

Flexibilis molekulák és molekulakomplexek vizsgálata VCD spekroszkópiával

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Góbi Sándor

Témavezető: *Dr. Tarczay György, egyetemi docens*

ELTE TTK
Kémiai Intézet
Szervetlen Kémiai Tanszék
Molekulaspektroszkópiai Laboratórium



Kémia Doktori Iskola

Elméleti és fizikai kémia, anyagszerkezetkutatás

Doktori Iskola vezetője: *Dr. Inzelt György, egyetemi tanár*

Doktori program vezetője: *Dr. Surján Péter, egyetemi tanár*

Budapest, 2013

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	3
1. Bevezetés	4
1.1. Problémafelvetés, célkitűzés	4
1.2. Alkalmazott módszerek	6
1.2.1. VCD spektroszkópia	6
1.2.2. Mátrixizolációs technika	7
1.2.3. MI-VCD spektroszkópia	9
2. Elméleti áttekintés, kísérleti részletek	11
2.1. Elméleti áttekintés	11
2.1.1. VCD spektroszkópia elmélete	11
2.1.2. VCD jelek robusztussága	13
2.2. Kísérleti részletek	15
2.2.1. VCD berendezés	15
2.2.2. MI berendezés	19
2.2.3. Kísérleti körülmények	22
2.2.4. Számítások háttere	23
3. Robusztusság új definíciója [1]	26
3.1. Robusztusság új definíciójának elmélete	26
3.2. Eredmények	29
4. Peptidmodellek vizsgálata [2]	30
4.1. Bevezetés	30
4.2. Célok	32
4.3. Vizsgált rendszerek	33
4.4. Eredmények	33
4.4.1. VCD spektrumok bázisfüggése	34
4.4.2. α - és β -szerkezetek rotátorerőssége és robusztussága közti különbség	38
4.4.3. A lánchossztól való függés vizsgálata	41
4.5. Összefoglalás	46

5. Ac-β-homo-Pro-NHMe [3]	47
5.1. Bevezetés	47
5.2. Eredmények	49
5.2.1. Számítási eredmények	49
5.2.2. MI-IR és MI-VCD vizsgálatok	59
5.2.3. Oldatfázisú vizsgálatok	64
5.3. Összefoglalás	69
6. 2-klórpropionsav [4]	70
6.1. Bevezetés	70
6.2. Eredmények	71
6.2.1. 2-klórpropionsav monomer	71
6.2.2. 2-klórpropionsav – CHCl ₃ komplex	81
6.2.3. 2-klórpropionsav dimer	85
6.3. Összefoglalás	91
7. Összefoglalás, konklúzió	93
8. Summary	94
A. Az α-, illetve β-FmAANHMe számított fizikai paramétereit táblázatosan	95
Irodalomjegyzék	105

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Tarczay Györgynek munkám irányítását, ösztönzését, támogatását.

Köszönetet mondok továbbá Dr. Vass Elemérnek és Dr. Magyarfalvi Gábornak munkám során nyújtott gyakorlati és elméleti segítségükért, hasznos tanácsaikért.

Nem utolsó sorban köszönettel tartozom családomnak türelmükért és kitartásukért, továbbá a nehéz helyzetekben nyújtott segítségükért.

1. fejezet

Bevezetés

1.1. Problémafelvetés, célkitűzés

A legtöbb, számunkra biológiai szempontból érdekes anyag királis, azaz két – egymással tükörképi viszonyban levő – ún. enantiomer formában létezhet. A két molekula az élő szervezetekre egymástól eltérő hatással bír, ez a jelenség már régóta jól ismert (l. Contergan eset). Ezért fontos, hogy rendelkezésünkre álljanak olyan módszerek, amelynek segítségével sikerrel meg tudjuk határozni a királis vegyületek abszolút konfigurációját. Sokáig egyetlen módszert ismertek amely képes volt erre, ez a röntgensugarak anomális szórásán alapuló mérés volt [5]. Ennek legnagyobb hátránya, hogy tökéletes egykristályokat igényel, ami éppen a makromolekulák esetében nehezen kivitelezhető feladat. E módszernek szintén követelménye, hogy a molekulának legalább két-három oxigén atomot vagy oxigénnél magasabb rendszámú elemet kell tartalmaznia. NMR spektroszkópiában királis shift reagensek használatával megvalósítható az enantiomerek jeleinek eltérő kémiai eltolódása – így azonosításuk is – ehhez azonban először meg kell találni a megfelelő reagenst, majd a kiértékelést nehezíti, hogy ahhoz ismernünk kell a keletkező komplex szerkezetét is.

Ezzel szemben a rezgési cirkuláris dikroizmus (vibrational circular dichroism, VCD) spektroszkópiánál nem szükséges egykristály előállítása, a módszer szilárd, folyadék és gázhalmazállapotú mintánál is alkalmazható, illetve nem szükséges különféle királis reagensek felhasználása sem. A módszer rokona az elektronikus CD spektroszkópiának (electronic circular dichroism, ECD), összehasonlításukat l. az 1.2.1. fejezetben. A VCD spektrumok számítása már rutinfeladatnak számít, egyetlen dolgunk a számított spektrum összevetése a kísérleti úton kapottal: amennyiben megegyeznek, úgy abban az esetben ugyanarról az enantiomerről van szó, amennyiben tükörképei egymásnak, a másíkról. Ugyanakkor a módszer alkalmas optikailag aktív vegyületek szerkezetvizsgálatára is, hiszen a jelek nagyságát és előjelét minden esetben többé-kevésbé befolyásolja a molekula geometriája, és a kiértékelés ebben az esetben is a számított, valamint a kísérleti úton

mért spektrumok összevetésével történik. A VCD spektroszkópia a klasszikus szerkezetmeghatározó módszerekkel (például FT-IR) szemben is előnyökkel bír (bővebben l. 1.2.1. fejezet).

Merev molekulákra a VCD mára egy jól bevált módszerré vált. Ugyanakkor bizonyos esetekben a számítás és kísérlet nem ad konzisztens eredményt (jó példák erre a karboxil, illetve az amidcsoport C=O rezgései) és általában problémát jelentenek a flexibilis molekulák is [6]. Mivel a VCD spektrum erősen függ a konformációtól, így az egyes konformerek Boltzmann-faktorokkal átlagolt spektrumainak összegével kell számolni. Azonban – mivel ezekben a molekulákban egy vagy több koordináta mentén az energia csak kis mértékben változik – az egyes molekulák szerkezete jelentősen eltérhet az egyensúlyi geometriától. Ezért a merev társaikhoz képest jóval nagyobb gondot jelentenek azok az ún. nem-robusztus módusaik, amelyek az energiaminimum közelében előjelet válthatnak. Ráadásul egy flexibilis molekulának általában sokkal több rezgési módusa nem-robusztus, így egy adott szerkezetű molekulának a számított és a kísérleti úton kapott spektruma nem feltétlenül egyezik meg teljesen, megnehezítve az asszignációt. Szükséges tehát, hogy kifejlesszünk egy módszert, amelynek segítségével előre meg tudjuk határozni, melyek azok a rezgési módusok amelyek megbízhatók, és melyek azok amelyeket nem szabad figyelembe venni a szerkezetvizsgálat során.

Vizsgálataimat ennek megfelelően olyan molekulákra végeztem el, amelyeknél várható, hogy lesznek olyan módusaik, amelyekre a számított előjelek nem tekinthetők megbízhatónak. Ezekben a modellvegyületeken tesztelhető, hogy a kifejlesztett módszer milyen eredményességgel jelzi előre ezeket a módusokat, és az így kapott információk segítségével kiértékelt számított eredmények mennyire vannak összhangban a kísérleti úton kapottakkal. Ilyen molekulák az általam vizsgált flexibilis biomelekulák mono- vagy oligomerjei (l. pl. 4. vagy 6.2.3. fejezet), illetve komplexei (l. 6.2.2. fejezet). A kísérleti úton is vizsgált vegyületek abszolút konfigurációja ismert volt, ami támpontot nyújtott a számítások eredményei helyességének ellenőrzésében is, azonban munkám során a szerkezetmeghatározásra összpontosítottam.

Doktori munkám során különböző optikailag aktív biomolekulák szerkezetvizsgálatát végeztem el VCD spektroszkópia segítségével, amelyet egyéb spektroszkópai módszerek (pl. FT-IR spektroszkópia) egészítettek ki. Ezen felül az egyes molekulák konformációjában, illetve szerkezetében bekövetkező változásoknak – például más oldószer használata, dimerek, komplexek képződése, számítás eltérő bázison – VCD spektrumra gyakorolt hatását kísértem figyelemmel. Munkám során további szempont volt egy olyan elmélet felállítása, amely nagy pontossággal jelzi előre azokat a VCD jeleket, amelyek rendkívüli érzékenységet mutatnak a körülmények legkisebb megváltozására is. Ha ugyanis a számítások során ki tudjuk szűrni ezeket, a többi segítségével az abszolút konfiguráció és a molekula szerkezetének meghatározása is biztosabbá válik.

A vizsgált molekulák a következők voltak:

1. aminosavak N-formil-N'-metilezett származékainak konformerei, di- és trimerjeinek,
2. az Ac- β^3 -HPro-NHMe konformereinek
3. és a 2-klórpropionsav monomerek, dimerek és CHCl_3 komplexek szerkezet-, illetve a számított VCD jelek robusztusságának vizsgálata.

1.2. Alkalmazott módszerek

1.2.1. VCD spektroszkópia

A már régóta ismert [7] és cirkuláris dikroizmusnak (circular dichroism, CD) elnevezett jelenség során optikailag aktív vegyületek – egy enantiomerpár két tagja – a cirkulárisan polarizált fényt eltérő mértékben nyelik el. A legelső kísérletek az elektromágneses spektrum UV-VIS tartományában történtek, ezt nevezzük manapság elektronikus CD-nek, megkülönböztetve a többi rokon módszertől, mint amilyen az infravörös tartományban felvett VCD spektroszkópia.

Az elmúlt két évtizedben a VCD spektroszkópia – a királis vegyületek abszolút konfigurációjának meghatározása mellett – a szerkezetkutatásnak, ezen belül peptidek másodlagos szerkezete felderítésének egyik legfontosabb eszközévé vált [8]. Ennek egyik oka, hogy a módszer számos előnnyel bír az alternatív módszerekkel szemben. Ilyen például az, hogy az ECD spektroszkópiához hasonlóan ugyanúgy rendelkezik előjellel a kapott spektrum, ez viszont többlet-információt jelent a klasszikus rezgési spektroszkópiákhoz (például FT-IR) képest, így szerkezetmeghatározásra alkalmasabb módszer. A szerkezetvizsgálatban ugyancsak alkalmazott röntgenkristallográfiával szemben a minta folyadék-, vagy akár gázfázisban is mérhető.

Azonban – az ECD spektroszkópiával ellentétben – a vizsgált molekulának nem szükséges kromofór csoportot (például C=O vagy C=C kötések) tartalmaznia, amely a vizsgált tartományban elnyel. Mivel a rezgési spektrumokban a széles sávok sokkal ritkábbak, így kevesebb az átfedés, viszont az átmenetek száma jóval nagyobb, mint az UV-VIS tartományban végzett mérések esetén, így a szerkezet meghatározása sokkal több jel alapján történhet. Ráadásul az ECD spektrumok számítását bonyolulttá teszi, hogy az alapállapot mellett a molekula gerjesztett elektronállapotát is figyelembe kell venni. Ezzel ellentétben a VCD spektrumok könnyebben és pontosabban számolhatók, mivel azokhoz pusztán a molekula alapállapota szükséges. Az elméleti módszerek segítségével kiszámolt és a kísérleti úton kapott spektrumok összevetése megkönnyíti a helyes asszignációt, így az abszolút konfiguráció vagy a szerkezet meghatározását. A módszer fő technikai nehézsége, hogy a kapott jelek 4–5 nagyságrenddel gyengébbek, mint az optikai tartományban, de a jel/zaj viszony a készülékek érzékenységének fejlődésével egyre jobbá válik.

A VCD spektroszkópia tehát nem más, mint CD spektroszkópia az infravörös tartományban, azaz a jobbra, illetve balra cirkulárisan polarizált infravörös fény abszorpciójának különbségspektumát vesszük fel.

$$\Delta A(\nu) = A_L(\nu) - A_R(\nu) \quad (1.1)$$

A technika fiatalnak mondható, az első VCD spektrumot 1973-ban vették fel [9], amelyet hamarosan egyre több kezdeti alkalmazás követett [10–15]. Az első FT-IR VCD spektrumot Nafie és munkatársai vették fel 1979-ben [16]. A műszerek fejlődése következtében kereskedelmi forgalomba először az 1990-es évek végén kerültek rutin mérések elvégzésére alkalmas VCD berendezések.

Nem csak az FT-IR, hanem a Raman méréseknek is van megfelelő „CD spektroszkópiája”, ez utóbbit Raman optikai aktivitásnak nevezik (Raman Optical Activity, ROA). Elméletét 1971-ben fektették le [17], amelyet hamarosan követett a technika első kísérleti megvalósítása is [18]. Felhasználási területe a VCD-vel megegyezik. Ezen felül ugyanazokkal az előnyökkel rendelkezik, mint a „klasszikus” Raman az IR spektroszkópiával szemben: lehetővé teszi mérések végrehajtását vizes közegben is, továbbá kevesebb sáv jelenik meg a spektrumban, így az átfedések előfordulásának gyakorisága is csökken. A műszerek fejlődésével az évezred elején kerültek kereskedelmi forgalomba az első rutin célra felhasználható ROA-spektrométerek.

A különböző cirkuláris dikroizmus spektroszkópiákról magyar nyelven egy összefoglaló jellegű könyv [19], továbbá a kutatócsoportunk által a laboratóriumban használt VCD és ROA spektrométerekről, valamint az alkalmazásokról nemrégiben a Magyar Kémiai Folyóiratban is megjelent egy munka [20].

1.2.2. Mátrixizolációs technika

A mátrixizolációs (MI) technika azon az elgondoláson alapszik, miszerint a vizsgálandó anyag molekuláit egymástól elkülönítve, külső kölcsönhatásoktól, valamint az esetlegesen lezajló reakcióktól védve vizsgáljuk. Tehát az egyes, izolált specieszek szerkezeti tulajdonságairól nyerhetünk információt, amelyek jól összevethetők a kvantummechanikai számításokkal is. Az ötlet, miszerint a vizsgálandó anyagot inert anyagba fagyasztva vizsgáljuk, Pimentel nevéhez fűződik, aki 1954-ben először alkalmazta [21]. Ennek technikai megvalósítása úgy történik, hogy a vizsgált specieszt egy inert és merev mátrixba fagyasztjuk. Amennyiben eléggé „híg” a vizsgált rendszerünk, azaz a specieszek eléggé távol helyezkednek el egymástól a mátrixban, akkor jó közelítéssel feltételezhetjük a közel kölcsönhatásmentes állapotot. Az alkalmazott alacsony hőmérséklet és inert környezet miatt a spektrumok félértékszélessége lecsökken – ezáltal az esetleges átfedések megszűnhetnek – így a kapott spektrum jelentősen egyszerűsödhet egy kondenzált közegben felvetthez képest. A speciesz forgása a mátrixba ágyazva általában gátolt, így nem jelennek meg

a forgási átmenetek az infravörös spektrumban, amely a gázfázisú spektrumokhoz képest jelent egyszerűsödést. A kismértékű mátrix – speciesz kölcsönhatás miatt azonban a gázfázisú mérésekhez képest bizonyos eltolódás észlelhető (hullámszámokban megadva aránya 0,005 körül van) [22, 23, 298. o.]. Az intermolekuláris kölcsönhatások csaknem teljes kiküszöbölésének további következménye a kísérletileg mért és a kvantumkémiai módszerrel számolt spektrumok jó egyezése. Emiatt az asszignálás jóval egyszerűbbé válik. Mivel a mátrix inert és gátolt benne a diffúzió, lehetővé válik reakcióképes gyökök tanulmányozása is. Mátrixképzőként általában nemesgázokat alkalmaznak – leggyakrabban argont –, de használhatók egyéb gázok is – mint például (para-)H₂ vagy N₂. A nemesgázok előnye inertségük mellett, hogy számos spektroszkópiai módszerrel történő vizsgálatot tesznek lehetővé, hiszen széles spektrális tartományban (így az infravörös és UV-VIS tartományban is) átteresztik az elektromágneses sugárzást, így párhuzamosan több módszerrel is vizsgálhatjuk mátrixba zárt vegyületünket. Ha célunk a mátrix és a vizsgált speciesz közötti reakció tanulmányozása, mátrixként reaktív anyagot is felhasználhatunk (pl. metán, hidrogén, ammónia).

Fontos kérdés a mátrix képzésével kapcsolatban a különféle szennyezők jelenléte. A mátrixként használt nemesgáznak rendkívül tisztának kell lennie, főként nedvességet nem tartalmazhat, mivel a víz komplexeket képezhet a vizsgált anyagunkkal, és a megjelenő sávok megnehezítik a spektrum értelmezését. Az MI technika számos spektroszkópiai módszerrel összeköthető, ezek közül leginkább használtak az UV-VIS, az IR és az elektronspinrezonancia (electron spin resonance, ESR) spektroszkópiák.

