

# Mikrokristalline Elektronenbeugung (MicroED) zur Strukturaufklärung niedermolekularer Verbindungen

Tom Kunde und Bernd M. Schmidt\*

Absolute Konfiguration · Elektronenbeugung ·  
Kristalliner Schwamm · Strukturaufklärung ·  
Röntgenbeugung

**Abstract:** Die Entwicklung neuer Methoden, welche die Untersuchung von Molekülstrukturen ermöglichen, steht in direktem Zusammenhang mit der Beschleunigung der chemischen Forschung in nahezu allen Bereichen. Jahrzehntlang war die Einkristall-Röntgenbeugung die Standardmethode, um Informationen über Molekülstrukturen mit atomarer Auflösung zu gewinnen. Eine wichtige Grundlage dafür war die Herstellung eines geeigneten Einkristalls der zu untersuchenden Verbindung. Aktuelle Forschungen zeigen jedoch, dass es möglich ist, mithilfe eines schwammähnlichen Kristalls (CS) die Kristallisation des Analyten zu umgehen, um Strukturinformationen über das Analytmolekül zu erhalten. Dabei ist es möglich, durch Tränken des CS-Kristalls mit einer Analytlösung nur einen Bruchteil der sonst üblichen Substanzmenge für eine Strukturbestimmung zu verwenden. Als neue, potenziell wegweisende Analytikmethode soll in diesem Zusammenhang die mikrokristalline Elektronenbeugung für die Strukturbestimmung von niedermolekularen organischen Molekülen diskutiert werden.

Die Einkristall-Röntgenbeugung (SXR) hat sich in den letzten 100 Jahren zu einem unersetzlichen Hilfsmittel für die Strukturaufklärung von organischen, anorganischen, metallorganischen und makromolekularen Systemen entwickelt. Mithilfe dieser Methode können nicht nur die Konnektivitäten und Positionen von Atomen innerhalb eines Kristallgitters bestimmt werden, sondern sie ermöglicht es auch, aus anomalen Reflexionsphänomenen von schweren Atomen die absolute Konfiguration von chiralen Analytmolekülen zu erfassen. Damit hat die Röntgenbeugung einen entscheidenden Vorteil gegenüber der NMR-Analytik und anderen spektroskopischen Methoden, da mit diesen nur eine relative Stereokonfiguration bestimmt werden kann.<sup>[1]</sup> Für die Strukturbestimmung mittels SXR muss ein Einkristall von hinreichender Größe (üblicherweise  $100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$ ) und Qualität präpariert werden. Dabei ist die individuelle Opti-

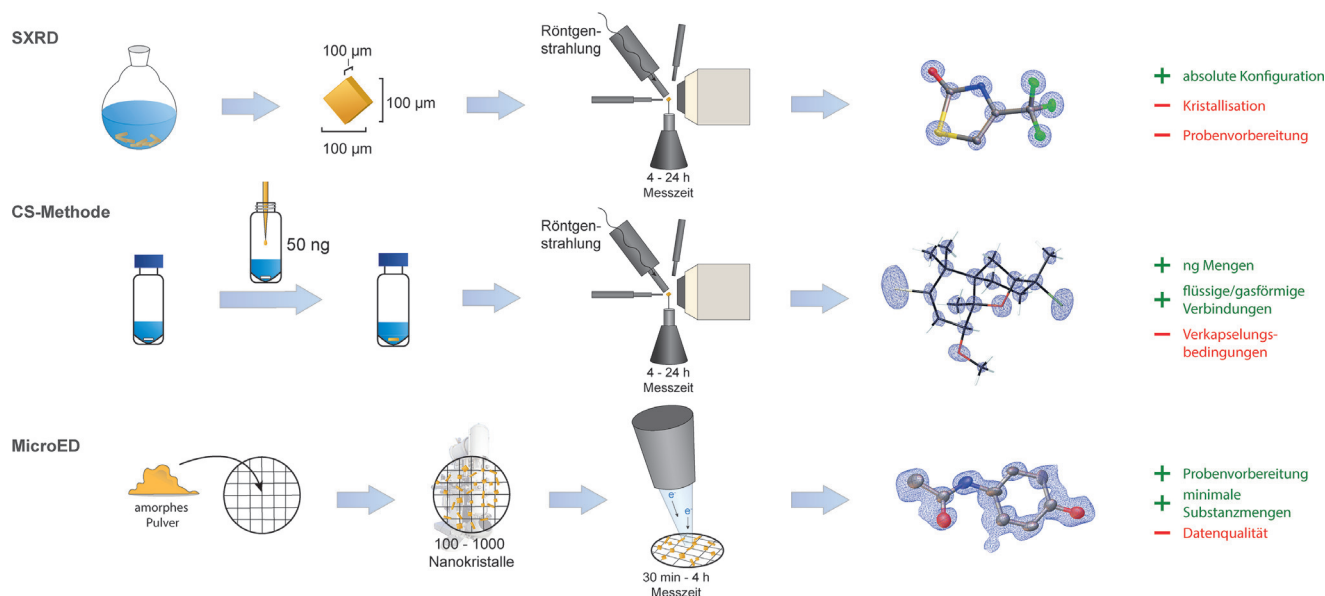
mierung der Kristallisationsbedingungen eine sehr zeitintensive Aufgabe. Eine ungünstige Morphologie der gewachsenen Kristalle oder eine unzureichende Quantität des Analyten, um eine ausreichende Zahl an Kristallisationsbedingungen zu untersuchen, erschweren die Strukturbestimmung zusätzlich. Soll darüber hinaus die absolute Konfiguration des Moleküls bestimmt werden, ist die Herstellung eines Einkristalls für eine Messung mit ausreichend hoher Auflösung, aus den genannten Gründen, häufig nicht möglich. Gasförmige oder bei Raumtemperatur flüssige Analyten sind ebenfalls ein Problem in der Routine-Strukturbestimmung, da die Messung in diesem Fall unter besonderen Bedingungen durchgeführt werden muss.

