einschub: Eichkurve für das amperometrische Verhalten der Elektrode (bei -480 mV gegen SCE) bei verschiedenen NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentrationen. – Alle Messungen wurden in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7.0) bei 25 °C durchgeführt; Elektrodenoberfläche 0.2 cm<sup>2</sup>, Rauigkeitsfaktor ≈ 20, *I* = Stromstärke, *E* = Potential gegen SCE.

bifunktionellen Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrinen auf eine Au-Elektrode untersucht. Wir konnten den Nachweis für einen elektrischen Kontakt zwischen dem synthetischen Redoxprotein

und dem elektrisch leitenden Träger führen. Wir beschrieben, wie sich Fe<sup>III</sup>-Protoporphyrin IX im Protein rekonstituiert, wie dieses synthetische Redox-Protein aufgebaut ist und diskutierten bioelektronische Anwendungen dieser funktionalisierten Elektrode. Insbesondere gelang uns der Nachweis, daß das bifunktionelle synthetische Hämprotein im elektrischen Kontakt mit der Elektrode als bioelektronischer Gleichrichter wirkt und als Grundlage für die Integration von Enzymen als Biosensoren fungieren kann. Es ergibt sich ein breites Anwendungsfeld für De-novo-Proteine, die in elektrischem Kontakt mit einer Elektrodenoberfläche stehen, auf der sie rekonstituiert wurden. Künftige Synthesen könnten so variiert werden, daß man ein auf die gewünschte Funktion abgestimmtes De-novo-Protein erhält.

Eingegangen am 8. Juni 1998 [Z11957]

**Stichwörter:** Bioelektronik • Biosensoren • Elektronentransfer • Monoschichten • Proteine

- [1] W. Göpel, *Biosens. Bioelectron.* **1995**, *10*, 35–59.
- [2] a) P. N. Bartlett in *Biosensor Technology, Fundamentals and Applications* (Hrsg.: R. P. Buck, W. E. Hatfield, M. Umaña, E. F. Bowden), Marcel Dekker, New York, **1990**, Kap. 7, S. 95–115; b) A. Heller, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 3579–3587; c) I. Willner, E. Katz, B. Willner, *Electroanalysis* **1997**, *9*, 965–977; d) E. Katz, V. Heleg-Shabtai, B. Willner, I. Willner, A. F. Bückmann, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1997**, *42*, 95–104.
- [3] a) I. Willner, G. Arad, E. Katz, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1998**, *44*, 209–214; b) I. Willner, E. Katz, F. Patolsky, A. F. Bückmann, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1998**, 1817–1822.
- [4] a) I. Willner, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 347–356; b) I. Willner, B. Willner, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1997**, *42*, 43–57; c) I. Willner, S. Rubin, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 419–439; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 367–385; d) I. Willner, E. Katz, B. Willner, R. Blonder, V. Heleg-Shabtai, A. F. Bückmann, *Biosens. Bioelectron.* **1997**, *12*, 337–356.
- [5] a) Y. Degani, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2615–2620; b) W. Schuhmann, *Biosens. Bioelectron.* **1995**, *10*, 181–193; c) I. Willner, N. Lapidot, A. Riklin, R. Kasher, E. Zahavy, E. Katz, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1428–1441.
- [6] a) A. Heller, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 128–134; b) I. Willner, E. Katz, N. Lapidot, P. Bäuerle, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1992**, *29*, 29–45.
- [7] I. Willner, V. Heleg-Shabtai, R. Blonder, E. Katz, G. Tao, A. F. Bückmann, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10321–10322.
- [8] a) A. Bardea, E. Katz, A. F. Bückmann, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9114–9119; b) V. Heleg-Shabtai, E. Katz, S. Levi, I. Willner, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 2645–2651; c) V. Heleg-Shabtai, E. Katz, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8121–8122.
- [9] a) A. F. DeGrado, Z. R. Wassermann, J. D. Lear, *Science* **1989**, *243*, 622–628; b) M. Mutter, S. Vuilleumier, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 551–571; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 535–554; c) J. W. Bryson, S. F. Betz, H. S. Lu, D. J. Suich, H. X. Zhou, K. T. O'Neil, W. F. DeGrado, *Science* **1995**, *270*, 935–941; d) R. B. Hill, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1138–1145; e) B. R. Gibney, S. E. Mulholland, F. Rabanal, P. L. Dutton, *Proc. Natl. Acad. Sci. US* **1996**, *93*, 15041–15046.

