

- publication no. CCDC-143502“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [17] B. R. James, D. K. W. Wang, *Can. J. Chem.* **1980**, 245–250; M. Jiménez-Tenorio, M. C. Puerta, P. Valerga, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 3515–3520; K.-J. Haack, S. Hashiguchi, A. Fujii, T. Ikariya, R. Noyori, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 297–300; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 285–288; G. Trabesinger, A. Albinati, N. Feiken, R. W. Kunz, P. S. Pregosin, M. Tschoerner, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6315–6323.
- [18] T. V. Ashworth, A. A. Chalmers, D. C. Liles, E. Meintjes, E. Singleton, *Organometallics* **1987**, 6, 1543–1552.
- [19] D. D. Pathak, H. Adams, N. A. Bailey, P. J. King, C. White, *J. Organomet. Chem.* **1994**, 479, 237–245; N. Feiken, P. S. Pregosin, G. Trabesinger, A. Albinati, G. L. Evoli, *Organometallics* **1997**, 16, 5756–5762.
- [20] Versuche zur Züchtung geeigneter Kristalle von **14** und **15**, anhand derer die Strukturen durch Röntgenstrukturanalyse bestätigt und die relativen Konfigurationen festgelegt werden könnten, scheiterten bisher.
- [21] Zur Einführung anderer P-P-Liganden in die Katalysatorvorstufen und Katalysatoren empfehlen wir sorgfältiges Abstimmen auf beiden Stufen. So konnten wir **17** mit sol = THF ohne Weiteres herstellen, **5** mit sol = THF dagegen nicht.
- [22] Wir haben unter anderem eine verwandte, von „[Ru(H)(η^5 -2,4-dimethylpentadienyl)₂](BF₄)“ (T. D. Newbound, L. Stahl, M. L. Ziegler, R. D. Ernst, *Organometallics* **1990**, 9, 2962–2972) ausgehende Methode entwickelt; siehe hierzu die in Fußnote [9] in Lit. [3] zitierten Patente. Nach Annahme der vorliegenden Zuschrift erfuhren wir von hierzu parallelen Arbeiten (A. Bauer, U. Englert, S. Geyser, F. Podewils, A. Salzer, *Organometallics* **2000**, 19, 5471–5476).
- [23] Der bei *m/z* 801 zentrierte Isotopencluster entspricht dem für das Kation von **14** erwarteten Cluster {Kation – 2}. Unter diesen Bedingungen beobachteten wir auch für **1** eine teilweise Bildung des Clusters {Kation – 2}.

Ortsaufgelöste Detektion der Sekretion von Neurotransmittern aus einzelnen Zellen durch elektrochemische Rastermikroskopie

Andreas Hengstenberg, Andrea Blöchl,
Irmgard D. Dietzel und Wolfgang Schuhmann*

Mikroelektrochemische Methoden wie die Amperometrie bei konstantem Potential oder die schnelle Cyclovoltammetrie^[1] eröffnen Möglichkeiten zur Untersuchung biologischer Proben mit zellulärer oder subzellulärer Auflösung, wobei die örtliche Auflösung wesentlich durch die Größe der verfügbaren Mikroelektroden bestimmt ist.^[2] Bisher wurden an

[*] Prof. Dr. W. Schuhmann, Dr. A. Hengstenberg^[+]
Analytische Chemie – Elektroanalytik & Sensorik
Ruhr-Universität Bochum
44780 Bochum (Deutschland)
Fax: (+49) 234-321-4683
E-mail: woschu@anachem.ruhr-uni-bochum.de
Priv.-Doz. Dr. A. Blöchl, Priv.-Doz. Dr. I. D. Dietzel
Lehrstuhl für Molekulare Neurobiochemie
Ruhr-Universität Bochum
44780 Bochum (Deutschland)

[+] Derzeitige Adresse:
BioCurrents Research Center (NIH:NCRR)
Marine Biological Laboratory
7 MBL Street, Woods Hole, MA 02543 (USA)

Einzelzellen oder Substrukturen einzelner Zellen mittels mikroelektrochemischer Methoden folgende biologische Phänomene untersucht: individuelle Exocytoseereignisse,^[3] der Sauerstoffverbrauch,^[4] die Photosyntheseaktivität^[5] und die Verteilung von Ionenkanälen.^[6] In diesen Experimenten muss der elektrochemische Sensor – im Allgemeinen eine MikroscheibenElektrode mit einem Durchmesser von einigen μm – sehr nahe an das zu untersuchende biologische Objekt herangebracht werden. Dies erfolgt im Allgemeinen mit manuell oder piezogetriebenen Mikromanipulatoren unter optischer Kontrolle durch ein Mikroskop. Die Elektrode wird langsam auf die Zelle zubewegt bis sie die Zellmembran leicht berührt, was zu einer erkennbaren Biegung der Zellmembran führt. Danach wird die Mikroelektrode eine definierte Strecke zurückgezogen, um einen Membran-Elektroden-Abstand von einigen 100 nm bis 2 μm einzustellen. Obwohl diese Methode in den letzten Jahren vielfach erfolgreich angewendet wurde,^[3] muss a) mit einer Kontamination der Elektrodenoberfläche als Folge des Kontakts mit der Zellmembran, b) mit einer ungenügenden Reproduzierbarkeit bei der Einstellung des Abstandes zwischen Elektrode und Zelle (eine Einschränkung, die mit kleineren Elektrodendurchmessern wegen der optischen Kontrolle immer gravierender wird) und c) mit einer möglichen Zerstörung der Zelle am Kontakt-Punkt oder einer mechanisch induzierten Depolarisation der Zelle gerechnet werden. Weiterhin ist diese Methode nicht geeignet, nacheinander unterschiedliche Orte an derselben Zelle zu untersuchen.