In einer Reihe von Veröffentlichungen konnten Fujita und Mitarbeiter zeigen, dass ihnen bei der Bewältigung der Probleme im Zusammenhang mit der SXR-Probenvorbereitung ein Durchbruch gelungen ist.<sup>[3]</sup> Indem ein kristallines, poröses Koordinationsnetzwerk (crystalline sponge, CS) mit einer Lösung der zu untersuchenden Substanz getränkt wird, kann der Analyt im Kristallgitter des CS-Kristalls immobilisiert und anschließend mittels SXR-Messungen analysiert werden (Abbildung 1). Obwohl diese reproduzierbare Methode<sup>[4]</sup> die Analyse von Kleinstmengen sowohl fester als auch flüssiger Analyten ermöglicht, ist sie dennoch mit einer individuellen Optimierung von Verkapselungsbedingungen verbunden. Darüber hinaus eignen sich nicht alle Analyten für die Immobilisierung im gleichen Koordinationsnetzwerk.<sup>[3a,b]</sup>

In zwei aufeinanderfolgenden Publikationen konnten sowohl Grüne und Mitarbeiter<sup>[5]</sup> als auch die Gruppe um Gonen<sup>[6]</sup> eindrucksvoll das Potenzial der mikrokristallinen Elektronenbeugung (microcrystalline electron diffraction, MicroED) für die Strukturbestimmung von niedermolekularen organischen Verbindungen demonstrieren. Im Unterschied zu SXR wird bei der MicroED-Methode ein Elektronenstrahl statt Röntgenstrahlung eingesetzt, um Brechungsphänomene an Kristallgittern zu beobachten. Dabei ist es durch MicroED möglich, Kristalle zu untersuchen, die nur 1/6000 des Volumens eines Kristalls aufweisen, der für eine SXR-Messung benötigt wird. Ursprünglich für die Bestimmung der Struktur von komplexen Biomolekülen entwickelt,<sup>[7]</sup> konnte in den aktuellen Studien gezeigt werden, dass sich MicroED ebenfalls eignet, um die Molekülstruktur von nanokristallinen Analyten mit deutlich geringerem Mole-

[\*] T. Kunde, Dr. B. M. Schmidt  
Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Universitätsstraße 1, 40225 Düsseldorf (Deutschland)  
E-Mail: Bernd.Schmidt@hhu.de

Die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors ist unter:  
<https://doi.org/10.1002/ange.201813215> zu finden.



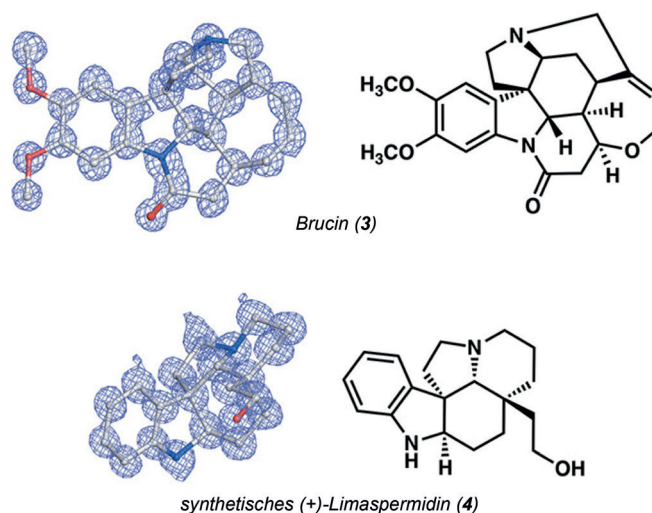
**Abbildung 1.** Unterschiedliche niedermolekulare organische Molekülklassen, deren Strukturen durch SXR (oben),<sup>[2]</sup> die CS-Methode (Mitte)<sup>[3e]</sup> und MicroED<sup>[6]</sup> (unten) aufgeklärt werden konnten, dargestellt zusammen mit charakteristischen Eigenschaften und typischen Messzeiten der Methoden. Elektronendichte-Darstellungen verdeutlichen die unterschiedliche Datenqualität für jeden Analyten.