A spektrumok kiértékeléséhez figyelembe kell vennünk az üregeffektust (site-splitting) is, amely a vizsgált speciesz spektrumvonalainak felhasadását jelenti. Ennek oka, hogy a mátrixba zárt anyag molekulái különböző térbeli irányultságot vesznek fel a kristályrácsban – melyek egymástól kismértékben különböző környezetet, így energiaszinteket jelentenek – ezáltal egy adott rezgési átmenet frekvenciája is eltérővé válik.

Az MI technikának számos alkalmazása van, ezek közül néhány: (1) Konformerek, illetve a különböző konformerek egyensúlyi eloszlásai vizsgálhatók. Ez azon a tapasztalaton alapul, hogy az effúziós mintabeeresztés során a leválasztás olyan gyors, hogy a beeresztés hőmérsékletéhez tartozó egyensúlyi eloszlás megmarad a konformerek közt a leválasztás után is. Ahhoz azonban, hogy mindezt feltételezhessük, teljesülnie kell, hogy a különféle konformerek egymásba alakulásának energiagátja legalább 5–10 kJ·mol⁻¹ körüli legyen. Kellően kis konformációs gátak esetén hőkezelést követően új konformereloszlás alakul ki, amely nyomon követhető a spektrumvonalak intenzitásváltozásával, ez pedig az egyes konformerek asszignálásában is segít. Mindezek alapján kísérleti úton becsülhető a konformerek relatív energiája és a konformációs gátak nagysága. (2) Előállíthatók gyökök és lehetővé válik közvetlen vizsgálatuk is. Alapvetően kétféleképpen juthatunk gyökökhöz: a mátrixban levő anyagot reagáltatjuk vagy fotolizáljuk (*in situ* módszerek), vagy a mintabeeresztés során előállított gyököt csapdázzuk (trapping). Az így kapott reak-

tív specieszek az inert mátrixban stabilak: amíg lehetővé nem tesszük a diffúziót, addig szabadon tanulmányozhatók. (3) Molekulakomplexek előállítás, illetve ezek szerkezetvizsgálata. A mérés során a két összetevőt együtt választják le, majd hőkezeléssel (l. 6. fejezet) elérhetjük a komplexek kialakulását. Azonban a folyamat kevésbé kontrollálható, a kialakult komplexek mellett homodimerek is kialakulhatnak, melyek jeleit nem minden esetben könnyű megkülönböztetni a komplexek jeleitől. Ha a mintát vízzel kívánjuk komplexálni, érdemes több, a vizet eltérő koncentrációban tartalmazó (például 1:1000, 1:500) mátrixba fagyasztva vizsgálni. Ekkor a kifagyasztás során statisztikus arányban egymás mellé kerül a vizsgált molekula és a víz. A vízkoncentráció növelésével több komplex alakul ki, jelük nagyobb lesz, így a minta és a komplex jelei megkülönböztethetővé válnak. Szintén növelhető a komplexek aránya a mátrix hőkezelésével. A mátrixot ilyenkor a szublimációs hőmérséklet kb. 2/3-ig felmelegítve a lehetővé válik a kis és közepes méretű molekulák diffúziója, majd azt követően a komplexképződés.

Az MI technikát biomolekulák építőelemeinek pl. nukleotid bázisok és aminosavak vizsgálatára is alkalmazták már. Aminosavak vizsgálata elsőként Grenie és munkatársai nevéhez fűződik: glicinnel végezték el 1970-ben [24]. Később más aminosavakat is vizsgáltak: leucint [25], prolint [26, 27] alanint [28], valint [29], szerint [30, 31], tirozint [32], fenilalanint [33], triptofánt [34] és ciszteint [35]. Ezzel majdnem egyidőben kezdték el különböző peptidmodellek szerkezetének felderítését is [36, 37], utóbbi időben kutatócsoportunk a cisztein konformereit vizsgálta, amiről hamarosan egy közlemény is megjelenik [38].

A munkám során használt mátrixizolációs berendezés részegységeinek ismertetése a 2.2.2. fejezetben olvasható, illetve részletesebb leírása a Magyar Kémiai Folyóiratban már korábban megjelent [39].

1.2.3. MI-VCD spektroszkópia

A VCD spektroszkópiát és a mátrixizolációs technikát először 1986-ban kapcsolták össze [40, 41], amelynek során az α -pinént vizsgálták Ar, illetve N_2 mátrixban. Az MI-VCD legnagyobb előnye a folyadékfázisú mérésekkel szemben a jelszélesség csökkenése. Ez a VCD spektroszkópiában különösen fontos, mivel itt a csúcsoknak előjelei vannak, így ha a két átfedő csúcs jele ellentétes de jelintenzitásuk hasonló nagyságú, ki is olthatják egymást. Az, hogy az izolált körülmények között mért és a számított spektrum jobban hasonlít egymásra az egyéb felvételi módszerekkel kapott eredményekhez képest, már az MI-IR spektroszkópiánál is fontos előnyt jelent. Azonban a VCD esetén ez fokozottan érvényes, ahol a spektrum rendkívül érzékeny a különféle kölcsönhatások – például H-kötések – jelenlétére, valamint a molekula geometriájának megváltozására. Emiatt a módszer rendkívül hasznos kis királis molekulák szerkezetvizsgálatára. Csoportunk az elmúlt években különböző alkoholok (*R*-2-amino-1-propanol [42]), peptidmodellek (Ac-*L*-Ala-NHMe [43], Ac-*L*-Pro-NH₂ [44]) és vizes komplexeik (Ac-*L*-Ala-NHMe - H₂O komplex

[45]), β -peptidmodellek (Ac- β -Ala-NHMe és Ac- β -HAla-NHMe [46], Ac- β -HPro-NHMe [3], l. 5. fejezet), illetve karbonsavszármazékok (2-klórpropionsav [4], l. 6. fejezet) vizsgálatát is elvégezte.

2. fejezet

Elméleti áttekintés, kísérleti részletek

2.1. Elméleti áttekintés

2.1.1. VCD spektroszkópia elmélete

A VCD spektrumok számításához szükséges volt egy megfelelő elmélet megalkotása. Az első lépés Rosenfeld névéhez fűződik [47], amely szerint az elnyelések közti különbség – azaz a jelintenzitás – arányos az ún. rotátorerősséggel (R_{ab}). Ez egy általános formula, amely nem csak a rezgési gerjesztésekre vonatkozik, hanem az elektronokéra is (azaz elvileg nem csak VCD, hanem ECD spektrumok számítására is alkalmazható):

$$R_{ab} = \Im \{ \langle a | \boldsymbol{\mu}_e | b \rangle \langle a | \boldsymbol{\mu}_m | b \rangle \} \quad (2.1)$$

ahol a és b a rezgési alap és gerjesztett állapot, $\boldsymbol{\mu}_e$ és $\boldsymbol{\mu}_m$ az elektromos és mágneses dipól operátorok, amelyek az alábbi módon fejezhetők ki:

$$\boldsymbol{\mu}_e = \sum_k q_k \mathbf{r}_k \quad (2.2)$$

$$\boldsymbol{\mu}_m = \frac{1}{2c} \sum_k q_k \mathbf{r}_k \times \mathbf{p}_k \quad (2.3)$$

q_k , \mathbf{r}_k és \mathbf{p}_k a k . részecske töltését, helyvektorát és impulzusmomentumvektorát jelenti, mind elektronokra, mind a magokra. A kifejezések atomi egységben vannak megadva. A Rosenfeld-formulából levezethető a VCD spektrumok néhány sajátossága: mivel az elektromos és mágneses dipólmomentum operátorok eltérő eltérő szimmetriával rendelkeznek reflexió vagy inverzió esetén, így szorzatuk (R_{ab}) is páratlan lesz szimmetriaműveletekre nézve. Ebből következik, hogy az enantiomerek VCD spektruma egymásnak tükörképe lesz. Ez azt is jelenti, hogy szimmetrikus molekulákra a rotátorerősség szükségképpen zérus.

A rotátorerősség értelmezhető úgy is, mint az elektromos és mágneses átmeneti dipól-

vektorok skalárszorzata:

$$R_{ab} = |\boldsymbol{\mu}_e(a \rightarrow b)| |\boldsymbol{\mu}_m(b \rightarrow a)| \cos \xi \quad (2.4)$$

ahol ξ a két vektor által bezárt szög. Azaz R_{ab} nagysága nem csak a két vektor nagyságától, hanem az általuk bezárt szögtől is függ. Ha a szög közel 90° , akkor a rotátorerősség nulla körüli érték – ez a helyzet az akirális molekuláknál, ahol definíció szerint $\xi = 90^\circ$ –, és minél jobban eltér ettől, R_{ab} értéke annál nagyobb lesz.

Belátható továbbá, hogy a rezgési módusok rotátorerősségeinek összege zérus:

$$\sum_{\nu} R_{0,\nu} = \Im \{ \langle 0 | \boldsymbol{\mu}_e | \nu \rangle \langle \nu | \boldsymbol{\mu}_m | 0 \rangle \} = \Im \{ \langle 0 | \boldsymbol{\mu}_e \boldsymbol{\mu}_m | 0 \rangle - \langle 0 | \boldsymbol{\mu}_e | 0 \rangle \langle 0 | \boldsymbol{\mu}_m | 0 \rangle \} = 0 \quad (2.5)$$

Az ECD spektrumok számításához elegendő az elektronok átmeneti dipólmomentum operátorokhoz való hozzájárulásának ismerete, a magok elhanyagolható. Nem ez a helyzet azonban a VCD spektrumok esetén, amelyekhez minden tag ismerete szükséges a rotátorerősség számításához. A szorzat két tényezője közül $\boldsymbol{\mu}_e$ nagyságának és irányának számítása rutinfeladat, mivel négyzete arányos a számított infravörös abszorpcióval, így az IR spektrumok számításához annak ismerete elengedhetetlenül szükséges. $\boldsymbol{\mu}_m$ számítása azonban nehézségekbe ütközik, kivált az elektronok hozzájárulása, amely az 1980-as évek közepéig megoldatlan maradt. A VCD spektroszkópia elméletéről – így az elektromos és mágneses átmeneti dipólok számításáról – bővebben kutatócsoportunk korábban megjelent összefoglaló munkájában lehet olvasni [8].

Az elektromos átmeneti dipólmomentum vektor számításánál néhány elhanyagolást kell bevezetnünk: ilyen a Bohr-Oppenheimer (BO) közelítés, amely szerint a molekula hullámfüggvénye (ϕ) az elektronok (φ_e), valamint a magok (φ_n) hullámfüggvényének szorzata. Ennek eredményeként értelmezhető a potenciálfelület és a dipólfelület fogalma, amelyeket harmonikusan közelítünk: a felületek minimumának közelében kvadratikussá, illetve lineáris összefüggést feltételezünk. A rezgési módusok harmonikus közelítésének eredménye, hogy az egyes rezgési átmenetek elektromos átmeneti dipólmomentuma becsülhető a dipólmomentum elsőrendű sorfejtésével. Ekkor a molekula elektromos dipólmomentumainak Descartes-koordináták (R_i) szerinti deriváltjait vesszük egyensúlyi helyzetben ($R = 0$). A magok és az elektronok hozzájárulása különválasztható, utóbbiak hozzájárulása a legtöbb kvantumkémiai programcsomagba implementált, a legtöbb elméleti szinten (HF, DFT, MP2, CCSD, stb.) számíthatók, mivel az erőállandók – így a normálrezgések és a harmonikus rezgési frekvenciák – számításához szükségesek.

A mágneses átmeneti dipólmomentum másképpen viselkedik, mint az elektromos tag. Ha az elektronok hullámfüggvénye valós – mint amilyen a nemdegenerált szinglet állapotoknál –, a tisztán imaginárius és hermitikus mágneses dipóloperátor várható értéke az

elektronok alapállapotára szükségképpen zérus. Ez a magkonfiguráció megváltozásával sem változik, így az elektronoknak elvileg nincs hozzájárulásuk a mágneses átmeneti dipólmomentumhoz. Ez nyilván nincs így, az elektronoknak van valamekkora hozzájárulásuk, és ennek hiánya a BO közelítésből ered. Ebből fakadóan a magok helyzete hatással van ugyan az elektronok hullámfüggvényére, de a magok mozgásának elektronokra gyakorolt hatását teljesen figyelmen kívül hagyja. Ezért a mágneses átmeneti dipól számításához olyan modell szükséges, amelyben a BO közelítést kiküszöböljük. Az első ilyen a Nafie és Freedman vibronikus csatolás elmélete (Vibronic Coupling Theory, VCT, [48]) volt. A legfontosabb lépés a VCD spektrumok számítása szempontjából Stephens nevéhez kötődik, aki a mágneses mező perturbációs módszert (magnetic field perturbation, MFP, [49]) alkotta meg, amelyet a mai napig használnak.

A mágneses átmeneti momentum nem mértékinvariáns, azaz ha a koordinátarendszerünk középpontját áthelyezzük, μ_m nagysága és iránya is változhat. Ebből következik, hogy μ_e -vel bezárt szöge (azaz ξ , l. 2.4 egyenlet) sem független a koordinátarendszer megválasztásától: mindig tudunk olyat választani, ahol $\xi \approx 90^\circ$ lesz. Azonban skalárszorzatuk – a rotátorerősség – mértékinvariáns, valós érték.

A mágneses átmeneti dipólvektoroknak az origó helyétől való függését a mértékinvariáns atompályák (gauge independent atomic orbitals, GIAOs [50,51]) használatával tudjuk kiküszöbölni. A legtöbb kvantumkémiai programcsomag amelyben a VCD rotátorerősségek számítása implementált – mint amilyenek a munkám során használt Gaussian [52] és PQS [53] szoftverek is –, és mértékinvariáns atompályákat használ a számítások során. Kezdetben HF [54] elméleti szinten számítottak rotátorerősségeket, de ezek nem szolgáltattak jó eredményeket. Ezt követte néhány MP2 [55], illetve MCSCF [56] számítás, amely növelte ugyan a pontosságot, de ez a számítási igény jelentős növekedésével járt. A DFT módszer használata [57] hozta el az áttörést, amely megfelelő eredményeket szolgáltat nem túl nagy számítási igény mellett. A számítások során a legnagyobb hibát a harmonikus közelítés okozza, ennek ellenére anharmonikus számításokra csak néhány esetben találunk példát [58]. A közelítés miatt nehézkes az eredő mágneses momentummal rendelkező molekulák kezelése. Ilyenek a gyökök, illetve átmeneti fémkomplexek, utóbbiaknál gyakran szokatlanul nagy rotátorerősségeket kaphatunk [59].

2.1.2. VCD jelek robusztussága

Ahogy arról már volt szó, bizonyos esetekben a VCD spektrumok számítása már rutinszerű. Azonban ez általában csak kis, merev molekulákra érvényes. Nehézségek léphetnek fel azonban nagyobb, flexibilis molekulák vizsgálata során, ha szolvatáció lép fel, vagy komplexek, illetve oligomerek képződnek, ugyanis az a számított előjelek nagyfokú változását vonhatja maga után [4,42,60], valamint a kísérleti úton mért előjeleket is megváltoztathatják.

Nem minden VCD jel mutatja azonban ezt a sajátosságot, bizonyos VCD sávokat nem befolyásolják a perturbációk. Mások viszont rendkívül érzékenyek legkisebb változásra is a kísérleti körülményekben – például kölcsönhatás az oldószermolekulával [61] –, vagy a számítási módszerben – például egy másik elméleti szint vagy bázis használata (l. 4.4.1. fejezet) –, így nagy óvatossággal kell elvégeznünk az asszignálást. Érdeemes emiatt tehát valamilyen elv szerint csoportosítani a VCD jeleket.

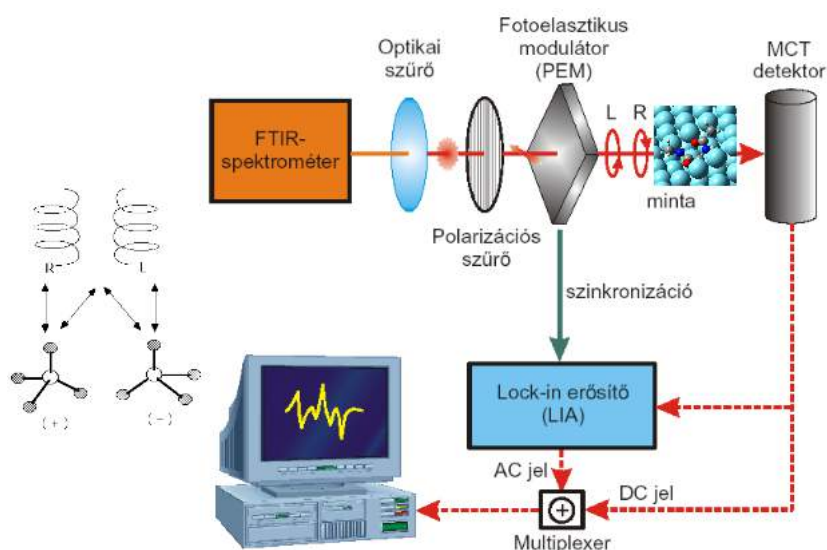
Egy ilyen rendező elv a robusztusság elmélete, amely a VCD előjeleket robusztus, illetve nem-robusztus módusokra osztja fel aszerint, hogy azok mennyire érzékenyek a külső körülmények megváltozására. Ezt a módszert eredetileg Nicu és munkatársai vezették be [62]. Definíciójuk szerint a robusztusság a két átmeneti dipólmomentum vektor által bezárt szög (ξ , l. 2.4 egyenlet). Ha ez 90° körül van – például kicsit több annál – akkor a legkisebb perturbáció hatására ez megváltozik – például kicsit kevesebb lesz, mint 90° – és rotátorerősség előjelet válthat (l. 2.4 egyenlet). Ezzel ellentétben, ha nagymértékben eltér 90° -tól – Nicu szerint legalább 30° -kal – akkor a perturbáció hatására sem lesz akkora a változása, hogy a rotátorerősség előjelet váltson.