Nach ersten Untersuchungen biologischer Proben durch elektrochemische Rastermikroskopie (SECM)^[7] wurden kürzlich Versuche unternommen, den Metabolismus individueller Zellen ortsaufgelöst darzustellen.^[8] Allerdings gestattet die konstante Höhe z der Mikroelektrode in konventionellen SECM-Experimenten nicht, zwischen Variationen des Spitz-Probe-Abstandes und Änderungen der lokalen elektrochemische Aktivität zu unterscheiden. Um nun diese prinzipielle Einschränkung bei SECM-Untersuchungen von dreidimensionalen Objekten zu beseitigen, haben wir eine scherkraftabhängige Kontrolle des Spitz-Probe-Abstandes in den SECM-Aufbau integriert.^[9] Die Vorteile und Limitierungen dieser Methode haben wir kürzlich im Detail beschrieben.^[10] Die Mikroelektrode wird dabei in ihrer Resonanzfrequenz mit einem Piezoelement zur Schwingung angeregt, wobei typische Amplituden von nur wenigen nm Verwendung finden. Gleichzeitig wird ein Laserstrahl auf das Ende der schwingenden Mikroelektrode fokussiert, und das resultierende Fresnel-Beugungsbild wird auf eine geteilte Photodiode abgebildet. Amplitude und Phase der schwingenden Spitze werden mit einem Lock-In-Verstärker durch phasensensitive Verstärkung des Differenzsignals der geteilten Photodiode bezogen auf das Anregungssignal des Piezoelementes erhalten. Mit geringer werdendem Abstand zwischen Spitz und Probe treten Scherkräfte auf, die zu einer Dämpfung der Schwingungsamplitude der Spitz und zu einer Phasenverschiebung zwischen Anregungs- und Differenzsignal an der Photodiode führen. Eine vordefinierte Dämpfung der Schwingung wird mit einer Software-Regelschleife eingestellt, sodass eine konstante Distanz zwischen Spitz und Probe von 50–100 nm eingehalten wird.

Die Adaptation der scherkraftabhängigen Abstandskontrolle zwischen Mikroelektrode und Probe an biologische Objekte der Größe einer Einzelzelle sollte es ermöglichen, auf der einen Seite die genannten Probleme der manuellen Positionierung der Mikroelektrode zu vermeiden und auf der anderen Seite die Änderung der Konzentration chemischer Spezies an unterschiedlichen Stellen der biologischen Probe nacheinander zu detektieren.

Die Nutzung von Pt-Mikroelektroden, die in Glaskapillaren eingeschmolzen sind und durch scherkraftabhängige Höheneinstellung leicht über harten Oberflächen positioniert werden können, führte bei weichen, biologischen Proben zu keinen befriedigenden Ergebnissen. In vorbereitenden Experimenten mit adhären wachsenden Kulturen lebender Retziuszellen (Zellen des medizinischen Blutegels mit typischen Durchmessern von 80 µm) und PC12-Zellen (einer Pheochromocytoma-Zelllinie mit einem typischen Durchmesser von 12 µm und einer Höhe von ungefähr 10 µm) wurden die Zellen durch die vibrierende Mikroelektrode in Stücke geschnitten oder vom Untergrund abgelöst und verschoben.

Damit war klar, dass eine erfolgreiche Adaptation der scherkraftabhängigen Abstandsregelung an weiche, biologische Proben nur dann möglich sein wird, wenn die Kräfte zwischen schwingender Spitze und Probe minimiert werden. Weiterhin muss die Scherkraftdetektion für das Eintauchen der schwingenden Mikroelektrode in die Elektrolytlösung optimiert werden und gleichzeitig sollen die Abmessungen der Mikroelektrode möglichst klein gehalten werden, um Störungen aufgrund der Größe der Spitze gegenüber der des Objekts zu verringern.^[11] Um nun die notwendige Steifheit, die Resonanzfrequenz und die Schwingungsamplitude der Mikroelektrode zu bestimmen, die erforderlich sind, um die Topographie lebender Zellen im Scherkraftmodus darzustellen, wurden Glaskapillaren mit einem Ziehgerät zu Spitzen mit Durchmessern von 5–50 µm ausgezogen. Die Glaskapillaren mit Spitzendurchmessern von 5–15 µm und Resonanzfrequenzen von 1–5 kHz zeigten eine Dämpfung durch topographische Änderungen beim Rastern über eine adhären wachsende Retziuszelle (Abbildung 1), wobei die Zelle nicht beschädigt wurde.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen mussten nun Mikroelektroden konzipiert werden, die eine ähnliche Steifheit und ähnliche Schwingungseigenschaften wie die Glaskapillaren aufweisen, um die simultane elektrochemische Detektion in die scherkraftabhängige Abbildung biologischer Proben zu implementieren. Kohlenstofffasern, deren mechanische Eigenschaften denen der gezogenen Glaskapillaren ähneln,