- [10] a) C. T. Choma, J. D. Lear, M. J. Nelson, P. L. Dutton, D. E. Robertson, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 856–865; b) D. E. Robertson, R. S. Farid, C. C. Moser, J. L. Urbauer, S. E. Mulholland, R. Pidikiti, J. D. Lear, A. J. Wand, W. F. DeGrado, P. L. Dutton, *Nature* **1994**, *368*, 425–432; c) F. Rabanal, W. F. DeGrado, P. L. Dutton, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 473–474; d) F. Arai, K. Kobata, H. Mihara, T. Fujimoto, N. Nishino, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 1989–1998.
- [11] M. Mutter, E. Altmann, K.-H. Altmann, R. Hersperger, P. Koziej, K. Nebel, G. Tuchscherer, S. Vuilleumier, H. U. Gremlich, K. Müller, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 835–847.
- [12] H. K. Rau, W. Haehnel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 468–476.
- [13] Aus dem Wert von  $4.8 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$  für die Oberflächenbelegung der als Basis dienenden Monoschicht aus Maleinimid schließen wir auf einen mittleren intermolekularen Abstand zwischen zwei Resten von 18 Å. Dieser Wert ist nahezu identisch mit dem Abstand zwischen den beiden Helices mit den Cysteinseitenketten, so daß wir von einer zweifachen Anbindung des De-novo-Proteins ausgehen.
- [14] E. Katz, I. Willner, *Langmuir* **1997**, *13*, 3364–3373.

## Photostrukturierbare Hydrosilylierung von porösem Silicium\*\*

Michael P. Stewart und Jillian M. Buriak\*

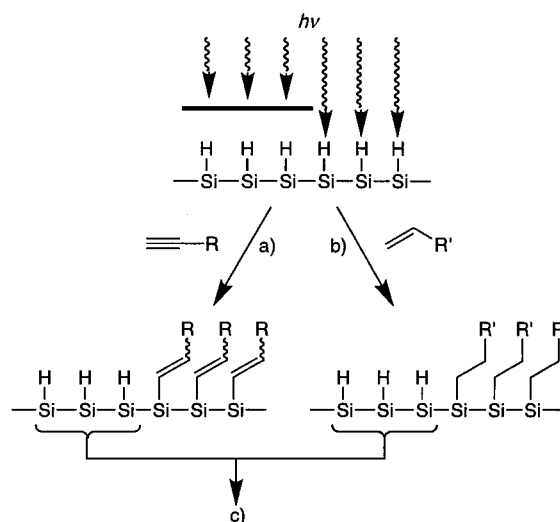
Poröses Silicium (por-Si) ist ein Material, das durch anisotrope anodische oder chemische Korrosion von kristallinem Silicium mit Fluorwasserstofflösungen hergestellt wird.<sup>[1]</sup> Auf der dabei erhaltenen Hydrid-passivierten Oberfläche befinden sich Si-H<sub>x</sub>-Gruppen ( $x = 1, 2, 3$ ), exponierte, über Einfachbindungen verknüpfte Si-Si-Gruppen sowie Si-Zentren mit freien Valenzen („dangling bonds“).<sup>[2]</sup> Das por-Si-Material besteht aus dieser Oberfläche, sublaminalem, nanokristallinem Silicium und 55–95 % leerem Raum.<sup>[1]</sup> Die 1990<sup>[3]</sup> beschriebene Photolumineszenz (PL) im sichtbaren Licht verstärkte das Interesse an der Verwendung<sup>[4]</sup> von effizienten,<sup>[5]</sup> Licht-emittierenden por-Si-Materialien in gegenwärtig und zukünftig genutzten Silicium-Bauteilen für schnelle optoelektronische Systeme. Wir haben Strategien für eine verbesserte Passivierung der por-Si-Oberfläche entwickelt und den Einfluß der Passivierung auf die Photolumineszenz und die chemische Stabilität untersucht.