Ez alapján a számított VCD sávokat kétfelé lehetne osztani, aszerint, hogy előjelei érzékenyek-e a perturbációra, avagy sem. Amennyiben egy VCD rezgési módus előjelet vált ha molekulageometria kissé megváltozik – például más bázison optimáltuk molekulánkat, vagy oldószermódellet használunk –, akkor nem-robusztusnak, ellenkező esetben robusztusnak nevezzük. Az abszolút konfiguráció, valamint a szerkezet meghatározásához csakis a robusztus módusokat használhatjuk fel, hiszen ezek előjele az, ami bizonyosan nem változik a körülmények hatására.

Ahogy azt később, a 3. fejezetben tárgyalom, a két átmeneti dipólmomentum vektor által bezárt szög koordinátarendszer-függő. Így – ahogy arról már volt szó a célkitűzések között – egyik feladatomban a robusztusságot jellemző új, elméletileg helyesebb mennyiség bevezetése és tesztelése volt.

2.2. Kísérleti részletek

2.2.1. VCD berendezés

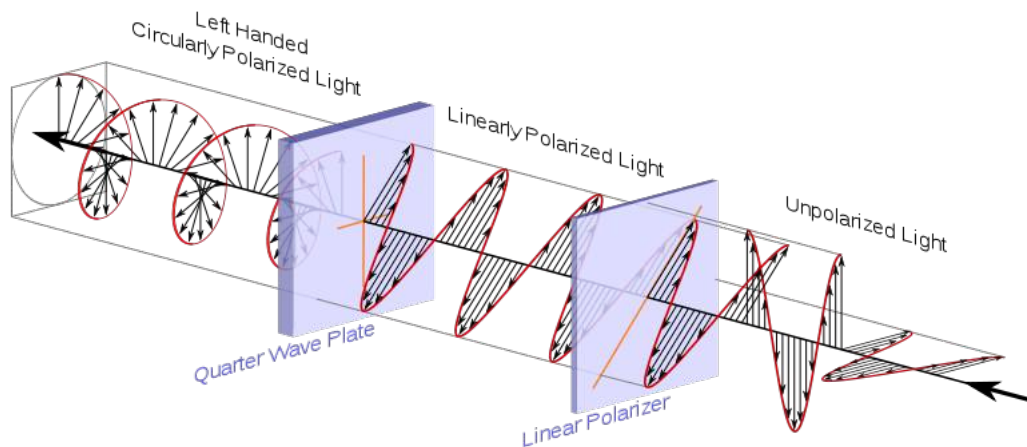


2.1. ábra. A VCD spektrométer felépítése

Egy VCD spektrométert tekinthetünk egy IR spektrométernek, amely azonban tartalmaz néhány speciális eszközt annak érdekében, hogy a jobbra, illetve balra cirkulárisan polarizált fényt előállíthassuk: nevezetesen lineáris polarizátort, illetve egy fotoelasztikus modulátort. Mielőtt működésének leírásába bocsátkoznánk, röviden össze kell foglalni a polarizált fényvel kapcsolatos alapvető tudnivalókat.

A fényt tekinthetjük úgy, mint elektromágneses hullámokat, melyek rezgései (két, egymásra merőleges elektromos, illetve mágneses tagból áll), transzverzálisak a terjedési irányukra. Egy ilyen hullámcsomagban általában az egyes hullámok rezgései különböző irányultságot vehetnek fel véletlenszerűen (l. 2.2. ábra). Azonban lehetséges, hogy a rezgések nem mutatnak izotróp tulajdonságot, hanem a térben valamilyen irányultságot vesznek fel, ebben az esetben az elektromágneses hullámot polarizáltnak nevezzük. Ilyen a lineárisan polarizált fény, amelynek elektromos vektora egy síkban rezeg, amely síkot polarizációs síknak nevezzük. Ezenkívül a hullám lehet elliptikusan (illetve ennek speciális eseteként cirkulárisan) polarizált, amikor az elektromos térerő vektorának irányultsága az időben és térben változik. Attól függően, hogy az óramutató járásának megfelelően, avagy azzal ellentétesen jár, beszélünk jobbra, illetve balra elliptikusan vagy cirkulárisan polarizált fényről.

Ahhoz, hogy polarizált fényt előállíthassunk, szükségünk van egy ún. polarizátorra. A polarizáció milyenségétől függően ismerünk lineáris, cirkuláris, illetve elliptikus polarizátorokat. A polarizátorokkal rokon eszközök az ún. retarderek, melyek a polarizált fényre hatnak, a polarizálatlan fényre nincsenek hatással. A cirkuláris, illetve elliptikus



2.2. ábra. Polarizálatlan (unpolarized), lineárisan (linearly polarized), valamint balra cirkulárisan polarizált (left handed circularly polarized) fény és az előállításukhoz szükséges polarizátorok (linear polarizer), illetve retarderek (quarter wave plate). Forrás: <http://goo.gl/IFU1Y5>

polarizátor sokszor nem más, mint egy lineáris polarizátor és egy retarder kombinációja. A lineáris polarizátorok fajtájuktól függően a következő jelenségeket használhatják fel arra, hogy a lineárisan polarizált fényt előállítsák: dikroizmus, kettőstörés, reflexió, optikai rácsok reflexió-transzmissziója, illetve fényszórás.

Ezek közül néhányról röviden szólva: (1) a dikroizmus jelensége, azaz a fény anizotróp módon történő elnyelése. Klasszikus példa erre a turmalin kristály. (2) A kettőstörést először Erasmus Bartholinus dán professzor írta le, amikor egy izlandi pát nevezetű kristályon átnézve észrevette, hogy a tárgyaknak kettős képét látja. Az általa észrevett jelenség során a polarizálatlan fény egy anizotróp közegbe jut, és két, egymással ellentétes polarizációjú komponensre válik szét. Amennyiben a bejövő fény nem merőleges a közeg határára, a két komponens szétválik, az egyik a Snellius-Descartes törvényt követve (ordinárius sugárnak nevezzük), a másik ezzel szemben eltér a törvénytől (ez az extraordinárius sugár). Huygens ezt azzal magyarázta, hogy a kristály szerkezete miatt egy adott irányban megváltozik a fény terjedési sebessége. Leggyakrabban az egy tengellyel rendelkező egykristályok mutatják ezt a jelenséget, ezt a tengelyt szokás optikai tengelynek is nevezni. Ezek a polarizátorok, alkotóikról elnevezve, különböző neveket viselhetnek, mint pl. Nicol, Ahrens, Glan-Foucault, Glan-Thompson. A kettőstörés jelenségén alapulnak az ún. polaroidszűrők is, amikor valamilyen polimerre kettőstörő kristályokat visznek fel vékony rétegben. Ezek a kristályok a szétválasztott két fénysugár közül csak az egyik, meghatározott síkban polarizált fényt engedik át, a másikat elnyelik. (3) A harmadik típust a Brewster polarizátorok képviselik, amelyek az ún. Brewster-törés jelenségén alapulnak. Minden dielektrikus közegnek van egy meghatározott, ún. Brewster-szöge, amikor csak a beesés síkjára merőlegesen polarizált fényt reflektálja, méghozzá a Brewster-szöggel. Ezt a szöget könnyű meghatározni a Fresnel elmélet értelmében: $\tan \phi_b = n$. A közegen áthaladt, törést szenvedett fény tartalmaz mind párhuzamosan, mind merőlegesen pola-

rizált fényt. Napjainkban már csak ritkán használatos módszer a spektroszkópiában. (4) Lineárisan polarizált fényt előállíthatunk optikai rácsok segítségével is. Lényeges, hogy a rácsok közötti távolság legyen kisebb, mint a használt fény legrövidebb hullámhosszú komponensének diffrakciós határa. A diffrakciós egyenletből:

$$\sin \beta = \pm \left(\frac{m\lambda}{a} + \sin \alpha \right) \quad (2.6)$$

ahol α a beesési, β a diffrakciós szög, a a rácsállandó, m pedig a diffrakció rendje (amely egész számú értéket vehet fel). Amennyiben $\frac{\lambda}{a} + \sin \alpha > 1$, úgy a diffrakció jelensége nem lép fel, hanem a rács polarizátorként viselkedik: a sugár visszaverődik, illetve áthalad, féligáteresztő tükörként viselkedve. Az áthaladó sugárzás polarizált lesz, a polarizáció síkja merőleges lesz a rácsra, a visszavert sugárzás pedig párhuzamosan lesz polarizált. Napjainkban ezek a leginkább használatos polarizátorok az IR spektroszkópiában. Nagy előnyük, hogy mentesek a másodlagos effektusoktól, mint az abszorpció, reflexió, illetve refrakció.

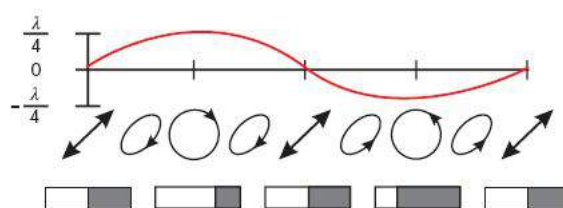
A retarderek (másik angol nevükön waveplate-ek, l. 2.2. ábrán) – mint arról már volt szó – azok az eszközök, amelyek a már lineárisan polarizált fényre hatnak. A polarizáció síkját forgatják el oly módon, hogy a beérkező fényt két, egymásra kölcsönösen merőleges komponensre bontják fel, amelyek között fáziskülönbség van. Ezáltal jön létre az elliptikusan polarizált (illetve ha a fáziskülönbség $\pi/4$, akkor cirkulárisan polarizált) fény. Két fizikai jelenséget használnak fel a retarderek: a kettőstörést, illetve a totális reflexiót. Utóbbinál a visszavert fény általában elliptikusan polarizált, de ez függ a beesési szögtől, a visszaverő közeg refrakciós mutatójától, valamint a polarizációs sík állásától is. Előbbinél a két merőleges hullám fáziskülönbsége:

$$\delta = 2\pi\tilde{\nu}d\Delta n \quad (2.7)$$

ahol $\tilde{\nu}$ a hullámszám, d a közeg vastagsága cm-ben, Δn a törésmutatók különbsége. A beesési szög meghatározza a két hullám arányát: $E_o/E_e = \tan \alpha$.

Kettőstörést előállíthatunk például optikailag izotróp közegre (pl. egy köbös kristályra) történő mechanikai erő kifejtésével is, ezek az ún. fotoelasztikus modulátorok (photoelastic modulators, PEM), ahol a mechanikai erő kifejtést kicsiny, piezoelektromos motorokkal érjük el, amelyek a kristály ellentétes oldalain helyezkednek el, ezek tipikusan 30–70 kHz-es frekvenciával rezegnek, melyek amplitudója a fáziskülönbséget adja meg.

Általában a VCD mérés során a lineáris polarizátor után egy PEM-et teszünk, ahol fáziskülönbség 45° . Az optikailag izotróp elem – leggyakrabban egy ZnSe egykristály – a piezoelektromos motor frekvenciájának megfelelően periodikusan összenyomódik, majd relaxál eredeti állapotába, ennek során kettőstörésűvé válik, azaz a fő- és melléktengelye mentén eltérő lesz a törésmutatója. Az eltérés mértéke a mechanikai hatás erősségétől



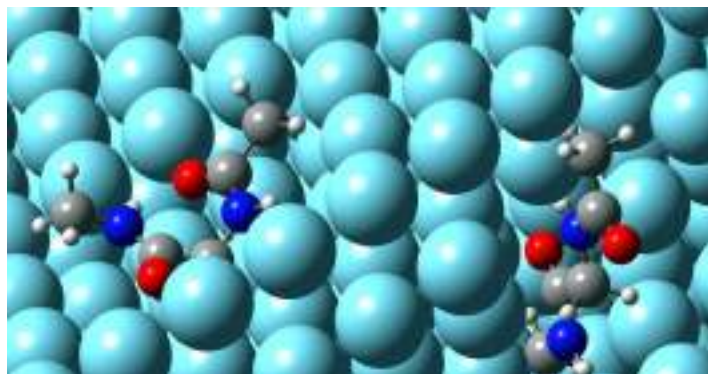
2.3. ábra. A PEM által előállított polarizált fény változása az idővel. Forrás: http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/CD_PEM.html

függ. A rajta keresztül áthaladó fény terjedési sebessége így különböző lesz e két egymásra merőleges síkban. A lineárisan polarizált belépő fényhullám felbontható két egymásra merőleges síkban terjedő, azonos fázisú hullámkomponensre. A polarizációs szűrő síkjának és a modulátor tengelyének egymáshoz viszonyított 45° -os elrendezéséből adódóan e két komponens pontosan a ZnSe kristály fő- és melléktengelyének síkjában terjed. A modulátor kristályát érő nyomás szabályozásával elérhető, hogy a két komponens fáziskülönbsége a modulátorból való kilépéskor egy adott λ hullámhosszra pontosan $\lambda/4$ legyen, aminek eredménye bal- vagy jobbirányú cirkulárisan polarizált fény. A modulátor ZnSe kristályát 50 kHz-es frekvenciával egy piezoelektromos szerkezet rezgeti, ennek hatására a fény polarizáltsága is változik az időben, a lineárisan polarizálttól a jobbra elliptikus, majd cirkuláris, újra elliptikus, majd balra elliptikus, cirkuláris, újra elliptikus állapoton át vissza a kiindulási lineárisan polarizált állapotba, és kezdődik a ciklus előlről (l. 2.3. ábra). A hullámhosszfüggés miatt a polarizált fény csak egyetlen hullámhosszon lesz tisztán cirkulárisan polarizált. A PCM egység működésének részletes, valamint a spektroszkópia gyakorlati kérdéseiről bővebb leírás Schrader monográfiájában található [23, 543-544. o.].

A lock-in amplifier, amely hozzá van hangolva a PEM frekvenciájához, a detektorból csak a számunkra fontos jeleket (azaz amikor tisztán balra, illetve jobbra cirkulárisan polarizált fény jutott át a mintán) hasznosítja és erősíti.

A laboratóriumunkban használt VCD berendezés vázlatos rajzát a 2.1. ábra mutatja be, felépítéséről és alkalmazásáról bővebben nemrégiben jelent meg egy magyar nyelvű összefoglaló [20]. Az infravörös forrásból kilépő, interferométeren áthaladó, nem polarizált sugarak hullámhosszát először egy optikai szűrő a jobb jel/zaj viszony érdekében a kívánt spektrumtartományra korlátozza. Ezután egy polarizációs szűrő – amely általában KRS-5 hordozón igen finom rétegben felvitt fémrács – lineárisan polarizálja a bejövő sugarakat. Az ebből kilépő polarizált fényből állítja elő a PEM a cirkulárisan polarizált fényt, ezután a modulátorral szinkronizált lock-in erősítő következik. Lényeges, hogy mivel a PEM elméletileg csak egyetlen hullámhosszra állít elő tökéletesen cirkulárisan polarizált fényt, a mérés előtt erre kell kalibrálni a műszert, és ezt mindig újra el kell végezni, amennyiben egy másik hullámhossz-tartományra vagyunk kíváncsiak.