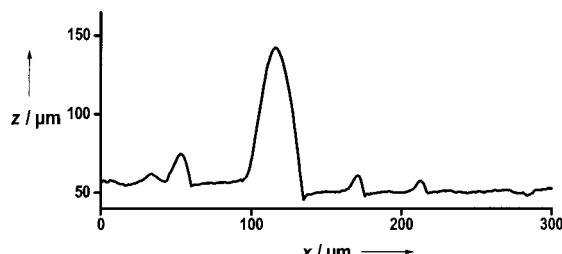


Abbildung 1. Scherkraftabhängige Abbildung fragiler biologischer Proben: Linienscan über ein Retziusneuron des medizinischen Blutegels mit einer Glaskapillare mit einem Spitzendurchmesser von ungefähr 5 µm.

wurden bereits intensiv für Experimente mit manueller Annäherung der Elektrode benutzt. Es gibt mittlerweile mehrere Methoden, um die Kohlenstofffaser durch elektrochemische Abscheidung einer Polymerschicht (z.B. Polyphenol)^[12] oder durch pH-induzierte Elektroabscheidung einer Lackschicht zu isolieren.^[13] Im Unterschied zum selbstlimitierenden Wachstum von Polyphenol muss der pH-induzierten Abscheidung eines Präpolymerernetzes eine Hitzebehandlung folgen, bei der der isolierende Film durch Quervernetzung entsteht. Eine scheibenförmige Elektrodenoberfläche wird dann durch Abschneiden der beschichteten Faser mit einem Skalpell freigelegt. In Hinblick auf die Anpassung der Steifheit der Kohlenstofffaser-Mikroelektrode hat die elektrochemisch induzierte Abscheidung eines isolierenden Lackes den Vorteil, dass eine beliebige Filmdicke durch Variation der Abscheidungsspannung und der Abscheidungszeit eingestellt werden kann. Darüber hinaus konnten die Schwingungseigenschaften der Kohlenstofffaserelektroden durch Eintauchen in einen isolierenden Lack eingestellt werden,^[14] wobei die Resonanzfrequenz mit der Zahl der Tauchlackschichten ansteigt. Die besten Ergebnisse hinsichtlich der elektrochemischen Qualität der Mikroelektroden und der Schwingungseigenschaften wurden durch eine Kombination von elektrochemisch induzierter Polymerabscheidung und Tauchlackmethode erzielt. Teile der Kohlenstofffaser und des verbindenden Kupferdrahtes wurden mechanisch stabilisiert, indem sie in eine gezogene Glaskapillare eingeklebt wurden, bevor die aktive Elektrodenoberfläche durch Abschneiden der Faser mit dem Skalpell freigelegt wurde. Die Resonanzfrequenzen der so erhaltenen Elektroden variierten je nach Länge der aus der Glaskapillarammantelung hervorstehenden Faser zwischen 1 und 5 kHz.

Die elektrochemischen Eigenschaften der Kohlenstofffaser-Mikroelektroden wurden durch Cyclovoltammetrie und durch SECM-Untersuchung des Verhaltens bei Annäherung an eine isolierende Oberfläche im Vergleich zur Theorie^[15] unter Verwendung von $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ als frei diffundierender Redoxspezies charakterisiert (Abbildung 2).

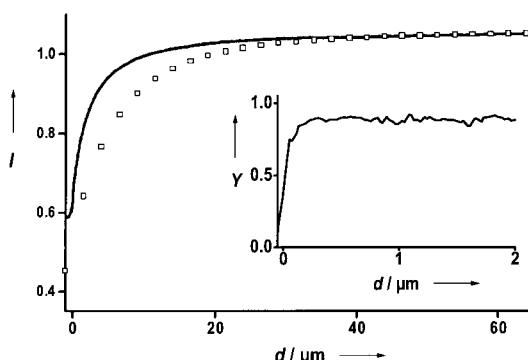


Abbildung 2. Annäherungscharakteristik einer Kohlenstofffaser-Mikroelektrode an eine isolierende Glasoberfläche. Der gemessene Strom wird mit der theoretischen Annäherungskurve (Rechtecke) einer Mikroelektrode mit dicker isolierender Schicht verglichen (der Radius der Mikroelektrode entspricht dem Zehnfachen des Radius der aktiven Fläche). Im Einschub ist das Produkt Y aus der Dämpfung der Schwingungsamplitude und dem Sinus der Phasenverschiebung als Folge der Scherkraftwechselwirkungen der Elektrodenspitze mit der Glasoberfläche gezeigt. Redoxmediator: 5 mM $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$, Elektrodenpotential: –300 mV vs. Ag/AgCl, Elektrodenradius: 3.5 µm.