[\*] Prof. Dr. J. M. Buriak, M. P. Stewart  
Department of Chemistry  
Purdue University  
West Lafayette, IN 47907-1393 (USA)  
Fax: (+1) 765-494-0239  
E-mail: buriak@purdue.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Purdue University und der Purdue Research Foundation sowie durch einen Camille and Henry Dreyfus New Faculty Award (J.M.B.) und ein Promotionsstipendium der Link Foundation (M.P.S.) gefördert. Wir danken den Arbeitsgruppen der Professoren Ben Amotz, Fenniri und Lytle für ihre Unterstützung bei optischen Untersuchungen und photographischen Aufnahmen.

Neue Entwicklungen bei der Funktionalisierung von porösem Silicium ermöglichen es, Si-C-Bindungen auf der por-Si-Oberfläche zu knüpfen, indem die schwachen Si-Si-Bindungen exponierter nanokristalliner Bereiche mit Grignard-<sup>[6]</sup> und Alkylolithium-Reagentien<sup>[7]</sup> umgesetzt werden. Transmetallierungen<sup>[8]</sup> mit Grignard- und Alkylolithium-Verbindungen wurden in Kombination mit Lewis-Säure-Katalysatoren<sup>[9]</sup> eingesetzt, um die vielen Si-H-Bindungen auf der Oberfläche zu nutzen. Thermische,<sup>[10]</sup> Radikal-vermittelte<sup>[11]</sup> und UV-photolytische<sup>[12, 13]</sup> Alken-Hydrosilylierungen an ebenen Si(100)- und Si(111)-Hydridoberflächen sind bereits beschrieben worden.

Wir berichten hier über eine effiziente Funktionalisierung der por-Si-Oberfläche durch Hydrosilylierung von ungesättigten C-C-Bindungen unter Weißlicht bei 25 °C (Schema 1).



Schema 1. Weißlicht-vermittelte Hydrosilylierung von por-Si. Die mit einer Maske (schwarzer Balken) abgedeckte Oberfläche kann nach dem Funktionalisieren des nicht abgedeckten Teils mit Alkinen (a) oder Alkenen (b) entweder mit Alkalilauge zerstört oder durch Umsetzen mit einem anderen Substrat ebenfalls funktionalisiert werden (c).

Für die Bestrahlung verwendeten wir eine gewöhnliche Wolfram-ELH-Lichtquelle mittlerer Intensität ( $0.22 - 44 \text{ mW cm}^{-2}$ ). Das Substrat wird in einer Inertgasatmosphäre auf die Oberfläche aufgebracht und der Überschuß nach einer nur fünfzehnminütigen Belichtungszeit abgewaschen. FT-IR-Transmissionsspektren von Oberflächen, die durch Hydrosilylierung von 1-Dodecen (Oberfläche **1**), 1-Dodecin (Oberfläche **2**) und Styrol (Oberfläche **3**) erhalten wurden (Abb. 1), sind in Abbildung 2 wiedergegeben. Die Menge des eingebauten 1-Dodecins war bei konstanter Belichtungszeit (30 min) von der Lichtintensität an der Probenoberfläche abhängig (Abb. 3). Bei Kontrollexperimenten, die ohne Bestrahlung durchgeführt wurden, erhielt man Produkte, die nur in geringem Ausmaß substituiert waren. Die Photolumineszenzeigenschaften sind nach der Funktionalisierung weitgehend unverändert, was für optoelektronische Anwendungen essentiell ist. Die Oberflächen **1** und **2** weisen eine mittlere PL-Intensität von  $97 \pm 10\%$  bzw.  $61 \pm 10\%$  auf.<sup>[14]</sup>