2.2.2. MI berendezés



2.4. ábra. Sematikus rajz egy nemesgáz mátrixba zárt modellpeptidről

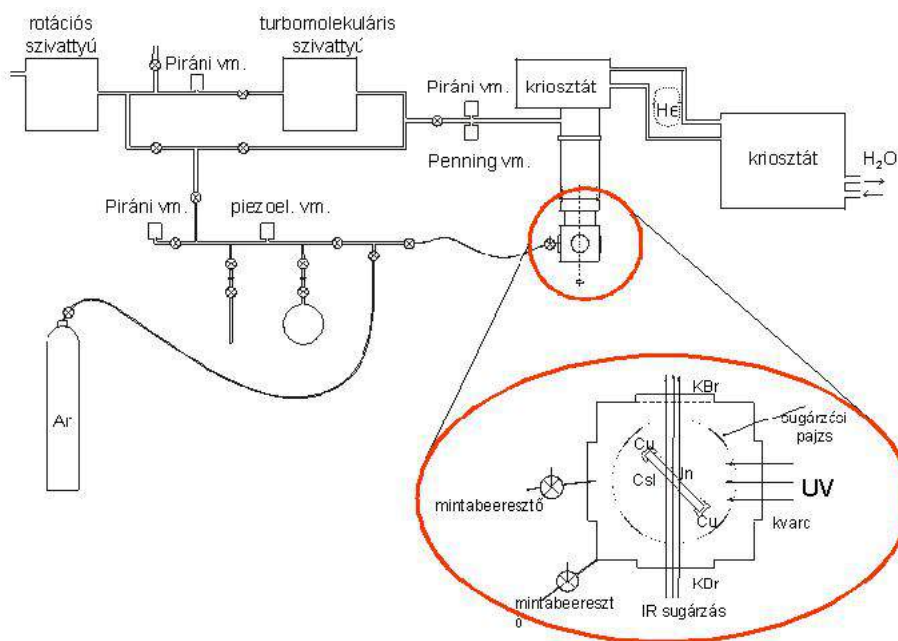
A technika gyakorlati alkalmazásánál a legfontosabb szempont a megfelelő hűtés, valamint a kellően alacsony hőmérséklet biztosítása. Ezt kezdetben, amikor szerves üvegeket használtak (az első ilyen folyadék az EPA volt, amely dietiléter, izopentán, és etilalkohol 5:5:2 arányú elegyből állt), folyékony nitrogén biztosította. Ez azonban nemesgázok esetében nem elégséges. Ebben az esetben kriosztátok segítségével érik el a megfelelő hőmérséklet (8–10 K). Az első zárt körű hűtőberendezések az 1960-as években jelentek meg, amelyek használatára mátrixizolációs mérés során 1967-ben történt [63, 6. o.]. A rendszer egyik fontos egysége a kompresszor, amely általában héliumot nyom össze kb. 20 atm-ra, majd továbbít egy másik egységbe, a hűtőfejbe (cold head, refrigerator unit). A kompresszió során keletkezett hőt víz- vagy léghűtés segítségével vonjuk ki a rendszerből. Egy kompresszor kb. két évente szorul felülvizsgálatra, He- és szűrőcserére. A hűtőfejben a He egy dugattyú segítségével áthalad a hőcserélőn, két fokozatban kitágul, illetve lehül, majd visszakerül a kompresszorba. Egy kétkörös kriosztát 8–10 K körüli hőmérséklet elérésére képes. Ahhoz, hogy He hűtőfolyadék használata esetén még ennél is alacsonyabb hőmérsékleteken mérhessünk, speciális berendezések kellenek. Ilyen például a háromkörös elrendezés, ahol egy kétkörös rendszer után a Joule-Thomson effektust használják ki, ahol a He expanziója során tovább hűl 4 K-ig.

Másik fontos részegység a nagyvákuum-rendszer, amelynek kettős feladata van: a hősigetelés, illetve annak megakadályozása, hogy a hidegpontokra a levegő nedvességtartalma kifagyjon. Ehhez 10^{-4} mbar, vagy még ennél is alacsonyabb nyomás szükséges, amelyet diffúziós vagy turbomolekuláris szivattyú segítségével érhetünk el.

A fenti körülmények között engedjük rá a hidegpontra a vizsgált anyagot kis koncentrációban (általában 1:1000–1:10000 arányban) tartalmazó gázkeveréket. Ez történhet effúziós, jetes, vagy pirolízises mintabeeresztő segítségével. Ügyelni kell a beeresztés sebességének megválasztásakor, hogy az ne legyen túl nagy, mert ez esetben a leválasztás során a mátrix anyaga lokálisan megolvadhat, amely a spektrum minőségét lerontja. További követelmény, hogy a hidegpont hőmérséklete nem lehet magasabb, mint a mátrixként

használt anyag fagyáspontjának fele – harmada. (Ar esetében ez körülbelül 16–18 K hőmérsékletet jelent.) Ekkor ugyanis a mátrix nem lesz merev, szerkezete meglazul, és megindulhat a diffúzió, amely aggregátumok, komplexek nem kívánt képződéséhez vezethet. Adott esetben pont ez vizsgálatunk célja, ilyenkor a hőmérséklet megfelelő szabályozásával tarthatjuk kézben a komplexképződést. Nem célszerű a túlságosan gyors fűtés, vagy visszahűtés, mivel ebben az esetben a mátrix az ablakról leválhat. Ügyelnünk kell arra, hogy a hőkezelt mátrix jobban szórja a fényt, emiatt az alapvonal folyamatosan változik az idő múlásával, illetve a hőmérséklet emelkedésével. Reakciókat is vizsgálhatunk, ha a mintabeeresztés során a mátrixként használt gáz mellett reagenst is bejuttatunk a rendszerbe, majd melegítéssel beindítjuk a diffúziót. Előfordulhat, hogy maga a mátrixalkotó anyag a reagens.

Hűtött felületként, amelyre a mátrix leválasztása történik, valamilyen alkáli-halogenid – például BaF_2 vagy CsI – használható. Utóbbi – amellet, hogy széles tartományban alkalmazható ($40000\text{--}250\text{ cm}^{-1}$) – nagy előnye, hogy a többi ablakhoz képest puha, és nagyon alacsony hőmérsékleten sem válik rideggé. Viszont könnyen karcolódik, tehát nagyon körültekintően kell eljárni a használata során.



2.5. ábra. A mátrixizolációs berendezés vázlatos rajza

A laboratóriumunkban jelenleg üzemelő három MI berendezés közül – amelyet munkám során használtam – a legkorábban (2003-ban) épült és vázlatos képe a 2.5. ábrán látható. (A másik két berendezésről, valamint a laboratóriumban használt műszerekről további információt a kutatócsoport honlapján – <http://msl.chem.elte.hu/muszerek.html> – lehet olvasni.) Felépítése a következő: a berendezés lelke egy kétfokozatú, zártkörös, víz-hűtéses CTI Cryogenics 22 típusú He-kriosztát, amellyel 8–9 K hőmérsékletet lehet elérni,

azaz Ne és H₂ kivételével minden egyéb mátrixképző anyag használható. (A gyakorlatban leginkább argonnal, ritkábban kriptonnal végeztem a kísérleteket.) A kriosztát hideg-ujjához indium tömítéssel keresztül spektroszkópiai ablak (kísérlettől függően CsI vagy BaF₂) vagy polírozott reflexiós felület csatlakoztatható. A hidegujjat egy, a kriosztát első köréhez szerelt, kb. 70 K hőmérsékletű, a fényutak irányában megfelelő kivágásokkal ellátott alumínium hőpajzs veszi körül. A hidegujj hőmérsékletét egy szilícium dióda méri, míg hőkezelések alkalmával az ellenállásfűtést egy Lake Shore 321 típusú termosztát szabályozza. A hidegujjat és a hőpajzsot egy, a kutatócsoport által módosított Janis CCS-350R típusú forgatható optikai mérőfej foglalja magába és zárja el a nagyvákuumteret a külső környezettől. A fejen ablakok (IR spektroszkópiai mérésekhez KBr, Raman és UV-látható mérésekhez, valamint a fotolízishez pedig kvarc) és egy vagy két (akár anyagok együttes leválasztására is alkalmas) mintabeeresztő rendszer található. A nagyvákuumot egy rotációs és egy turbómolekuláris szivattyú biztosítja.

Kellően nagy tenziójú (szobahőmérsékleten $p \geq 1$ mbar) minta (vagy prekursor) és az Ar megfelelő (1:500–1:1000) arányú elegyének elkészítésére egy üveg és egy rozsdamentes acél vákuum line áll rendelkezésre. Az előkevert minták beeresztése és leválasztása egy elektronikus vezérlésű áramlásszabályzón keresztül történik. A tipikus beeresztési sebesség 1–3 mmol/h, ami – mintától és kísérlettől függően – 2–20 órás mátrixleválasztási időt eredményez. Kevésbé illékony szilárd minták vizsgálatához egy kb. 300 °C-ig fűthető Knudsen-effúziós mintabeeresztő használható. Ebben az esetben az argon áramlási sebességét a szokásos 1–3 mmol/h értékre állítjuk be, a megfelelő minta:mátrix:gáz arány pedig a cella hőmérsékletével szabályozható. A minta és az argon a cella és a mátrixablak között keveredik el, amelyet speciálisan kialakított áramlási csatornák, valamint egy terelő teflonkúp segít elő.

IR spektrumok felvételéhez a mátrixizolációs berendezést egy Bruker IFS 55 típusú FT-IR spektrométerhez illeszthetjük. (Amennyiben a mátrixablak 45°-os szöget zár be az IR fényútra, akkor a mintabeeresztő a fényútra merőlegesen irányítható az ablakra. Ebben az esetben a leválasztást folyamatosan lehet követni, 90°-os elrendezésnél a leválasztás és a mérés szakaszosan történik.) Az MI-VCD mérésekhez a mátrixizolációs berendezés egy Equinox 55 FT-IR spektrométerből és az ehhez kapcsolódó Bruker PMA 37 egységből álló VCD spektrométerhez illeszthető. A mátrixizolációs VCD mérések nehézségét az adja, hogy inhomogén mátrix, sérült, feszülő vagy nem a sugárútra párhuzamosan álló ablakok polarizációt okozhatnak, ami artifaktumok megjelenését eredményezheti a spektrumokban. Annak érdekében, hogy ezeket a problémákat kiküszöböljük, ezeknél a méréseknél lassú leválasztási sebességet alkalmazunk, kizárólag 90°-os mátrixablak – fényút elrendezést, és – lehetőség szerint – CsI helyett kevésbé karcolódó, keményebb BaF₂ ablakot. Lehetőség van mátrixizolációs Raman, valamint UV-VIS spektrumok felvételére is. Erre a célra egy a Bruker IFS 55 spektrométerhez csatolt Raman FRA-106/S egység, illetve egy Varian Cary 3E UV-VIS spektrométer alkalmazható. A berendezés

felépítésével kutatócsoportunk egy korábban megjelent munkája is foglalkozik [39]

A mátrixizolációs technika gyakorlatáról többet az Andrews és Moskovits által írt monográfiában lehet olvasni [63].

2.2.3. Kísérleti körülmények

2.2.3.1. Mintaelőkészítés

Az Ac- β^3 -HPro-NHMe előállítását az együttműködő kollégák végezték. Arndt-Eistert szintézissel Boc- α -L-Pro-OH-ból (Bachem termék) állították elő. A szintézis, a kapott termék tisztításának és analízisének részleteit l. korábbi munkánkban [3]. Az (*S*)-(-) és (*R*)-(+)-2-klórpropionsavat (Aldrich, > 99%) oldatfázisú mérésekhez további tisztítás nélkül, mátrixizolációs mérések előtt – az illékony szennyezők eltávolítása végett – vákuumbepárlással tisztítottam.

A mátrixizolációs kísérletek során az Ac- β^3 -HPro-NHMe-ot egy fűthető effúziós Knudsen-cella segítségével juttattam a mintatérbe. A 2-klórpropionsavat egy tefloncsappal ellátott üveg mintatartóba helyeztem, amelyet közvetlenül a mátrixizolációs berendezés mintabeeresztő része elé szereltem. A beeresztés során a minta hőmérséklete Ac- β^3 -HPro-NHMe esetén 345, a 2-klórpropionsav esetén 273 K volt, ez a lehető leggyorsabb beeresztési sebességet tette lehetővé anélkül, hogy a minta dimerizálódjon, és spektrumban jelei láthatóvá váljanak. A beeresztés során az elpárolgott minta az Ac- β^3 -HPro-NHMe esetén Ar (Messer, 99,9997%) illetve Kr (Messer, 99,998%) mátrixalkotó gázzal a 2-klórpropionsav esetén Ar, illetve Ar – CHCl₃ keverékkel együtt fagyott ki egy 8 K hőmérsékletű BaF₂ vagy CsI ablakra (a 2-klórpropionsav esetén csak utóbbira). A gázáram 0,07 mmol·min⁻¹ volt. Annak érdekében, hogy a spektrumban megjelenő artifaktumokat minimalizáljam, a mérés során az ablak merőlegesen állt a fényútra, illetve a mintabeeresztés során annak irányára. A leválasztás ideje 5–7 óra volt, ekkor a legintenzívebb elnyelésre $A \approx 0,7$ – $0,8$ volt.

2.2.3.2. Spektrumfelvétel

Az MI-IR spektrumokat egy Bruker Equinox 55, illetve egy Bruker IFS 55 FT-IR spektrométer segítségével (Ac- β^3 -HPro-NHMe esetén csak utóbbival) 1200–1900 cm⁻¹, illetve 400–4000 cm⁻¹ spektrális tartományban vettem fel, a jelek detektálását MCT higanykadmium-tellurid (mercury-cadmium-telluride, MCT), illetve DTGS detektor végezte, 2, illetve 1 cm⁻¹ felbontással (1000, illetve 500 scan). A spektrumok alapvonal-korrigáltak.

A VCD mérésekhez egy PMA37 VCD modullal kiegészített Bruker Equinox 55 FT-IR spektrométer állt rendelkezésre, a jelek detektálását MCT detektor végezte. A műszer a cirkulárisan polarizált fényt egy KRS-5 polarizációs szűrő, és egy ZnSe fotoelasztikus modulátor segítségével állította elő. Kalibrációhoz egy dikroikus CdS kristályt használtam.

Az MI-VCD spektrumot az 1200–1900 cm^{-1} tartományban vettem fel 2 cm^{-1} -es felbontással (7 óra, 13783 scan, a 2-klórpropionsav esetén 6 óra, 11817 scan). Az oldatfázisú mérések során Ac- β^3 -HPro-NHMe trideutero-acetonitriles (ACN- d_3), hexadeutero-dimetil-szulfidos (DMSO- d_6) és diklór-metános oldatát vettük fel 10 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációban, 0,207 mm-es BaF₂ küvettában. A 2-klórpropionsav esetén annak CHCl₃, illetve CCl₄ oldatát vettem fel, 0,2, illetve 1,0 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációban, 1 mm-es CaF₂, illetve 0,2 mm-es BaF₂ küvettában. A mérések az Ac- β^3 -HPro-NHMe esetén 7, a 2-klórpropionsav esetén 6 órán keresztül zajlottak, 4 cm^{-1} -es felbontással (24524, illetve 21022 scan). A kapott spektrumot az oldószer spektrumával korrigáltam.

2.2.4. Számítások háttere

2.2.4.1. Geometriai optimálás

Az α - és β -peptidmodellek (FmAANHMe, ahol AA az aminosavat jelöli, ez lehet Asn, Asp, Cys, Val) előzetes geometriai optimálását a Gaussian programcsomag [52] segítségével B3LYP/6-31G* bázison végeztem el. A számítások az egyes peptidmodellek energiaminimumainak (konformereinek) megkeresésével kezdődtek, és B3LYP/6-31G* bázison zajlottak. Ennek során a kezdeti geometria egy tetszőlegesen felvett α - ($\varphi = -60^\circ$, $\psi = -40^\circ$), illetve β -peptidmodell volt ($\varphi = 180^\circ$, $\psi = 180^\circ$), amelyek geometria optimálását követően az oldallánc következett. Az aminosavak legfontosabb torziós szögeinek jelölései a 4.1. ábrán láthatók. Ekkor a peptidmodell φ és ψ torziós szögeit változtatlanul hagytam, míg az oldallánc χ_1 és χ_2 (illetve χ_3 az FmAspNHMe és FmAsnNHMe molekuláknál) torziós szögeit egyenként 30 fokos szöggel elforgatva egy potenciális energia felületet kaptam, amelynek segítségével meg lehetett határozni az egyes minimumok hozzávetőleges helyét. Ezeknek a minimumoknak a teljes (azaz a φ és ψ torziós szögeit is figyelembe vevő) geometriai optimálásával kaptam meg az egyes konformereket. A talált minimumok optimalizálása PQS szoftverrel történt [53].

Ac- β^3 -HPro-NHMe geometriai optimálását Gaussian programcsomaggal, néhány kémiai intuíció alapján kiválasztott kezdeti szerkezettel hajtottam végre. A legalacsonyabb energiájú konformerből kiindulva, a peptid ψ és μ torziós szögeit (a molekula sematikus ábráját l. 5. fejezet, 5.1. ábra) 60°-os közönként változtatva egy scant hajtottam végre, a kapott 2 dimenziós felület minimumai jó kiindulási geometriák voltak a konformerek meghatározásához. Ezt az N-terminális amidcsoportjának *transz* ($\omega = 180^\circ$), a *cisz* ($\omega = 0^\circ$) állású és a gyűrű két pucker-pár [64] („le”: $\chi_1 > 0^\circ$, illetve „fel”: $\chi_1 < 0^\circ$) β -peptid mindegyik kombinációjára elvégeztem (azaz *transz*-le, *transz*-fel, *cisz*-le és *cisz*-fel. A φ torziós szöget nem vizsgáltam, mivel az a merev pirrolidin gyűrű miatt nem tér el egymástól egyik konformernél sem. A C-terminális amidcsoport *cisz* állása nagyon magas energiájú konformereket eredményezett, így azokat nem vettem figyelembe. A kapott energiafelület minimumait PQS-ben B3LYP/6-31G* bázison, majd az kapott

szerkezeteket nagyobb, B3LYP/6-31++G** bázison optimaltam.

A klórpropionsav monomer konformációs sajátságai feltérképezése céljából a Cl-C-C=O torziós szög mentén hajtottam végre egy scant, mind a *cisz*, mind a *transz* karbonsavra. Az alkalmazott bázis B3LYP/6-31G* volt. A potenciálfelület minimumpontjait – mint kezdeti geometriákat – további geometriai optimalásnak vettem alá nagyobb B3LYP/6-31++G**, illetve aug-cc-pVTZ bázison is. Utóbbi kettőnél az IR és VCD frekvenciák számítása is megtörtént. A dimerek és komplexek geometriai optimalása a következő módon történt: a kapott klórpropionsav monomer összes lehetséges kötőhelyéhez (azaz az O–H és C–H H-donor, illetve C=O és C–Cl H-akceptor) egy másik monomert vagy egy kloroform molekulát helyeztem el, több pozícióban is. Annak érdekében, hogy a gyengén kötő kloroformos komplexek geometriáját ellenőrizzük, a kapott eredményeket összevetettük MP2 elméleti szinten elvégzett számításokkal is.