Die Annäherungskurven sind in Einklang mit denen einer scheibenförmigen Mikroelektrode mit dünner isolierender Ummantelung.

Diese für die Scherkraftwechselwirkungen optimierten Kohlenstofffaser-Mikroelektroden wurden für die Visualisierung der Topographie adhärent wachsender PC12-Zellen benutzt. Durch die Scherkräfte zwischen schwingender Elektrode und einer PC12-Zelle kann mit einem rückgekoppelten Regelkreis die Spitze repositioniert werden, sodass die Dämpfung der Schwingung konstant gehalten wird. Trägt man nun die z -Auslenkung der Spitze über den x,y -Koordinaten auf, erhält man ein topographisches Bild der PC12-Zelle (Abbildung 3).

Die zerstörungsfreie Abbildung lebender Zellen belegt, dass die Wechselwirkungs Kräfte zwischen der in Resonanz schwingenden Kohlenstoffspitze und der Zelle schwach genug sind, sodass im Scherkraftmodus weiche, biologische Objekte abgebildet werden können. Wenn nun die Distanz zwischen Mikroelektrode und Zellmembran während des Rasters konstant klein gehalten wird, können simultan an der Mikroscheibenelektrode Variationen der Konzentration redoxaktiver Spezies als Folge metabolischer und sekretorischer Prozesse detektiert werden. Darüber hinaus können nun spezifisch interessierende Orte an der Zellmembran ausgewählt werden, um ihnen gegenüber die Mikroelektrode zu positionieren und die zeitliche Änderung der Konzentration elektroaktiver Spezies zu verfolgen. Hier ist insbesondere die Untersuchung der diskontinuierlichen Ausschüttung von Hormonen und Neurotransmittern aus Zellen während individueller Exocytoseereignisse von großer Bedeutung, um Zell-Zell-Kommunikationsprozesse besser verstehen zu lernen.

In einem typischen Experiment wird eine geeignete, adhärent wachsende Zelle mit einem in den SECM-Aufbau integrierten hochauflösenden Videomikroskop identifiziert. Nach Grobannäherung der Kohlenstofffaser-Mikroelektrode an die Zelle und scherkraftabhängiger Positionierung kann die Topographie der Zelle abgebildet werden (Abbildung 4a). Die Rasterprozedur wird am gewünschten Ort angehalten (z.B. über dem Zentrum der Zelle), und eine Glaskapillare, die mit einem Flüssigkeits-Mikrodosiersystem ausgestattet ist, wird mittels manueller Bedienung der Mikromani-

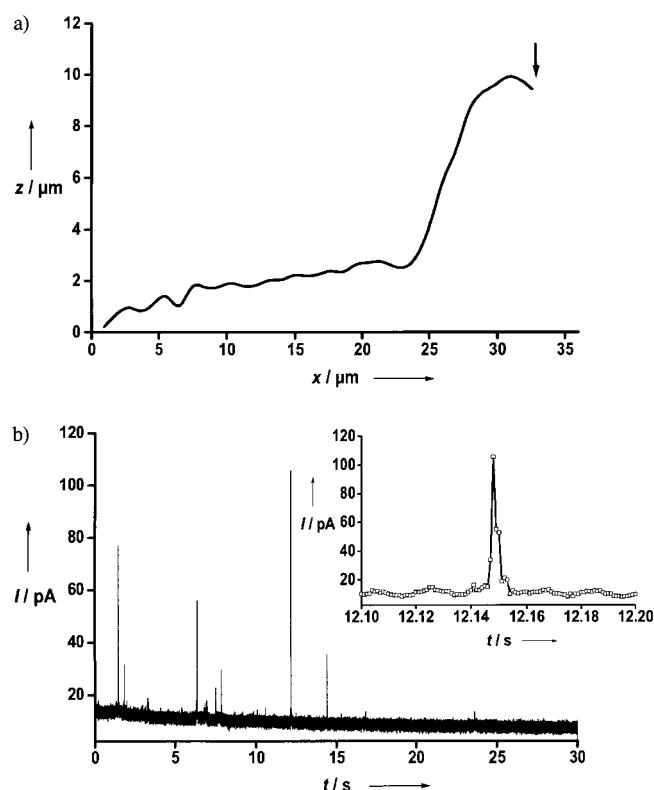


Abbildung 4. a) Anfahren einer definierten Position der Mikroelektrode über einer Zelle während der Abbildung der Topographie unter scherkraftabhängiger Abstandskontrolle. Der Pfeil markiert die endgültige Position der Elektrode über dem Zentrum der PC12-Zelle vor der Detektion der Ausschüttung von Neurotransmittern. b) Zeitliche Änderung des Oxidationsstromes an der Mikroelektrode als Folge von einzelnen Exocytoseereignissen an einer PC12-Zelle nach Zugabe von K^+ -Ionen. Im Einschub ist die zeitliche Änderung des Oxidationsstromes eines ausgewählten Exocytoseereignisses mit gedehnter Zeitskala gezeigt. Elektrodenpotential: +700 mV vs. Ag/AgCl; Datenaufnahmegeschwindigkeit: 1000 Hz; Gesamtdurchmesser der Mikroelektrode: 10–12 μm .