külradius aufzuklären. Dabei konnte sogar die Struktur von Substanzen, die nur in Form von scheinbar amorphen Pulvern vorlagen, analysiert werden. Die Arbeitsgruppe um Grüne konnte die Struktur von Acetaminophen (**1**), ausgehend von einer Probe eines kommerziell erhältlichen Erkältungsmittels, in der Gegenwart von anderen pharmazeutisch aktiven und nicht-aktiven Substanzen auflösen. Zusätzlich konnte sie mit einer einzelnen Kristallnadel ( $1 \times 2 \mu\text{m}^2$ ) und damit deutlich zu dünn für eine SXR-Messung, die aus der Mutterlösung isoliert wurde, die Struktur eines bis dato unbekanntes Methylenblau-Derivats mit einer Auflösung von  $0.9 \text{ \AA}$  innerhalb von nur vier Stunden auflösen.<sup>[5]</sup> Unabhängig davon konnten Gonen und Mitarbeiter die Molekülstrukturen von elf biologisch aktiven, organischen Moleküle durch MicroED mit atomarer Auflösung untersuchen. Unter anderem wurde eine ca. 20 Jahre alte Probe von Progesteron (**2**) zwischen zwei Objektträgern zermahlen, auf ein Kupfer-Karbon-Gitter aufgetragen und in einem Talos-Artica-Elektronenmikroskop bei  $-196^\circ\text{C}$  untersucht. Dabei konnten hunderte Nanokristalle mit hinreichender Größe für MicroED-Messungen identifiziert werden. Aus nur einem der Kristalle wurde schließlich nach Messung eines Datensatzes mit einer Auflösung von  $1.0 \text{ \AA}$  die Molekülstruktur des Steroids **2** in atomarer Auflösung innerhalb von 30 Minuten erhalten.<sup>[6]</sup> Die absolute Konfiguration ließ sich dabei durch MicroED im aktuellen Entwicklungsstadium der Methode nicht bestimmen.<sup>[7a]</sup> Vorteilhaft an der Methode ist auch die Auswertung der Datensätze mit Standard-SXR-Software, wie von den Autoren explizit hervorgehoben wurde.<sup>[6]</sup>

Darüber hinaus wurden zehn Strukturen, unter anderem von Brucin (**3**), (+)-Limaspermidin (**4**) und Thiostrepton (**5**), ausgehend von Milligramm-Mengen der Analyten, analysiert (Abbildung 2). Erstaunlicherweise konnten nach dem Mörsern von Tabletten aus einer örtlichen Apotheke die Strukturen von **1** und Ibuprofen (**6**) bestimmt werden. Eindrucks-

voll demonstrierten beide Gruppen, dass mit MicroED die Strukturbestimmung für sowohl neue als auch bekannte Moleküle auch aus Mischungen von kristallinen und nicht-kristallinen Verbindungen leicht möglich ist.<sup>[5,6]</sup> Die Arbeitsgruppe um Gonen war außerdem in der Lage, die Strukturen von vier verschiedenen Verbindungen in einer heterogenen Mischung simultan zu untersuchen.

Die Wechselwirkung von Elektronen mit dem elektrostatischen Potenzial von sowohl Protonen als auch Elektronen im Kristallgitter resultiert in einer genaueren Bestimmung der Längen von Wasserstoffbrücken als mit der SXR-Methode, in der sie meist verkürzt erscheinen.<sup>[5,8]</sup> In den aktuellen Studien zur MicroED-Methode konnten daraus re-



**Abbildung 2.** Die Molekülstruktur von Brucin (**3**) und synthetischem (+)-Limaspermidin (**4**), überlagert mit den durch MicroED erhaltenen  $F_e$ -Elektronendichten.<sup>[6]</sup>

sultierend die Positionen der Wasserstoffatome der Analyten in einigen Fällen genau bestimmt werden. In Zukunft könnte der entscheidende Nachteil der MicroED-Methode – das Unvermögen, die absolute Konfiguration von niedermolekularen organischen Verbindungen zu bestimmen – überwunden werden, sodass das Anwendungsspektrum der Methode signifikant erweitert werden kann.