2.2.4.2. Számított spektrumok, konformereloszlás, átmeneti állapotok

A geometriai optimalizálás után következett a kapott minimumok rezgési frekvenciáinak, IR intenzitásainak, rotátorerősségeinek és ezek robusztusságainak, továbbá termodinamikai tulajdonságaik számítása 298 K hőmérsékleten, a PQS program segítségével. A számítások FmAANHMe molekulákra szintén B3LYP/6-31G* bázison történtek, az FmValNHMe esetén B3LYP/6-31++G** és B3LYP/aug-cc-pVTZ bázisokon is megismételttem. A kísérleti eredményekkel való jobb egyezés érdekében a frekvenciák skálázását SQM erőter [65] segítségével végeztem el, 6-31G* bázison Baker és munkatársai [66], míg 6-31++G** és aug-cc-pVTZ bázison Fábri és munkatársai által meghatározott skálafaktorokat használva [22]. A spektrumok szimulációjához a már skálázott rezgési frekvenciákra 3 cm^{-1} félértékszélességű Lorentz-görbékét illesztettem. A kapott VCD jelek megbízhatóságát az általunk bevezetett robusztusság-definíció [1] segítségével becsültem.

Annak érdekében, hogy a Ac- β^3 -HPro-NHMe konformerek eloszlását becsülni tudjam, a mátrixizolációs kísérlet beeresztési, valamint az oldószeres mérés hőmérsékletén (340, illetve 298 K) PQS-ben B3LYP/6-311++G** bázison számítottam a konformerek Gibbs-féle szabadentalpiáit, illetve ezek alapján a Boltzmann-faktorokat. Az IR és VCD spektrumok számításához szükséges harmonikus rezgési frekvenciákat, IR intenzitásokat és VCD rotátorerősségeket B3LYP/6-31++G** bázison számítottam. A robusztusság számítása és a skálázás menete azonos volt a peptidmodelleknél leírtakkal. Annak érdekében, hogy az oldószeres molekulaszervezetre gyakorolt hatását figyelembe vehessük, a számításokat megismételtük B3LYP/6-31++G** bázison IEF-PCM oldószermodell [67] segítségével is. Az oldószeres (ACN, DMSO, DCM) paraméterei a Gaussian programban található alapértelmezett értékek voltak. A kapott rezgési frekvenciákat egy egységes 0,99-es faktorról skáláztam, a spektrum szimulációjához a skálázott rezgési frekvenciákra 10 cm^{-1} félértékszélességű Lorentz-görbékét illesztettem. A konformerek közti átmeneti állapotok és ezek energiájának meghatározását a Gaussian programcsomagban található STQN

(Synchronous Transit-Guided Quasi-Newton) [68, 69] módszer segítségével határoztam meg B3LYP/6-31++G** bázison.

A 2-klórpropionsav esetén az előzetesen optimált szerkezetek rezgéseinek frekvenciáit, IR intenzitásait, VCD rotátorerősségeit, illetve ezek robusztusságait B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison számítottam ki. A skálázás, illetve a robusztusság becslése a korábban leírtakkal azonos módon ment végbe. A konformereloszlás becsléséhez Boltzmann-faktorokat számítottam ki, amihez a 0, illetve 298 K hőmérsékleten számolt szabadentalpiakülönbségeket vettem. Az oldószeres mérések szimulálása végett a geometriai optimálást és a spektrum számításokat oldószermodell (IEF-PCM) használatával is elvégeztem, B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

3. fejezet

Robusztusság új definíciója [1]

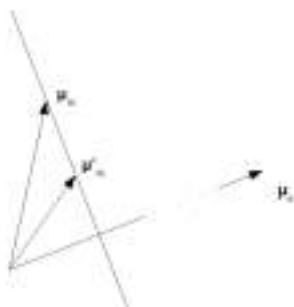
3.1. Robusztusság új definíciójának elmélete

Korábban (l. 2.1.1. fejezet) már szó esett arról, hogy a mágneses átmeneti dipólmomentum vektor nem mértékinvariáns, így az elektromos átmeneti dipólmomentum vektorral bezárt szöge – azaz ξ_k – sem lesz az, azonban skalárszorzatuk (a rotátorerősség, azaz R) igen (l. 2.1.1. fejezet). Ez azt jelenti, hogy az origó megválasztásától függően a mágneses átmeneti dipólmomentum irányultsága nagymértékben változhat, Stephens munkája alapján [70] \mathbf{Y} eltolás esetén a következő:

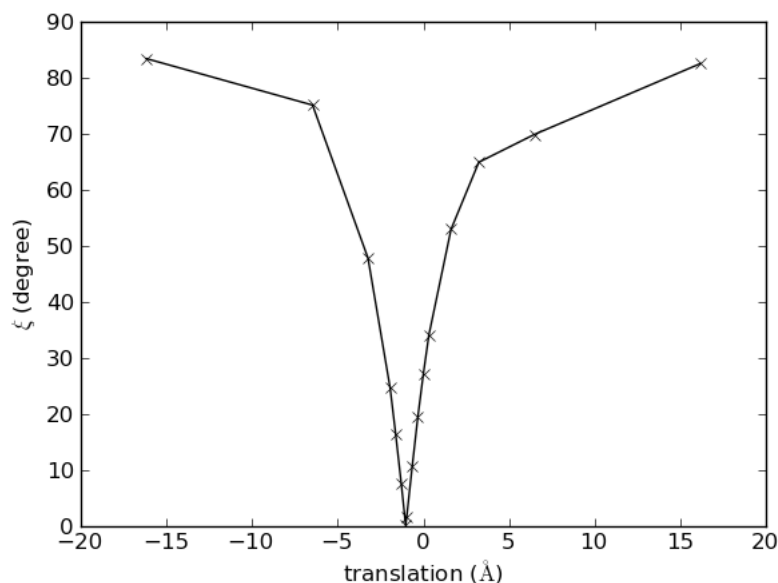
$$\boldsymbol{\mu}'_m(b \rightarrow a) - \boldsymbol{\mu}_m(b \rightarrow a) = \frac{1}{2c} \mathbf{Y} \times \boldsymbol{\mu}_e(a \rightarrow b) \quad (3.1)$$

azonban – a 3.1. ábrán láthatókkal összhangban – az elektromos tagra eső vetülete ugyanaz marad. Ez azt jelenti, hogy mindig tudunk választani egy olyan koordináta-rendszert, amelyben $\xi_k \sim 90^\circ$ lesz, amennyiben az origó elég messze van az adott rezgési módustól. Ezt a mértékfüggést a rotátorerősségek kiszámításához használt GIAO molekulapályák használata sem szünteti meg.

Könnyen belátható továbbá, hogy ugyanabban a molekulában található két megegyező



3.1. ábra. A mágnesesnek az elektromos átmeneti dipólmomentum vektorra eső vetülete.



3.2. ábra. Az R-metil-oxirán ν_{23} rezgési módusának elektromos és mágneses átmeneti dipólmomentumai által bezárt szög változása a molekula tömegközéppontjának a koordináta-rendszer origójához képest történő eltolása esetén.

rezgési módus – amennyiben egymástól térben elég távol vannak – rotátorerőssége azonos kémiai környezetben azonos lesz, de a két dipólmomentum vektor által bezárt szög – mivel nem mértékinvariánsak – nem lesz az. Ez a különbség kizárólag abból ered, hogy az origótól a két azonos csoport eltérő távolságra van, így ξ_k (l. 2.4. egyenlet) a robusztusság becslésére nem alkalmas [1]. Ennek bemutatására a legegyszerűbb módszer, ha megvizsgáljuk a szög változását egy királis molekula origótól való távolságának függvényében. A 3.2. ábra az R-metil-oxirán ν_{23} rezgési módus elektromos és mágneses dipólmomentumok által bezárt szög változását mutatja be a molekula tömegközéppontjának origótól való távolságának függvényében (az elmozdulás iránya a két átmeneti momentumra merőleges volt, $R = 27 \times 10^{-44} \text{ esu}^2 \cdot \text{cm}^2$).

A robusztusság eredeti definíciójából is levonható a következtetés, miszerint nagy rotátorerősségű rezgési módusok is előjelet válthatnak, amennyiben nem robusztusak. Ennek oka általában az, hogy a mágneses átmeneti dipólmomentum vektor kicsi így a számítási nehézségek miatt nagysága és iránya bizonytalan, továbbá függ a koordináta-rendszer megválasztásától is. Továbbá az elektromos taghoz képest a legtöbb esetben néhány nagyságrenddel kisebb, így az arra eső vetülete ($|\mu_{m,k}| \cos \xi_k$, l. 2.4. egyenlet) is bizonytalan lesz. Ha ez közel van a nullához, elképzelhető, hogy perturbáció hatására hasonlóan kicsi, de ellentétes irányú lesz. De még ha ez kicsiny érték is, amennyiben az elektromos átmeneti dipólmomentum vektor elegendően nagy, a rotátorerősség nagy lesz – de ellenkező előjellel. A két vektor által bezárt szög ad bizonyos információt arról, hogy adott rezgési módus esetén számíthatunk-e az előjel megváltozására, de a koordináta-rendszer középpontjától

való függése miatt mégsem alkalmazható robusztusság becslésére. Ugyanis amennyiben $\xi_k \sim 90^\circ$, az azt jelenti, hogy $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k \sim 0$, azaz az adott rezgési módus nem robusztus. Viszont ezt az eredményt akkor is megkaphatjuk, ha az adott rezgési módust kellően távol helyezzük el koordinátarendszerünk középpontjától. Másik probléma, hogy ha ξ_k kellően távol esik 90° -tól (pl. az adott rezgési módust az origó közelébe helyezzük), attól még lehet egy az a rezgési módus nem-robusztus, amennyiben $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k \sim 0$.

Ennek kiküszöbölésére érdemes a robusztusság egy új definícióját bevezetni, amely mértékinvariáns. Kutatócsoportunk egy k . rezgési módus robusztusságának (ζ_k) az elektromos átmeneti dipólvektor, illetve a mágneses átmeneti dipólvektor rá eső vetületének hányadosaként definiálta [1] ($|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k$). Ezt – mivel a mágneses dipólvektor nagyságát a harmonikus közelítés miatt nem tudjuk elég pontosan meghatározni – a rotátorerősség és a dipólerősség arányával becsülhetjük:

$$\zeta_k = |\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k = \frac{|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| |\boldsymbol{\mu}_{e,k}| \cos \xi_k}{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|} = \frac{R_k}{\sqrt{D_k}} \quad (3.2)$$

amely Kuhn aszimmetria faktorával mutat hasonlóságot [71]:

$$\zeta'_k = \frac{|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k}{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|} = \frac{R_k}{D_k} \quad (3.3)$$

Mind a számlálóban, mind a nevezőben szereplő mennyiségek mértékinvariánsak, azaz hányadosuk is az lesz, amely egy nagyon kicsi, dimenzió nélküli szám lesz, jellemzően ppm nagyságrendben. Az elektromos átmeneti dipólmomentum vektor nagysága az esetek többségében néhány nagyságrenddel nagyobb a mágnesesnél, így a perturbációk annak irányát nem nagyon változtatják meg. Ezzel szemben a mágneses átmeneti dipólvektor nagysága és iránya is nagymértékben változhat perturbációk hatására, így annak az elektromos átmeneti dipólmomentum vektorra eső vetülete is, tehát ez utóbbi határozza meg egy adott rezgési módus robusztusságát. Így ha ez nulla közeli érték, akkor külső körülmények hatására nagy valószínűséggel iránya is megfordul, azaz a rotátorerősség előjelet vált. Érdemes megjegyezni, hogy ez utóbbi kis értéke – azaz ha a vizsgált jelünk egy nem-robusztus rezgési módus – nem feltétlen jelenti a rotátorerősség kicsiny voltát, ha az elektromos átmeneti dipólmomentum abszolútértéke elég nagy. A robusztusság e definíciójánál is megadható egy küszöbérték, amely felett egy adott rezgési módus robusztusnak tekinthető, esetünkben $|\zeta_k| > 10$ ppm. Ha egy molekulának több konformere van, érdemes a számított értékek átlagát és szórásukat is figyelembe venni, azaz

$$|\overline{\zeta}_k \pm s| > |10| \quad (3.4)$$

mivel így van egy becslésünk az adott bázison a rotátorerősségek molekulageometriától való függésére is. Ezt alátámasztja De Gussem et al munkája is, ahol a robusztusság alkalmazhatóságát egy flexibilis molekulán vizsgálták és azt találták, hogy a legtöbb rezgési

módus robusztussága geometriától függően nagy változatosságot mutat, a legtöbb esetben a konformerek egy részére az adott módus nem robusztus [72]. Végül következtetésük az volt, hogy ha egy molekulának sok konformere van, és azokból nem túl soknak nem-robusztus az adott rezgési módusa, attól még az a módus összességében robusztusnak tekinthető.

3.2. Eredmények

A robusztusság koncepciójának egyik első eredménye a pulegon kloroformos oldata [61] VCD spektrumának magyarázata volt [73]. Ebben a molekula C=O nyújtási rezgésének rotátorerősségei számítása nehézségekbe ütközött, mivel különböző elméleti szinteken eltérő eredményeket kaptak a módus nem-robusztus volta miatt. Ezt pulegon monomerek, illetve CDCl_3 komplexeire PQS-ben történt számításokkal alátámasztottam: OLYP/TZP bázison $\zeta_k = 1,8$ ppm, azaz az adott rezgési módus két átmeneti dipólmomentum vektor egymásra eső vetülete kicsi, ami azt jelenti, hogy akár már kis perturbáció esetén ellenkező irányú lehet, azaz a rotátorerősség előjelet vált. A többi rezgési módus rotátorerőssége vagy túl kicsi volt, vagy nem volt robusztus, ennek ellenére több sáv előjele megegyezett a kísérleti előjelekkel. A deuterokloroformos komplexeknél a C=O, illetve a C–D nyújtási rezgésekre végeredményül azt kaptam, hogy egyik sem robusztus, amelyet a kísérleti eredmények is alátámasztottak.

Ez általánosságban elmondható a későbbi fejezetekben részletesen bemutatott eredményekről is (FmAANHMe l. 4. fejezet, Ac- β homo-Pro-NHMe l. 5. fejezet, 2-klórpropionsav l. 6. fejezet), amelyek során az általunk bevezetett definíció segítségével vizsgáltam a molekulák rezgési módusainak robusztusságát. Ennek során kiderült, hogy azoknak a rezgési módusoknak az előjele, amelyek robusztusak, jó egyezést mutatnak a kísérleti úton kapottakkal, ezeket figyelembe véve a számított és a kísérleti spektrum nagyfokú hasonlóságot mutat. Ezzel szemben azoknak a rezgési módusoknak – C=O, C–Cl, C–O nyújtás –, amelyeknek robusztussága kicsi, nem minden esetben volt ugyanaz az előjele, mint a kísérletileg kapott jeleknek.

Összefoglalva a robusztusság alkalmazása – azáltal, hogy megmutatja melyik számított rezgési módusok előjeleiben bízhatunk meg – nagymértékben segíti a VCD spektrumok asszignálását. A két – elektromos és mágneses – elektromos dipólmomentum vektor által bezárt szög nem mértékinvariáns, így a robusztusság becslésére nem alkalmas. Ezzel ellentétben a mágneses átmeneti dipólmomentum vektor elektromosra eső vetülete pontosan becsülelhető, mértékinvariáns, így jól becsüli egy adott rezgési módus robusztusságát. Amennyiben ez az érték 10 ppm alatt van, úgy az adott rezgési módustról nagy valószínűséggel kijelenthető, hogy nem robusztus, így az asszignálás során előjelét nem, illetve csak nagy körültekintéssel szabad figyelembe venni. Általánosságban elmondható, hogy a rezgési módusok többsége a molekulák többségében robusztus.

4. fejezet

Peptidmodellek vizsgálata [2]

4.1. Bevezetés

A fehérjék és peptidek szerkezetének minél pontosabb megismerése alapvető fontosságú biológiai funkciójuk megértéséhez. Nagyobb fehérjék szerkezetének teljes felderítése azonban nagy kihívás, amelyhez csak kevés gyakorlati módszert hívhatunk segítségül. A kevés módszer egyike a röntgendiffrakció, valamint a többdimenziós NMR spektroszkópia, amelyeket kvantumkémiailag számítások egészíthetnek ki. A folyamat – melynek során a szerkezetet meghatározzuk –, igen összetett feladatot jelent, amelyet nagymértékben leegyszerűsíthetünk, ha nem a teljes fehérjét tekintjük, hanem annak csak bizonyos részeit, a doméneket. Egy hasonló, de már ismert szerkezetű fehérjével összevetve addig ismeretlen szerkezetű fehérjék térbeli elrendeződése könnyebb meghatározható – amennyiben hasonló domének fordulnak elő az ismert és az ismeretlen fehérjében, úgy joggal feltételezhetjük, hogy bizonyos hasonlóságok lesznek térszerkezetükben is. A szerkezet ismeretében a fehérjék funkciójáról is következtetéseket lehet levonni a későbbiekben. Feladatunk tovább egyszerűsödik, ha a vizsgált molekula azon legkisebb alkotórészének konformációs viszonyait térképezzük fel, amely még alapvetően meghatározza a fehérje szerkezetét. Ezért állnak az érdeklődés középpontjában az ún. peptidmodellek, melyek általában néhány aminosavból álló oligopeptidek két terminálisán védett származékai.