pulatoren und unter Kontrolle durch das Videomikroskop in die Nähe der ausgewählten Zelle gebracht. Die Exocytose von Neurotransmittern wird durch Erhöhung der K^+ -Konzentration, die eine Depolarisation der Zellmembran nach sich zieht, ausgelöst. Die Depolarisation der Zellmembran führt zu einem Einströmen von Ca^{2+} -Ionen, was zu einer

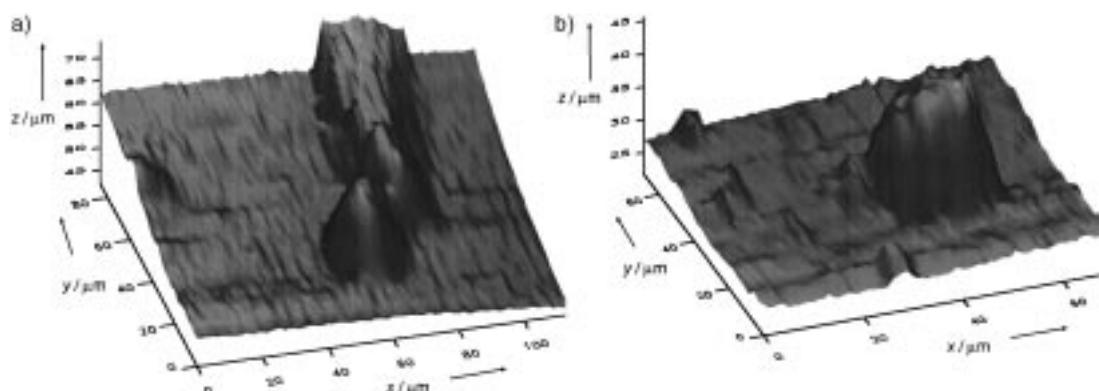


Abbildung 3. Scherkraftabhängige Abbildung der Topographie biologischer Proben mittels Kohlenstofffaser-Mikroelektroden optimaler Steifheit (Gesamtdurchmesser der Elektrode: 10–12 μm): a) Topographie einer Gruppe von PC12-Zellen mit einer einzelnen Zelle im Vordergrund. b) Topographie einer einzelnen PC12-Zelle.

Sequenz von Folgereaktionen führt, die schließlich in der Fusion von Neurotransmitter-enthaltenden Vesikeln mit der Zellmembran und damit der Exozytose von Neurotransmittermolekülen in den Extrazellulärraum mündet. Infolge der äußerst geringen Distanz zwischen der Zellmembran und der Mikroelektrode werden die von der Zelle ausgeschütteten Neurotransmittermoleküle (im Falle der PC12-Zellen eine Mischung aus den Catecholaminen Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin) an der Elektrode, die zur Oxidation der Neurotransmittermoleküle mittels eines hochempfindlichen Potentiostaten auf ein ausreichend hohes Arbeitspotential polarisiert ist (+700 mV vs. Ag/AgCl), rasch umgesetzt. Der Oxidationsstrom, der während einer solchen Einzelvesikel-exozytose auftritt, wird mit einer Software zur schnellen Datenerfassung aufgezeichnet (Abbildung 4b).

Wegen der Größe der Elektrodenscheibe und der extrem geringen Distanz zwischen Zellmembran und Mikroelektrode kann von einer 100-prozentige Kollektoreffizienz ausgegangen werden, insbesondere dann, wenn der Ort der Ausschüttung der Elektrodenmitte gegenüber liegt. Obwohl durch chemische Folgereaktionen der primär oxidierten Catecholamine die Elektrodenoberfläche kontaminiert werden kann, kann die während eines Exozytoseereignisses übertragene Ladung mit der Zahl der Neurotransmittermoleküle im Vesikel korreliert werden. Es kann entweder eine Sequenz solcher Ereignisse unter Beibehaltung der Position der Mikroelektrode aufgenommen werden oder nach einer Ruhephase und der Repositionierung der Mikroelektrode an einem anderen Ort der Zellmembran erneut die Ausschüttung von Neurotransmittern ausgelöst werden, dies allerdings nur unter der Voraussetzung, dass der Anstieg der K⁺-Konzentration in der Elektrolytlösung bei der ersten Depolarisation ausreichend klein war.