Gespannt werden neue Entwicklungen und weitere Durchbrüche auf der Grundlage dieser eindrucksvollen Methode erwartet. Diese werden entscheidend sein, um die Frage zu beantworten, ob MicroED die SXRDMethode in ihrem praktischen Anwendungsspektrum überholen kann. Insbesondere die Naturstoff- und die pharmazeutische Chemie sind auf Analysemethoden angewiesen, die mit Kleinstmengen der Analyten auskommen. Für Synthesechemiker ist die Möglichkeit, in kurzer Zeit an umfassende Strukturinformation zu gelangen, unabdingbar, um Innovationen in den unterschiedlichsten Forschungsfeldern voranzutreiben.

### Danksagung

Wir bedanken uns beim Fonds der Chemischen Industrie für die Förderung durch ein Kekulé-Stipendium (T.K.) und einen Materialkostenzuschuss (B.M.S.).

### Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 666–668  
*Angew. Chem.* **2019**, *131*, 676–678

- [1] a) Y. Inokuma, S. Yoshioka, J. Ariyoshi, T. Arai, Y. Hitora, K. Takada, S. Matsunaga, K. Rissanen, M. Fujita, *Nature* **2013**, *495*, 461–466; b) Y. Inokuma, M. Fujita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2014**,

87, 1161–1176; c) umfassender Übersichtsartikel: J. W. Steed, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 13175–13182.

- [2] J. Gurke, Š. Budzák, B. M. Schmidt, D. Jacquemin, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 4797–4801; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 4888–4893.
- [3] a) M. Hoshino, A. Khutia, H. Xing, Y. Inokuma, M. Fujita, *IUCr* **2016**, *3*, 139–151; b) N. Wada, R. D. Kersten, T. Iwai, S. Lee, F. Sakurai, T. Kikuchi, D. Fujita, M. Fujita, J.-K. Weng, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 3671–3675; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 3733–3737; c) N. Zigon, M. Hoshino, S. Yoshioka, Y. Inokuma, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 9033–9037; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 9161–9165; d) Y. Matsuda, T. Mitsuhashi, S. Lee, M. Hoshino, T. Mori, M. Okada, H. Zhang, F. Hayashi, M. Fujita, I. Abe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 5785–5788; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 5879–5882; e) S. Lee, M. Hoshino, M. Fujita, S. Urban, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1547–1550; f) N. Zigon, T. Kikuchi, J. Ariyoshi, Y. Inokuma, M. Fujita, *Chem. Asian J.* **2017**, *12*, 1057–1061; g) B. Cuenca, V. Duplan, N. Zigon, M. Hoshino, M. Fujita, E. Fernández, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 4723–4726.
- [4] a) S. Lee, E. A. Kapsutin, O. M. Yaghi, *Science* **2016**, *353*, 808–811; b) R. Ramadhar, S. Zheng, Y. Chen, J. Clardy, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 11252–11255; c) G. W. Waldhart, N. P. Mankad, B. D. Santarsiero, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 6112–6115; d) G. Brunet, D. A. Safin, M. Z. Aghaji, K. Robeyns, I. Korobkov, T. K. Woo, M. Murugesu, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 3171–3177.
- [5] T. Gruene, J. T. C. Wennmacher, C. Zaubitzer, J. J. Holstein, J. Heidler, A. Fecteau-Lefebvre, S. De Carlo, E. Müller, K. N. Goldie, I. Regeni, T. Li, G. Santiso-Quinones, G. Steinfeld, S. Handschin, E. van Genderen, J. A. van Bokhoven, G. H. Clever, R. Pantelic, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 16313–16317; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 16551–16555.
- [6] C. G. Jones, M. W. Martynowycz, J. Hattn, T. J. Fulto, B. M. Stoltz, J. A. Rodriguez, H. M. Nelso, T. Gonen, *ACS Cent. Sci.* **2018**, *4*, 1587–1592.
- [7] a) R. Barringer, T. Meier, **2018**, DOI: 10.26434/chemrxiv.6894605.v2; b) U. Kolb, T. E. Gorelik, E. Mugnaioli, A. Stewart, *Polym. Rev.* **2010**, *50*, 385–409.
- [8] L. Palatinus, P. Brázda, P. Boullay, O. Perez, M. Klementová, S. Petit, V. Eigner, M. Zaarour, S. Mintova, *Science* **2017**, *355*, 166–169.

Manuskript erhalten: 19. November 2018

Endgültige Fassung online: 12. Dezember 2018