Kis peptidek térszerkezetének meghatározásához gyakran különböző spektroszkópai módszereket használnak (NMR, mikrohullámú, lézer-, UV-VIS és IR spektroszkópia). Ezek közül az NMR spektroszkópia hátránya – ha a vizsgált molekulánk flexibilis –, hogy csak a molekula különböző konformerei által adott jelek időbeli átlagát észleljük, mivel az NMR mérés időtartama lényegesen nagyobb, mint egy flexibilis molekula egyik konformeréből a másikba alakulásához szükséges idő. Ha a molekulánk vizsgálatához a gázfázisú lézerspektroszkópai módszereket hívjuk segítségül, szükségünk van kromofór, illetve aromás csoportok használatára – mint amilyen az N-terminálist védő benziloxikarbonilcsoport – vagy, hogy a vizsgált peptidünk aromás oldallánccal rendelkező aminosavat

tartalmazzon (fenilalanin, tirozin, triptofán). Oldatfázisú UV spektroszkópia használata esetén a rossz felbontás miatt az elnyelések általában széles sávként jelentkeznek, ez megakadályozza, hogy a konformerek jelei egymástól megkülönböztethetők legyenek. Ezzel szemben az IR (illetve Raman) spektroszkópia használatával a felsorolt problémák nagy részét kiküszöbölhetjük: nincs szükség kromofór csoportokra, és a spektrumban egyenként megtalálhatók a különböző konformerek jelei. Így kis peptidek vagy peptidmodellek térszerkezetének meghatározására jól bevált módszer, amelyet leggyakrabban az amid-I és -II sávok vizsgálatával végeznek el [74–76]. Azonban a molekula különböző részein található amidcsoportok, valamint a különböző konformerek elnyelései egymástól nem térnek el jelentősen és a felbontás oldatfázisban – amelyben a polipeptideket a legtöbb esetben mérik – nem elég nagy ahhoz, hogy egymástól meg lehessen különböztetni azokat. Egy megoldás erre a problémára a különböző dekonvolúciós technikák használata, mint amilyen a Fourier-dekonvolúció (FSD) is [74]. A legnagyobb fellépő probléma, hogy a különböző másodlagos szerkezetekhez köthető frekvenciák nem egyediek, és nagymértékben változhatnak például az oldószer hatására [77], így azok bizonyos szórást mutatnak. Továbbá ezek a módszerek feltételezik, hogy az amid-I dipólerősségek azonosak, ami a gyakorlatban nem állja meg a helyét [75, 77].

A VCD spektroszkópiát már kezdetektől fogva használták aminosavak, peptidek és fehérjék konformációs sajátságainak feltérképezésére [78–84]. Az ECD spektroszkópia gyakorlatához hasonlóan a VCD esetében is a spektrumokból empirikus megfigyelések alapján lehetett következtetni a nagyobb peptidek szerkezetére. Régóta ismert [85], hogy az α -hélixek esetén az amid-I sáv jellegzetes pozitív couplet szerkezetet mutat (egy pozitív és egy negatív jel az alacsonyabb frekvenciák felől nézve), amelynél a pozitív jel gyengébb a negatív erős, az amid-II sáv erős negatív jelet ad. Ezzel szemben β -redők vizsgálatakor az amid-I sáv negatív couplet [86], az erősebb negatív mellett egy nagyon gyenge pozitív jelet kapunk. A β -redők VCD spektrumában az amid-II széles, gyenge negatív jelként jelenik meg [87]. Spektrumuk értelmezését megnehezíti, hogy a másodlagos szerkezetük sokkal változatosabb: az egyes láncok hossza, a különböző láncok közti kölcsönhatások a különböző “kanyarok” és “hurkok” jelenléte mind erősen befolyásolja a kísérletileg kapott eredményeket.

Egyéb másodlagos szerkezettel rendelkező polipeptidek VCD spektruma is jellegzetes sávokat mutat, a 3_{10} -hélix amid-I sávja – az α -hélixhez hasonlóan – pozitív couplet, azonban annál sokkal gyengébb jelet ad [88–91], továbbá Pro-II hélixek spektruma is jellegzetes szerkezettel rendelkezik: az amid-I sáv egy negatív couplet, ahol a sávok a β -redőhöz képest sokkal nagyobb jelet adnak [85]. Vizsgáltak β - [92] és γ -kanyart [93–95] tartalmazó peptideket is. Különböző másodlagos szerkezettel rendelkező peptidek VCD spektrumáról Keiderling és Schweitzer-Stenner írt összefoglaló jellegű munkákat, [87, 96, 97] ennél kevésbé általános Vass és munkatársainak összefoglalója [98], amely kizárólag a β - és γ -kanyart tartalmazó peptidek vizsgálatával foglalkozik. Az utóbbi munkákban leírt ered-

mények közül érdemes kiemelni, hogy a VCD spektroszkópia képes a különböző típusú (Type-I, -II- és -III) β -kanyarok megkülönböztetésére is.

Az ECD spektroszkópiával ellentétben a VCD spektrumok számítása jóval megbízhatóbb, így az empirikus összefüggések mellett számos tanulmány is foglalkozik a VCD spektrum és a szerkezet összefüggéseinek tanulmányozásával. A VCD spektrumok kvantumkémiai számítását a magnetic field perturbation (MFP) [70] elmélet alkalmazása tette lehetővé nem túl nagy molekulákra. Kezdetben kisebb modellrendszereket használtak, mint olyan dipeptideket, amelyek φ és ψ torziós szögei az α -, Pro-II és 3_{10} -hélix, β -redő másodlagos szerkezetű polipeptidekével egyezett meg [99]. Vizsgálták az α - és a 3_{10} -hélix spektruma közti különbségeket is [100–102], illetve a β - [103] és γ -kanyarok [104] VCD spektrumát is, amelynek során megállapították, hogy az amid-II sávok vizsgálatával a különböző geometriával rendelkező kanyarok megkülönböztethetők [105]. Nagyobb rendszerek, mint pl. a β -redő paralel, illetve antiparalel láncait kezdetben a Force Field (FF) módszer [102] segítségével vizsgálták, mind megkötött φ és ψ torziós szögek [106, 107] esetén mind teljesen optimált szerkezetekre [108]. Az elmúlt évtizedben a számítási kapacitás növekedésével nagyobb oligopeptidek ab initio számítása is lehetővé vált [109–111], ezen belül izotópjelölt származékokat [107, 112, 113], illetve különböző oldószermodellek hatását is vizsgálták [114–117]. Egy egészen új eredmény ezen a téren Schweitzer-Stenner munkája, ahol paralel és antiparalel β -redők IR és VCD spektrumát hasonlította össze [118]. Nagyobb peptidek VCD spektrumának szimulálására újabban a Choi és munkatársai által kifejlesztett GFM (generalized fragmentation method) módszer is használható [119, 120]. Mind a kísérleti, mind a számított eredmények egyik nagyon fontos tanulsága a polipeptidek VCD spektrumának erőteljes függése a peptid hosszától.

Mivel a peptid részegységeinek VCD jelét csak közvetlen környezetük határozza meg, elméletileg a különböző β - és γ -turn szerkezetek is karakterisztikus jellel rendelkeznek, néhány munka elég jó egyezést talált az ab initio módszerek segítségével számoltakkal [91, 121]. Azonban a β -redő másodlagos szerkezettel rendelkező oligopeptidekre történt számolások azt mutatják, hogy a számított spektrumok – összevetve a kísérleti eredményekkel – sokkal kisebb egyezést mutatnak, mint a különböző hélixek esetén. Ennek egyik lehetséges oka az ilyen típusú oligopeptidek – már említett – azon tulajdonsága, hogy a szerkezetük kevésbé jól definiált (láncok hossza, az egyes láncok közti kölcsönhatás, “turn” és “loop” jelenléte, “twist” mértéke [106]), másik, hogy a VCD jelek nem robusztusak, rendkívül érzékenyek már a konformáció legkisebb változására is.

4.2. Célok

A fejezetben peptidmodellek másodlagos szerkezetének a VCD spektrumra – ezen belül is az amid-I, -II és -III sáv frekvenciájára, rotátorerősségére és robusztusságára – gyakorolt hatását vizsgáltam kvantumkémiai módszerek segítségével.

A munka során célom egyrészt annak kiderítése volt, hogy észlelhetők-e az α és β szerkezetek VCD spektrumára jellemző coupletek, másrészt peptidmodellek VCD jeleinek különböző körülményektől való függésének vizsgálata volt. Ezek az alábbiak voltak: (i) számítások bázisfüggése: észlelhető-e szisztematikus eltérés a számítások eredményében (rotátorerősség, robusztusság) a számításhoz használt bázis növelésével? (ii) A gerinckonformáció rezgései VCD jelének oldalkonformációtól való függése. Kimutatható-e valamilyen trend és ha igen, milyen jellegű? (iii) Léteznek-e robusztus módusok, ezeket befolyásolja-e az oldallánc és ha igen, hogyan? (iv) A peptidmodell oligomerjeinek vizsgálata: növekszik-e a robusztusság a tagszám növelésével? Utóbbi vizsgálat elvégzését az az eredmény indokolja, miszerint védett aminosavak vizsgálatánál az volt a tapasztalat, hogy – különösen a β -modellpeptidek esetén – a kapott VCD jelek nem-robusztusak [43]. Azaz ebben az esetben össze lehet vetni a kísérleti úton kapott eredményeket a számítottakkal, ezáltal a kapott empirikus szabályokat vizsgálhatjuk megbízhatóságuk szempontjából: valóban azok-e és ha igen, mennyire?

Ebben a fejezetben oldószermodellt nem alkalmaztam, így a számított eredmények összevethetők az MI-VCD spektroszkópia (l. 1.2.3. fejezet) segítségével kapottakkal. Néhány peptidmodellt kutatócsoportunk is vizsgált ezzel a módszerrel [43–45], illetve β -peptidmodellek szerkezetét is vizsgáltuk (l. 5. fejezet, [3,46]), ez utóbbinál oldószermodell hatását is vizsgáltuk.

4.3. Vizsgált rendszerek

A munka során négy különböző α és β szerkezetű aminosavszármazék, az N-formil-N'-metil-valinamid (FmValNHMe), az N-formil-N'-metil-ciszteinamid (FmCysNHMe), az N-formil-N'-metil-aszparaginsavamid (FmAspNHMe) és az N-formil-N'-metil-aszparaginamid (FmAsnNHMe) geometriai optimálását, IR és VCD spektrumának számítását végeztem el. Kiválasztásukat az alábbi szempontok alapján végeztem el: (i) az FmValNHMe egyszerű oldallánccal rendelkezik, csak diszperziós kölcsönhatások vannak és a molekula kicsiny, emiatt könnyű számolni (ii) az FmCysNHMe molekulában erős diszperziós kölcsönhatások figyelhetők meg, a kén nehézatomban hatása megfigyelhető, (iii) az FmAspNHMe peptidmodell nagy dipólusmomentummal rendelkezik, és lehetséges intramolekuláris H-híd kialakulása, (iv) az FmAsnNHMe esetén pedig a másik amidcsoport esetleges zavaró hatása vizsgálható.

4.4. Eredmények

Az elvégzett kvantumkémiai számítások menetét a 2.2.4. fejezetben ismertettem. Az aminosavak legfontosabb torziós szögeinek jelölése, valamint a legalacsonyabb energiájú konformerek a 4.1. ábrán láthatók. Az összes konformer geometriai paramétereit, illetve

relatív szabadentalpiáikat a 4.1., egyéb számított tulajdonságaikat a függelékben a A.1. táblázatban foglaltam össze.

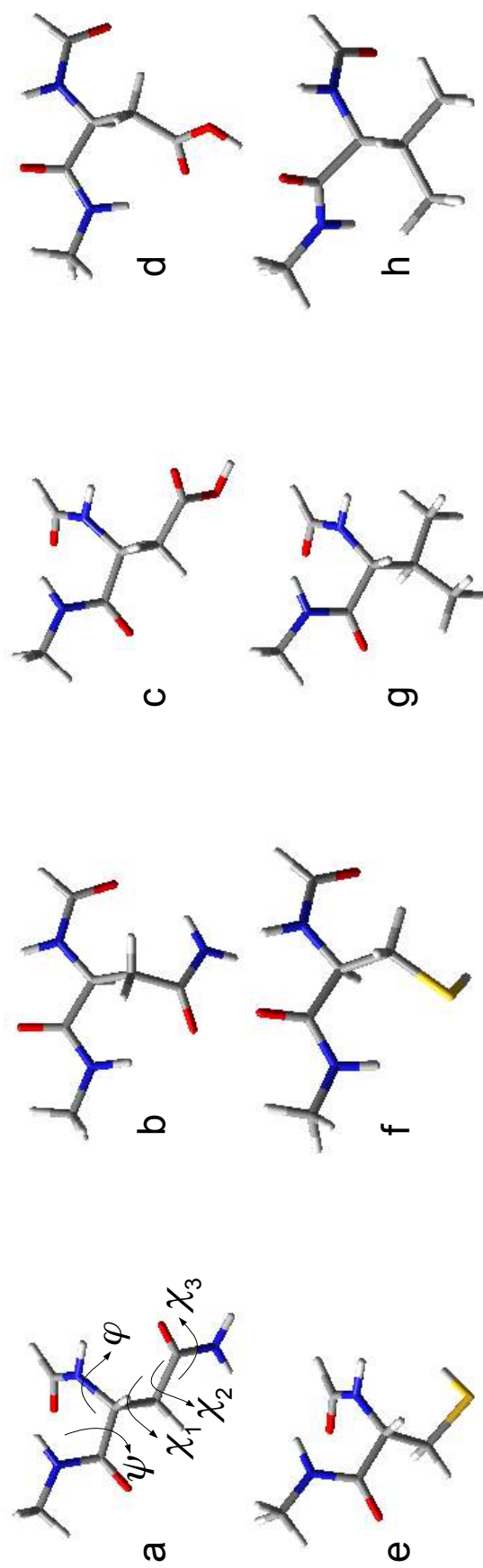
Amint az a táblázatból is látható, az FmValNHMe peptidmodellnek 3 α és 3 β konformere van, ugyanez az FmCysNHMe esetén 6/7, az FmAspNHMe molekulára 8/7 és az FmAsnNHMe-re 3/2. A felsorolt konformerekből csak azokat érdemes vizsgálni, amelyek szabadentalpiája kellően alacsony ahhoz ($\Delta G < 10 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), hogy relatív gyakorisága 1–2%-nál nagyobb legyen, így egy esetleges VCD mérés során annak jelei a spektrumban láthatók legyenek. A továbbiakban csak ezekkel a konformerekkel foglalkozom. Néhány peptidmodellnél – mint amilyen az FmValNHMe, illetve az FmAsnNHMe – minden konformer jelen van a spektrumban, ezzel ellentétben az FmAspNHMe esetén mind az α , mind a β szerkezetnél csupán egyetlen konformer energiája elég alacsony ehhez. Az FmCysNHMe esetén mindkét szerkezetre több konformer nagyobb előfordulási arányát várjuk előzetesen.

A valinszármazéknál – mind az α , mind a β szerkezet esetén – három, nagyjából azonos energiájú konformer található. Ennek oka az, hogy az oldallánc ebben az esetben legrövidebb és apoláris lévén a valinszármazék esetében nem alakulhatnak ki intramolekuláris H-kötések a molekula többi részével, mint ahogy ez a többi vizsgált esetben a legstabilabb konformereknél létrejön. Lévén ez a legkisebb molekula a vizsgáltak közül, a számítások ebben az esetben futnak le leggyorsabban, így a további, nagyobb számítási kapacitást igénylő vizsgálatait (pl. a VCD jelek bázisfüggéstől, tagszám növekedésétől való függése) erre a molekulára végeztem el.

4.4.1. VCD spektrumok bázisfüggése

A B3LYP/6-31G* bázis nem feltétlenül nyújt elégséges eredményeket. Mivel a valinszármazék a legkisebb vizsgált peptidmodellünk, így ennek számítási igénye a legkisebb és érdemes a számításokat erre a molekulára nagyobb bázisokat használva megismételni. Az FmValNHMe molekulára a már ismertetett 6-31G* mellett 6-31++G** és aug-cc-pVTZ bázison is kiszámítottam a molekula rotátorerősségét és VCD spektrumát, hogy a számolt eredményeknek az esetleges függését az alkalmazott bázis nagyságától megállapíthassam. Az eredmények a 4.2. ábrán, valamint a függelékben az α -FmValNHMe szerkezetre a A.2., míg a β szerkezetűre a A.3. táblázatban láthatók.