Die Verwendung von optimierten Kohlenstofffaser-Mikroelektroden in der SECM bei scherkraftabhängiger Regulierung des Spitz-Probe-Abstandes ist ein wesentlicher Schritt in Richtung der Anwendung der elektrochemischen Rastermikroskopie zur Untersuchung fragiler biologischer Systeme mit komplexer dreidimensionaler Struktur. Die optimierten Mikroelektroden sind geeignet für die kombinierte topographische und elektrochemische Untersuchung weicher, biologischer Proben durch scherkraftabhängige Abstandskontrolle. Auf der Grundlage der topographischen Daten können so interessierende Regionen an der Zellmembran identifiziert und mit der Mikroelektrode angesteuert werden. Eine weitere Verkleinerung des Durchmessers der Mikroelektroden bis in Sub-μm-Dimensionen und die präzise Positionierung solcher fragiler Mikroelektroden in geringer Distanz zur Oberfläche von einzelnen Zellen unter Nutzung von Scherkraftwechselwirkungen sind Ziele derzeit durchgeföhrter Arbeiten. Prinzipiell sollten unter Verwendung solcher Mikroelektroden auch metabolische Reaktionen an Substrukturen von Zellen aufgeklärt werden können.

Experimentelles

SECM: Der SECM-Aufbau mit integrierter scherkraftabhängiger Höhenkontrolle und einem Videomikroskop wurde bereits detailliert beschrieben.^[10] Alle elektrochemischen Messungen wurden mit einem VA-10-

Potentiostaten (npi electronic GmbH, Tamm) und einem AgCl-beschichteten Ag-Draht als Pseudoreferenzelektrode durchgeführt.

Polymerisierte Kohlenstofffaserelektroden: Eine einzelne Kohlenstofffaser (SGL Technik GmbH, Meitingen) mit einem Durchmesser von 7 μm und einer Länge von 15 mm wurde mit einem Ag-haltigen Epoxidkleber (H20, EpoTek, Waldbronn) an einen Kupferdraht geklebt. Teile des Kupferdrahtes und der Faser wurden in eine Glaskapillare eingezogen und mit Epoxidkleber fixiert. Die Glaskapillare wurde mit einem Pipettenziehgerät (Narishige Model PP 830, Science Products, Hofheim) um die Faser ausgezogen. Die Elektroabscheidung des Polymers ist in Lit. [13] beschrieben. Die Steifheit der Faser wurde durch Beschichten eingestellt. Dazu wurde die Faser fünf- bis zehnmal in einen Tauchlack (RS Components, Corby, Northants, Großbritannien) eingetaucht und anschließend jeweils mindestens 1 h getrocknet. Das Verhältnis zwischen Isolatordicke und Faserradius variierte je nach Zahl der Beschichtungscyclen zwischen 0.25 und 1. Die Qualität der Isolierung wurde cyclovoltammetrisch überprüft, bevor eine scheibenförmige Kohlenstofffläche durch Abschneiden der isolierten Faser mit einem Skalpell freigelegt wurde. Die Mikroelektrode wurde optisch unter dem Mikroskop begutachtet und cyclovoltammetrisch charakterisiert.

Retziuszellen des medizinischen Blutgels werden wie in Lit. [16] beschrieben präpariert und kultiviert. PC12-Zellen wurden nach Lit. [17] auf Polyornithin-beschichteten Glasplättchen kultiviert.

Eingegangen am 30. August 2000 [Z15727]

- [1] a) R. H. Chow, L. von Rüden, *Single Channel Recording*, Plenum, New York, **1995**, 245–275; b) M. J. Logman, E. A. Budygin, R. R. Gainetdinov, R. M. Wightman, *J. Neurosci. Methods* **2000**, 95, 95–102; c) Q. D. Walker, M. B. Rooney, R. M. Wightman, C. M. Kuhn, *Neuroscience* **2000**, 95, 1061–1070; d) D. J. Michael, J. D. Joseph, M. R. Kilpatrick, E. R. Travis, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1999**, 71, 3941–3947.
- [2] a) P. S. Cahill, Q. D. Walker, J. M. Finnegan, G. E. Mickelson, E. R. Travis, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 3180–3186; b) C. Amatore, *C. R. Acad. Sci. Ser. 2* **1996**, 23, 757–771; c) Y. E. Korchev, M. Milanovic, C. L. Blashford, D. C. Bennett, E. V. Sviderskaya, I. Vodyanov, M. J. Lab, *J. Microsc.* **1997**, 188, 17–23.
- [3] a) E. L. Ciolkowski, B. R. Cooper, J. A. Jankowski, J. W. Jorgenson, R. M. Wightman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 2815–2821; b) D. Bruns, R. Jahn, *Nature* **1995**, 362–65; c) A. Albillos, G. Dernick, H. Horstmann, W. Almers, G. Alvarez de Toledo, M. Lindau, *Nature* **1997**, 389, 509–512; d) R. T. Kennedy, L. Huang, M. A. Atkinson, P. Dush, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1882–1887; e) S. E. Hochstetler, M. Puopolo, S. Gustincich, E. Raviola, R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 489–496; f) R. M. Wightman, J. M. Finnegan, K. Pihel, *Trends Anal. Chem.* **1995**, 14, 154–158; g) T. J. Schroeder, R. Borges, J. M. Finnegan, K. Pihel, C. Amatore, R. M. Wightman, *Biophys. J.* **1996**, 70, 1061–1068; h) K. D. Kozminski, D. A. Gutman, V. Davila, D. Sulzer, A. G. Ewing, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 3123–3130; i) S. E. Zerby, A. G. Ewing, *Brain Res.* **1996**, 712, 1–10; k) T. K. Chen, A. G. Ewing, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3031–3035.
- [4] S. C. Land, D. M. Porterfield, R. H. Sanger, P. J. S. Smith, *J. Exp. Biol.* **1999**, 202, 211–218.
- [5] T. Yasukawa, I. Uchida, T. Matsue, *Biophys. J.* **1999**, 76, 1129–1135.
- [6] Y. E. Korchev, Y. A. Negulyaev, C. R. W. Edwards, I. Vodyanov, M. J. Lab, *Nat. Cell Biol.* **2000**, 2, 616–619.
- [7] a) C. Lee, J. Kwak, A. J. Bard, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87, 1740–1743; b) M. Tsionsky, Z. G. Cardon, A. J. Bard, R. B. Jackson, *Plant Physiol.* **1997**, 113, 895–901; c) D. T. Pierce, A. J. Bard, *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3598–3604.
- [8] a) T. Yasukawa, T. Kaya, T. Matsue, *Anal. Chem.* **1999**, 71, 4637–4641; b) T. Yasukawa, Y. Kondo, I. Uchida, T. Matsue, *Chem. Lett.* **1998**, 767–768; c) T. Yasukawa, T. Kaya, T. Matsue, *Chem. Lett.* **1999**, 975–976; d) T. Yasukawa, T. Kaya, T. Matsue, *Electroanalysis* **2000**, 12, 653–659; e) B. Liu, S. A. Rotenberg, M. V. Mirkin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 9855–9860.
- [9] a) M. Ludwig, C. Kranz, W. Schuhmann, H. E. Gaub, *Rev. Sci. Instrum.* **1995**, 66, 2857–2860; b) C. Kranz, H. E. Gaub, W. Schuhmann, *Adv. Mater.* **1996**, 8, 634–637.

- [10] A. Hengstenberg, C. Kranz, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1547–1554.
- [11] a) J. E. Griffith, D. A. Grigg, M. J. Vasile, P. E. Russell, E. A. Fitzgerald, *J. Vac. Sci. Technol. B* **1991**, *9*, 3586–3589; b) L. Montelius, J. O. Tegenfeldt, *Appl. Phys. Lett.* **1993**, *62*, 2628–2630.
- [12] a) K. Potje-Kamloth, J. Janata, M. Josowicz, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 1480–1485; b) T. G. Strein, A. G. Ewing, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1368–1373.
- [13] A. Schulte, R. H. Chow, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3054–3058.
- [14] G. Shi, L. F. Garfias-Mesias, W. H. Smyrl, *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 2011–2016.
- [15] M. V. Mirkin, F. R. F. Fan, A. J. Bard, *J. Electroanal. Chem.* **1992** *328*, 47–62.
- [16] I. D. Dietzel, P. Drapeau, J. G. Nicholls, *J. Physiol.* **1986**, *372*, 191–205.
- [17] L. A. Greene, A. S. Tischler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, *73*, 2424–2428.

„Supramolekulare“ Festkörperchemie: einander durchdringende diamantartige Gerüststrukturen mit U⁴⁺-Ionen und zweizähnigen molekularen P₂S₆²⁻-S,S'- „Stäben“ in UP₄S₁₂**

Christine Gieck, Frank Rocker, Vadim Ksenofontov,
Philipp Gütlich und Wolfgang Tremel*

Organische Verbindungen können sich bei tiefen Temperaturen zu organisierten Aggregaten anordnen, die zu molekularer Erkennung fähig sind und als biomimetische Systeme dienen können.^[1] Dies führte in der supramolekularen organischen Chemie zu erstaunlichen Ergebnissen,^[2] unter anderem zur Bildung dreidimensionaler (3D-) Netzstrukturen vom Super-Diamant-^[3] und Super-Wurtzit-Typ,^[4] die durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert werden. Im Bereich der anorganischen Koordinationschemie schlugen Hoskins und Robson^[5] eine Strategie zur Synthese neuer 3D-Verbindungen vor, die Gerüststrukturen aufweisen und aus geeigneten Metallzentren (z.B. mit tetraedrischer, quadratisch-planarer oder oktaedrischer Konnektivität) sowie stab- oder plattenförmigen molekularen Baueinheiten unterschiedlicher Natur und Länge aufgebaut werden. Dieses Grundprinzip wurde in den vergangenen Jahren erfolgreich zur Synthese neuer Verbindungen angewendet, deren Strukturen aus miteinander verflochtenen Netzen bestehen.^[6–8] Jeder Grundtyp der anorganischen Strukturchemie (z.B. Diamant, PtS, α -Polonium) kann als Prototyp für eine ganze Familie neuer Netze betrachtet werden, in denen Bindungen der Stamm-

struktur durch eine Reihe molekularer Stäbe ersetzt sind. Einfache zweizähnige lineare Liganden unterschiedlichen Durchmessers dienen als stabartige Verbindungselemente.^[9] In manchen Fällen entstehen diese polymeren Strukturen als polymere Netze mit großen Hohlräumen und/oder Kanälen, in anderen, wie Zn(CN)₂,^[10] werden die Hohlräume mit einem oder mehreren identischen unabhängigen Netzen gefüllt. Ähnliche präparative Erfolge sind bisher bei Festkörperreaktionen auf sehr wenige Beispiele wie [Ph₄P]₂[M(Se₆)₂],^[11] K₂PdSe₁₀,^[12] oder Ta₄P₄S₂₉^[13] beschränkt.