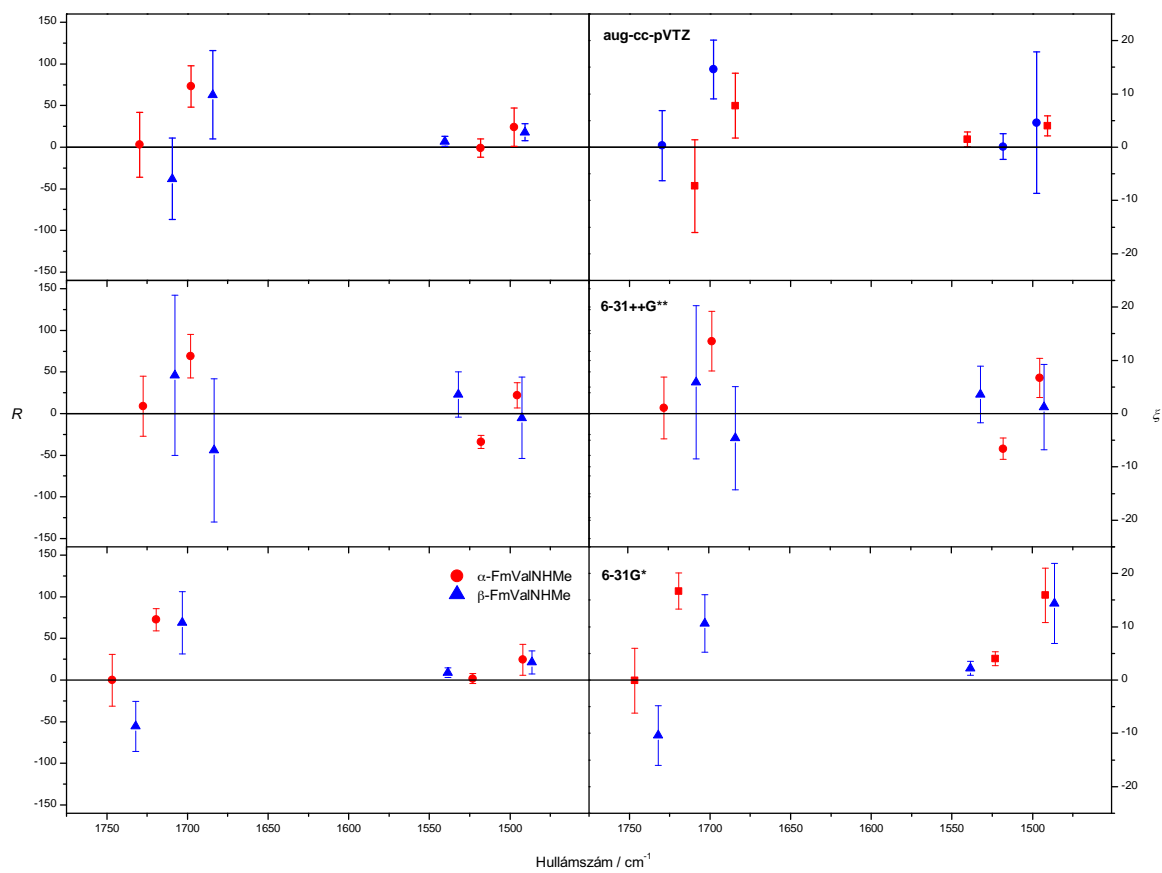
Összehasonlítva a három különböző nagyságú bázison számoltakat, általánosságban elmondható, hogy az α -FmValNHMe amid-I rezgéseinél nincs sok eltérés az eredmények között. Az N-terminális rezgések rotátorerőssége nem túl nagy és a jelek nem-robusztusak, a C-terminális esetén nagyobb rotátorerősségeket és valamivel nagyobb értékeket kapunk a robusztusságra. Azonban a két nagyobb bázisnál a C-terminális 6-31G* által robusztusnak jelzett amid-I rezgéséről már nem jelenthető ki ez teljes bizonyossággal, azok megnövekedett szórása miatt.



4.1. ábra. A legalszabályosabb energiájú konformerek geometriái B3LYP / 6-31G* bázison: (a) α -FmAsnNHMe, (b) β -FmAsnNHMe, (c) α -FmAspNHMe, (d) β -FmAspNHMe, (e) α -FmCysNHMe, (f) β -FmCysNHMe, (g) α -FmValNHMe, (h) β -FmValNHMe.

4.1. táblázat. Az *FmAANHMe* konformerek geometriai paramétereinek fokban és relatív Gibbs-energiái (ΔG^{298K} , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ban) *B3LYP/6-31G** bázison

konformerek	φ	ψ	ξ_1	ξ_2	ξ_3	ΔG^{298K}
FmValNHMe- α_1	-62.0	-39.8	38.0	177.2	-	0.0
FmValNHMe- α_2	-50.7	-37.6	-63.3	-173.9	-	1.0
FmValNHMe- α_3	-50.2	-41.5	159.3	-172.5	-	6.3
FmValNHMe- β_1	-129.2	134.4	-179.5	-179.8	-	0.0
FmValNHMe- β_2	-154.2	152.9	64.1	-173.7	-	0.4
FmValNHMe- β_3	-134.3	160.6	-65.1	-175.2	-	1.1
FmAsnNHMe- α_1	-63.7	-31.9	64.5	175.7	-178.3	0.0
FmAsnNHMe- α_2	-64.1	-35.8	147.0	90.0	-170.1	9.2
FmAsnNHMe- α_3	-49.5	-48.2	-52.3	-87.8	166.3	16.1
FmAsnNHMe- β_1	-168.7	-174.5	-137.7	93.0	-167.8	0.0
FmAsnNHMe- β_2	165.8	-138.8	63.3	-99.1	175.1	14.0
FmAspNHMe- α_1	-65.1	-30.0	64.5	178.0	179.9	0.0
FmAspNHMe- α_2	-66.7	-27.7	63.9	14.8	177.6	9.5
FmAspNHMe- α_3	-66.4	-32.0	157.3	150.2	178.9	9.9
FmAspNHMe- α_4	-67.5	-28.1	147.9	61.9	-0.7	10.0
FmAspNHMe- α_5	-65.7	-31.1	166.8	-37.9	-179.8	17.0
FmAspNHMe- α_6	-65.5	-30.3	64.5	178.8	-0.6	19.2
FmAspNHMe- α_7	-48.4	-50.7	-58.2	-74.9	11.1	21.2
FmAspNHMe- α_8	-56.5	-33.8	-45.1	-96.1	175.7	28.7
FmAspNHMe- β_1	-165.1	167.7	-161.7	173.2	-179.2	0.0
FmAspNHMe- β_2	-171.3	-177.5	-129.4	75.3	4.1	11.6
FmAspNHMe- β_3	-165.2	163.1	-173.1	31.8	175.0	14.5
FmAspNHMe- β_4	-165.2	159.8	70.3	-78.7	177.6	17.7
FmAspNHMe- β_5	-159.5	-177.5	66.2	-171.7	-179.6	18.0
FmAspNHMe- β_6	-164.6	151.4	61.2	104.7	-176.8	20.5
FmAspNHMe- β_7	-151.5	152.7	-160.3	-55.0	1.6	49.0
FmCysNHMe- α_1	-69.2	-23.6	62.5	-79.7	-	0.0
FmCysNHMe- α_2	-66.3	-27.9	61.8	76.4	-	0.6
FmCysNHMe- α_3	-67.9	-27.1	60.2	166.1	-	2.2
FmCysNHMe- α_4	-62.2	-37.5	157.0	66.4	-	3.3
FmCysNHMe- α_5	-60.6	-39.6	163.3	-117.0	-	14.1
FmCysNHMe- α_6	-41.7	-50.7	-55.9	-62.0	-	15.2
FmCysNHMe- β_1	-161.6	172.6	-163.5	73.4	-	0.0
FmCysNHMe- β_2	-160.8	157.2	-172.2	-84.8	-	4.2
FmCysNHMe- β_3	-162.3	159.8	57.4	62.7	-	6.3
FmCysNHMe- β_4	-157.1	174.6	65.9	-62.4	-	7.6
FmCysNHMe- β_5	-113.9	144.4	-66.3	55.9	-	10.1
FmCysNHMe- β_6	-162.8	165.1	65.3	-168.1	-	13.1
FmCysNHMe- β_7	-130.6	145.3	-65.8	177.7	-	16.9



4.2. ábra. Az FmValNHMe konformerek amid-I és amid-II rezgési módusainak robusztussága különböző bázisokon.

Az amid-II rezgéseknél azonban már nagyobb különbségek mutatkoznak, a C-terminálisnál 6-31G* és aug-cc-pVTZ bázison számoltak eltérnek a 6-31++G** bázison számoltaktól: a rotátorerősségek (és így a robusztusságok) előjelei is eltérnek, utóbbinál a rotátorerősségek jóval nagyobbak. Az N-terminális jele – hasonlóan a C-terminális amid-I rezgéséhez – csak a legkisebb alkalmazott bázison mondható robusztusnak, így nagyobb bázisokon a rezgési módusok egyike sem nevezhető robusztusnak.

A β -FmValNHMe esetén már az amid-I rezgési módusok számolt rotátorerősségei is előjelet váltanak eltérő bázisok használata esetén, jellemzően ebben az esetben is a 6-31++G** bázison számítottak térnek el a másik két bázison kapott előjelektől. A nagyobb bázison számoltaknál minden esetben csökkent a rotátorerősség és a robusztusság a 6-31G* bázison számított (utóbbinál eleve kicsiny) értékeihez képest. Az esetek túlnyomó többségében (az N-terminális amid-I kivételével) a β -peptidmodellek egyes rezgési módusainak rotátorerősségei és azok robusztussága általában kisebb, mint a megfelelő α -konformereké.

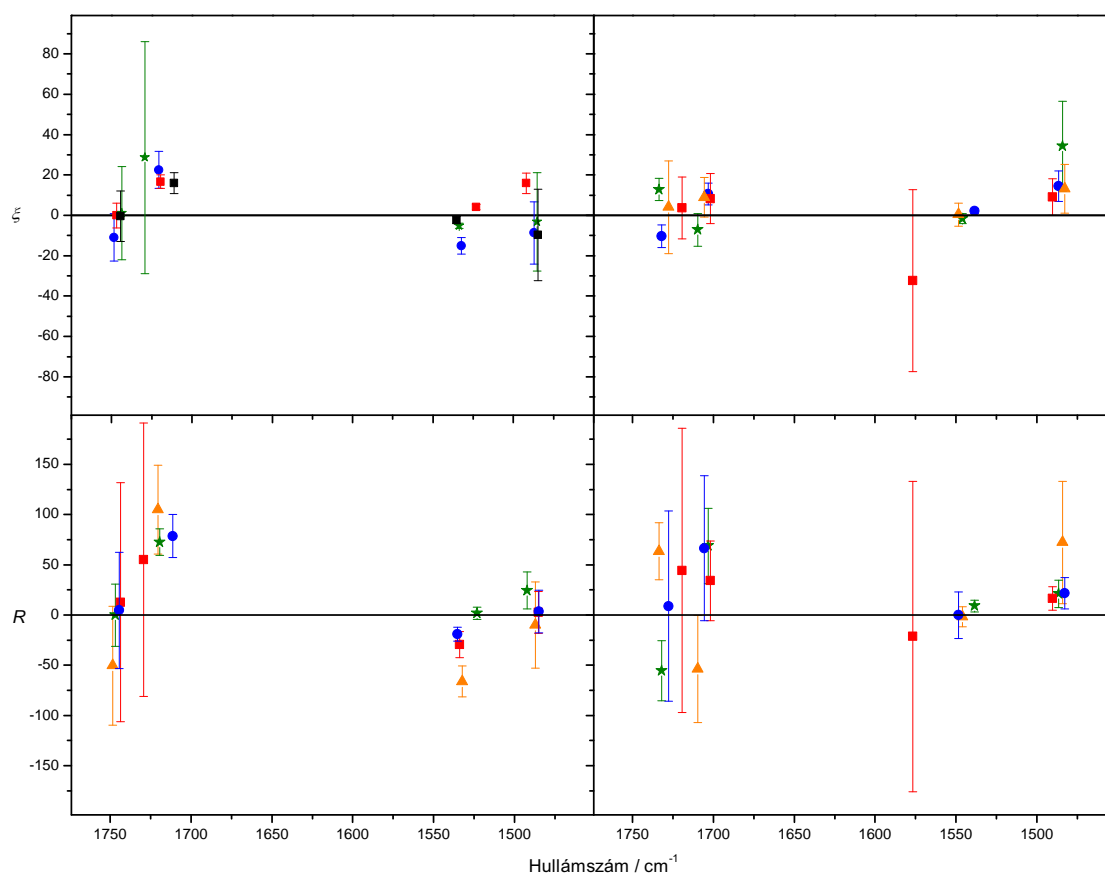
Összefoglalva elmondható, hogy a 6-31G* és az aug-cc-pVTZ bázis alkalmazása esetén hasonló eredményeket kapunk, utóbbinál a robusztusságok általában kisebb értékeket vesznek fel. Azonban utóbbi jóval nagyobb számítási igénye miatt bonyolultabb rendszerekre már nemigen alkalmazható. Emiatt a továbbiakban a nagyobb tagszámú modellpeptidekre 6-31G* bázist használtam.

4.4.2. α - és β -szerkezetek rotátorerőssége és robusztussága közti különbség

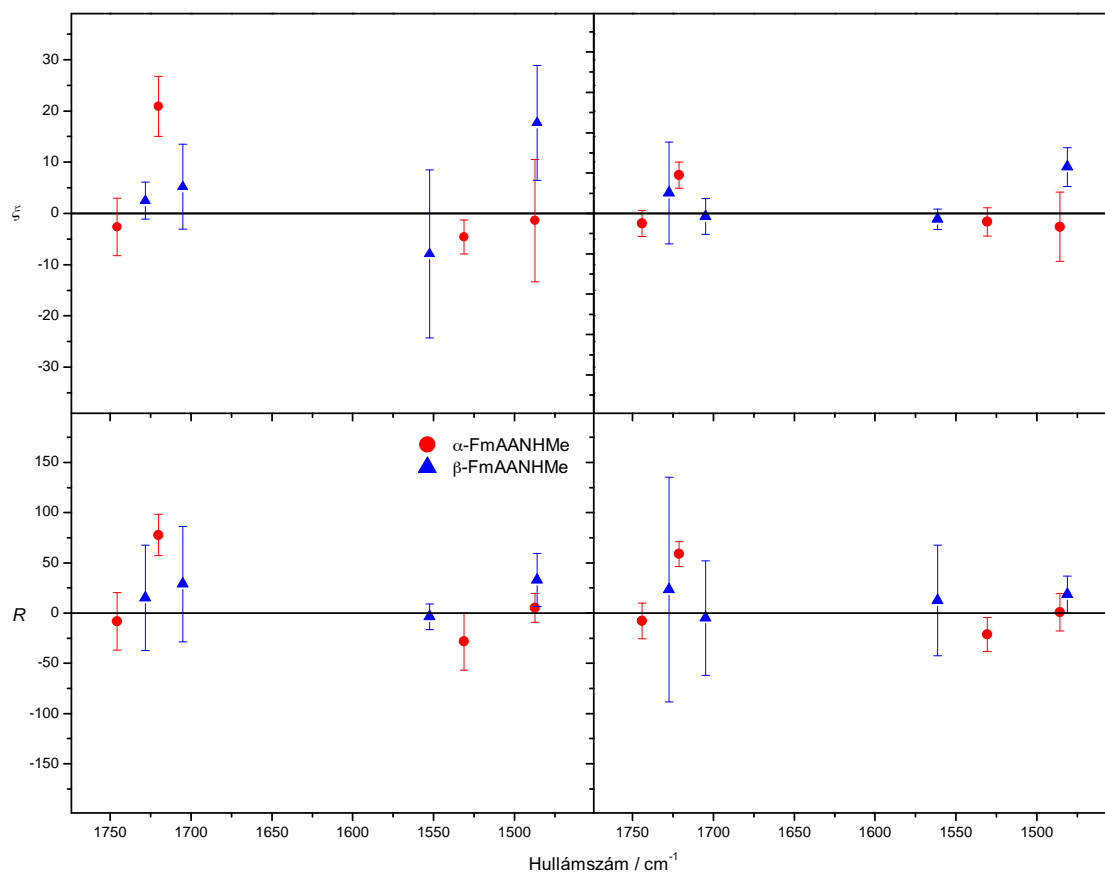
A különböző α - és β -peptidmodellek frekvenciáját, IR intenzitását, rotátorerősségét és robusztusságát B3LYP/6-31G* bázison minden konformer esetén kiszámoltam. Annak érdekében, hogy az oldallánc, illetve a másodlagos szerkezet rotátorerősségre és robusztusságra gyakorolt hatását vizsgáljuk, a különböző aminosav-származékoknál az egyes konformerekre kapott eredmények átlagát (\bar{R} és $\bar{\zeta}_k$), valamint ezek szórását vettem és ezeket ábrázoltam (l. 4.3. ábra). Az összes számított eredmény táblázatosan is megtalálható a függelékben.

Az α -peptidek esetén általánosságban elmondható, hogy a legintenzívebb VCD jele a peptidmodell C-terminális amid-I rezgésének van, továbbá ez az egyetlen rezgési módus, amelynél aminosavtól függetlenül (az α -FmAsnNHMe-t kivéve) a rotátorerősség ugyanazzal az előjellel rendelkezik és robusztusnak mondható. A többi rezgési módus esetén \bar{R} és $\bar{\zeta}_k$ nagysága nagymértékben függ az oldallánctól és annak konformációjától, azaz egy adott peptidmodell különböző konformereinél is ellenkező előjelet tapasztalhatunk. Emiatt az értékek szórása is nagyobb lesz, mindössze két kivétellel (C-terminális amid-II: α -FmCysNHMe, N-terminális amid-II: α -FmValNHMe).