Ausgehend von der Beobachtung, dass PS₄⁻ und P₂S₆⁻-Gruppen in Thiophosphaten der elektronenarmen Übergangsmetalle^[14] als ein-, zwei- oder dreizähnige Liganden fungieren können, und der Tatsache, dass selbst hohe Koordinationszahlen von Metallen wie Niob oder Uran mit Chelatliganden zu niedrigen Verknüpfungsgraden führen können, suchten wir im quasibinären System US₂/P₂S₅ nach neuen Verbindungen, in denen das Uranzentrum von PS₄⁻, P₂S₆⁻ oder S₃P(S)_xPS₃-Gruppen koordiniert ist. Wir berichten hier über die Synthese und die strukturelle Charakterisierung von U(P₂S₆)₂ **1**, einer Verbindung mit dreidimensionalem Aufbau, die aus drei einander durchdringenden SiO₂-analogen Netzen besteht. Die erweiterte Struktur kann ausgehend von der Länge der verbindenden P₂S₆-Stäbe erklärt werden.

U(P₂S₆)₂ **1** wurde durch Festkörperreaktion von U, P₂S₅ und S im Verhältnis 1:2:2 bei 700 °C synthetisiert.^[15] Einkristalle wurden durch Tempern und anschließendes langsames Abkühlen auf Raumtemperatur erhalten. **1** kristallisiert in der tetragonalen Raumgruppe *I4₁/a* mit zwei Formeleinheiten pro Zelle. Die Struktur^[16] von **1** enthält drei einander durchdringende diamantartige Gitter, die auf gestauchte adamantanartige Käfige zurückgehen (Abbildung 1). Die Länge des kürzesten, die drei Netze verbindenden Vektors beträgt 9.75 Å. Die U-Atome sind quadratisch-antiprismatisch von den acht S-Atomen der vier zweizähnigen P₂S₆-Liganden koordiniert, sodass sich eine pseudotetraedrische Anordnung

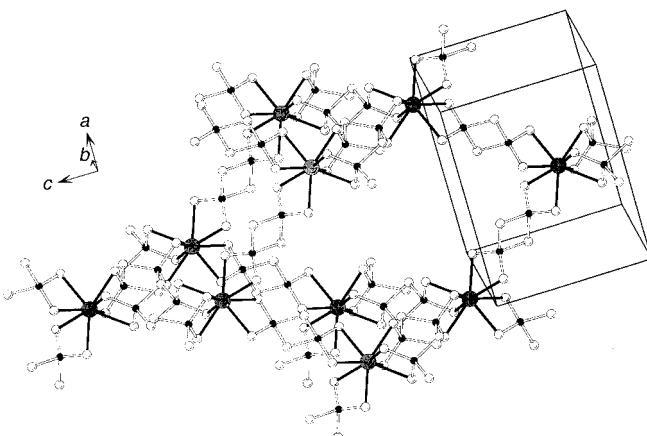


Abbildung 1. Ansicht eines einzelnen adamantanalogen Käfigs in der Struktur von **1** (U: graue Kugeln; P: schwarze Kugeln; S: weiße Kugeln). Atompositionen (x , y , z , $U_{\text{eq}} \times 10^3$): P(1): 0.0062(1), 0.0662(1), 0.3808(1), 113(1); S(1): 0.1681(1), 0.1840(1), 0.6774(1), 117(1); S(2): 0.1195(1), 0.1681(1), 0.3480(1), 119(1); S(3): -0.1812(1), -0.1557(1), -0.0238(1), 16(1); U: 0, 1/4, 1/8, 11(1). Ausgewählte Bindungslängen [Å]: U-S(2) 2.879(1) (4 ×), U-S(3) 2.812(1) (4 ×), P-S(1) 2.107(2) und 2.113(2), P-S(2) 1.989(2), P-S(3) 1.997(2).

[*] Prof. Dr. W. Tremel, C. Gieck, F. Rocker
Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie
Universität Mainz
Duesbergweg 10–14, 55099 Mainz (Deutschland)
Fax: (+49) 6131-39-23922
E-mail: tremel@mail.uni-mainz.de
Dr. V. Ksenofontov, Prof. Dr. P. Gütlich
Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie
Universität Mainz
Staudingerweg 9, 55099 Mainz (Deutschland)
[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.