A β -szerkezeteknél általánosságban igaz, hogy egyik rezgési módus sem robusztus,



4.3. ábra. A vizsgált peptidmodellek $B3LYP/6-31G^*$ bázison számított rotátorerősségei és robusztusságai, valamint ezek szórása a különböző konformerek esetén. Bal oldalon az α -, jobb oldalon a β -peptidek láthatók. Piros négyzet: $FmAsnNHMe$, kék kör: $FmAspNHMe$, narancs-sárga háromszög: $FmCysNHMe$, zöld csillag: $FmValNHMe$.



4.4. ábra. Az α - és β -peptidmodellek $B3LYP/6-31G^*$ bázison számított rotátorerősségeinek és robusztusságainak átlaga, valamint ezek szórása. Bal oldalon az összeset, jobb oldalon a legalacsonyabb energiájú konformereket vettem figyelembe.

4.2. táblázat. A β -Fm(Val)₂NHMe konformerek geometriai paramétereik fokban és relatív Gibbs-energiái (ΔG^{298K} , kJ·mol⁻¹-ban) B3LYP/6-31G* bázison.

	φ_{N-term}	ψ_{N-term}	ξ_{N-term}	φ_{C-term}	ψ_{C-term}	ξ_{C-term}	ΔG^{298K}
FmValNHMe- β_{11}	-130.4	134.6	179.6	-130.0	134.4	179.7	1.9
FmValNHMe- β_{22}	-134.1	159.6	-65.9	-132.4	161.5	-65.2	1.8
FmValNHMe- β_{33}	-155.0	156.1	66.2	-152.2	154.9	64.5	0.0
FmValNHMe- β_{12}	-131.6	138.0	-176.4	-132.1	162.1	-64.7	3.5
FmValNHMe- β_{21}	-134.0	159.4	-65.8	-130.2	136.7	179.6	1.7
FmValNHMe- β_{13}	-130.7	136.6	180.0	-153.1	153.7	64.2	1.6
FmValNHMe- β_{31}	-155.1	156.1	67.0	-126.0	136.3	179.1	1.7
FmValNHMe- β_{23}	-134.2	160.8	-65.6	-154.0	154.1	64.4	1.8
FmValNHMe- β_{32}	-154.5	154.4	66.7	-132.2	160.8	-65.2	1.6

egyetlen kivétel a β -FmCysNHMe N-terminálisának amid-II rezgése. A többi esetben ugyanaz mondható el, mint az α -peptidek esetén: \bar{R} és $\bar{\zeta}_k$ nagysága nagymértékben függ az oldallánctól és annak konformációjától, aminek következményeként a különböző peptideknél egy adott rezgési módusra különböző előjelű rotátorerősségeket kapunk és azok szórása is nagyobb lesz, mivel az egyes konformerek rotátorerősségei is nagymértékben el fognak térni egymástól.

A 4.4. ábrán a jobb oldalon az α - és β -peptidmodellek összes, míg az ábra bal oldalán a legalacsonyabb energiájú konformereire számolt \bar{R} és $\bar{\zeta}_k$ értékek, illetve azok szórása látható egyes rezgési módusokra.

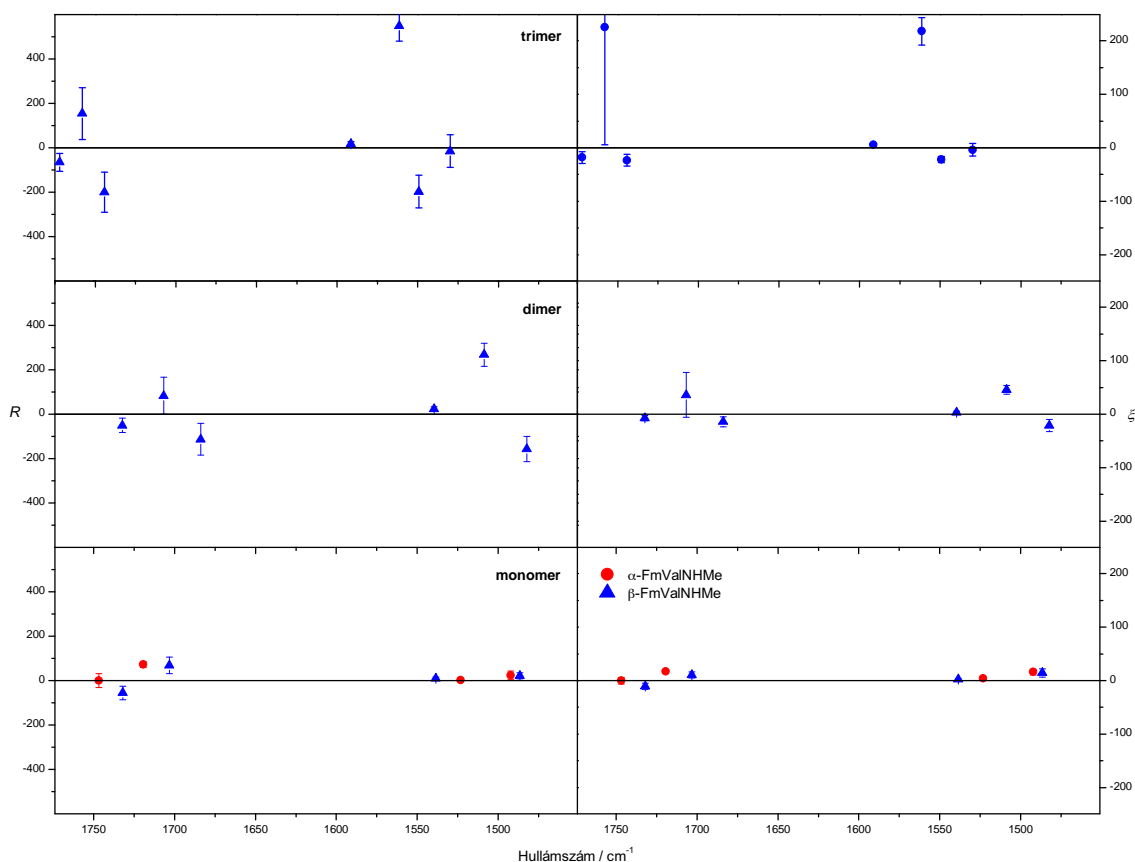
A két táblázat összevetésével kitűnik, hogy a számított rotátorerősségek az α -aminosav származékok esetén általában csökkentek, ezzel szemben $\bar{\zeta}_k$ értéke majdnem minden esetben nőtt (de ahol csökkent, a robusztus rezgések robusztusak maradnak). Azaz – ha csak a legkisebb energiájú konformereket vesszük figyelembe – a C-terminális amid-I mellett már az N-terminális amid-II VCD jele is robusztusnak mondható. A β -peptidmodellek esetén az N-terminális amid-II rezgése az, amelyet – csak a legalacsonyabb energiájú konformereket figyelembe véve – robusztusnak nevezhetünk. Összességében elmondható, hogy utóbbi szerkezettel rendelkező peptidmodellek \bar{R} és $\bar{\zeta}_k$ értékei általában kisebbek, illetve – ha átlaguk nagyobb is – az értékek sokkal jobban függenek az oldallánc fajtájától és a geometriától (a szórás nagyobb) így a vizsgált rezgési módusok általánosságban kevésbé tekinthetők robusztusnak, mint az α -szerkezetű modellvegyületek esetén.

4.4.3. A láncosszról való függés vizsgálata

Abból a célból, hogy megállapítsam, milyen hatással van a számított spektrumra a peptidmodell lánc nagysága, a monomer mellett a β -peptidmodellek di- és trimerjét (Fm(Val)₂NHMe, illetve Fm(Val)₃NHMe) is vizsgáltam. Ekkora molekulákra a 6-31++G** és az aug-cc-pVTZ bázis használata túl sok számítási időt venne igénybe, ezért a rotátorerősségek és a robusztusságok számítása a legkisebb, 6-31G* bázison tör-

4.3. táblázat. A β -Fm(*Val*)₃NHMe konformerek geometriai paramétereinek fokban és relatív Gibbs-energiái (ΔG_{298K}^0 , $kJ \cdot mol^{-1}$ -ban) B3LYP/6-31G* bázison.

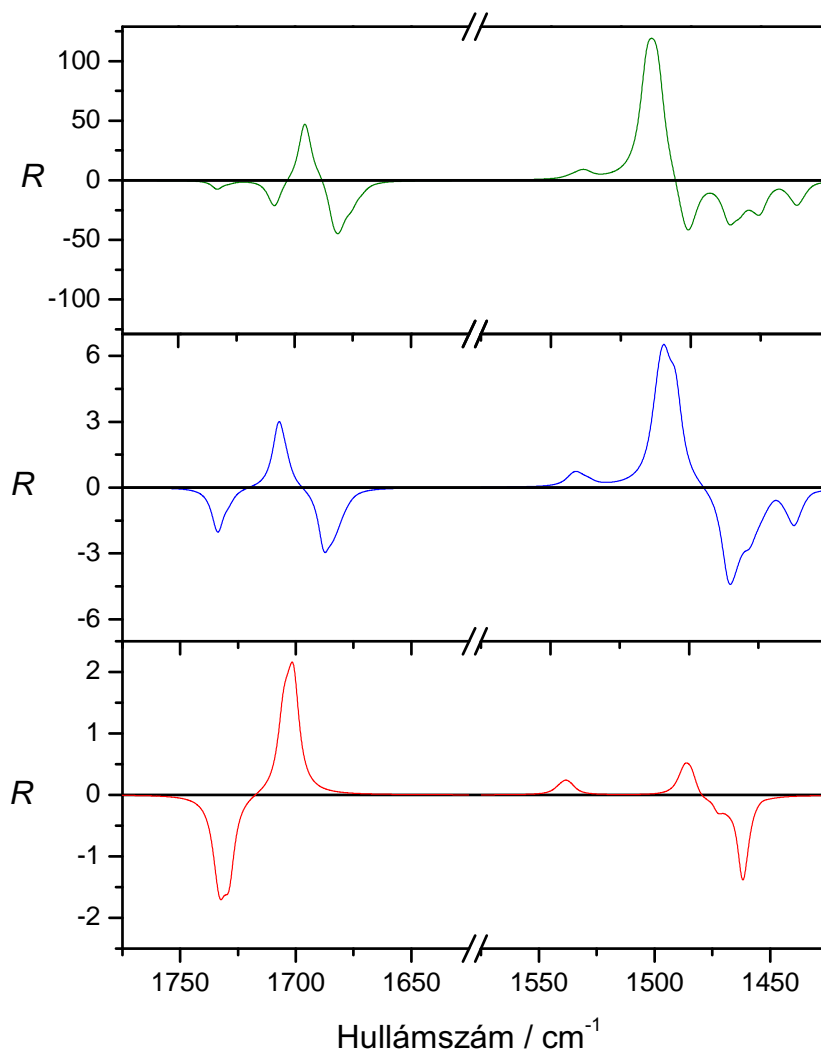
	φ_{N-term}	ψ_{N-term}	ξ_{N-term}	φ_{cent}	ψ_{centr}	ξ_{centr}	φ_{centr}	ψ_{C-term}	ξ_{C-term}	ΔG_{298K}^0
FmValNHMe- β_{111}	-130.3	132.9	179.4	-133.5	136.7	-179.9	-128.5	135.0	179.6	2.2
FmValNHMe- β_{112}	-130.5	133.6	179.0	-133.4	138.3	-176.6	-131.6	162.1	-65.2	2.9
FmValNHMe- β_{113}	-130.8	134.7	179.6	-132.0	137.1	-179.6	-152.8	153.8	64.3	3.0
FmValNHMe- β_{221}	-134.3	159.4	-66.1	-132.7	161.3	-65.6	-130.5	137.4	179.8	3.2
FmValNHMe- β_{222}	-134.4	159.6	-66.1	-132.7	160.7	-66.1	-132.6	161.6	-65.4	0.8
FmValNHMe- β_{223}	-134.4	159.7	-66.1	-132.9	162.5	-65.5	-153.3	154.2	64.7	0.0
FmValNHMe- β_{331}	-155.3	156.4	66.2	-152.4	157.5	67.2	-126.0	137.7	179.2	2.6
FmValNHMe- β_{332}	-155.3	156.5	66.3	-152.3	155.7	66.9	-132.2	160.9	-65.3	0.6
FmValNHMe- β_{333}	-155.5	156.7	66.4	-151.8	157.6	66.4	-152.0	155.1	64.6	1.0



4.5. ábra. Az *FmValNHMe* rotátorerősségének és robusztusságának lánchossztól való függése *B3LYP/6-31G** bázison.

tént. Mivel az *FmValNHMe* monomernek három, ezért a dimernek összesen $3^2=9$, a trimernek $3^3=27$ lehetséges konformere van. Mivel utóbbiak számítási igénye meglehetősen nagy, ezért kilenc kiválasztott konformert számítottam, ezek sorrendben a β_1 - β_1 - β_1 , β_1 - β_1 - β_2 , β_1 - β_1 - β_3 , β_2 - β_2 - β_1 , β_2 - β_2 - β_2 , β_2 - β_2 - β_3 , β_3 - β_3 - β_1 , β_3 - β_3 - β_2 és β_3 - β_3 - β_3 szerkezetű monomer egységekből épültek fel (a további konformerek számítása a közeljövőben történik, az így kapott eredményeket egy már előkészítés alatt álló cikkben tervezünk közzéadni [2]). Ezeknek a di- és trimereknek a geometriáit, illetve relatív szabadentalpiáit a 4.2. és a 4.3. táblázatban foglaltam össze. A 4.5. ábrán a mono-, di- és trimerek robusztusságai láthatók, a függelékben ezek összes számított rezgési frekvenciája, IR intenzitása, rotátorerőssége és robusztussága megtalálható (1. függelék A.2., A.3. táblázat az α és β monomerre, A.4. és A.5. táblázat a dimerre és a trimerre).

A táblázatból kitűnik, hogy – a monomerre kapottakkal összevetve – azoknál a terminálison található csoportok rezgési módusainál van az előjelben eltérés, ahol már a monomernél is előjelet váltott a számított rotátorerősség a bázis változtatására, azaz



4.6. ábra. A β -FmValNHMe (legalul, piros vonal), a β -Fm(Val)₂NHMe (középen, kék vonal) és a β -Fm(Val)₃NHMe (legfelül, zöld vonal) szimulált spektruma B3LYP/6-31G* bázison. A számított frekvenciaértékek SQM módszerrel skálázták. Az egyes konformerek által adott jelekre 3 cm^{-1} félértékszélességű Lorentz-görbéket illesztettem majd azok relatív gyakoriságával súlyoztam. Az egyes spektrumokat az összehasonlíthatóság kedvéért eltérően skáláztam.

a C-terminális amid-I és az N-terminális amid-II rezgésénél, ezek a módusok általában nem is robusztusak. A robusztusságokat összehasonlítva nincs jelentős eltérés, bizonyos rezgési módusoknál (N-terminális amid-I) enyhén csökkenő, másoknál (C-terminális amid-II) kissé növekvő tendenciát mutat a lánchossz növekedésével. Ennek ellenére a dimernél mindössze az N-terminális amid-II rezgés nevezhető robusztusnak, a trimernél egyik sem.

Azonban, ha nem a terminális amidcsoportok VCD jeleit vesszük figyelembe, hanem a lánc közepén találhatóakat, akkor már a dimer esetén megfigyelhető a rotátorerősség és a robusztusság nagyobb abszolút értéke (a terminális amidcsoportokéhoz képest). Így – míg a monomernél nem mondhatjuk ki egyik vizsgált rezgési módusra sem, hogy robusztus lenne – a dimernél a lánc közepén levő amidcsoport amid-II rezgése már az, a trimernél pedig már az amid-I és amid-II rezgési módusra egyaránt (legalábbis a vizsgált bázison). Megfigyelhető továbbá, hogy a trimereknél a láncközi két-két amid-I és amid-II rezgés rotátorerőssége egymással ellentétes előjelű, abszolút értékükben nagyobb, mint a dimer megfelelőké, és általában robusztusabbak is. Várható tehát, hogy a lánchossz növekedésével – ahogy a terminális csoportok rezgései egyre kevésbé jelentősek és a láncközi csoportok rezgése fontosabbá válik – a robusztus amid-I és amid-II rezgési módusok száma nő. A rotátorerősség és a robusztusság növekedésének oka a lánc közepén található peptidcsoportok rezgéseinek csatolódása.

Mindkét rezgési módusra igaz, hogy a szomszédos peptidcsoportok rezgései erősen csatolnak egymással. Az amid-I módus esetén, ha a két csoport rezgése szimmetrikus – ami a magasabb frekvenciájú a két rezgés közül –, akkor az IR intenzitás kisebb, a rotátorerősség nagy pozitív értéket vesz fel. A másik esetben a két csoport rezgése antiszimmetrikus, az IR intenzitás nagy és a rotátorerősség nagy negatív értékű lesz. Ez egyébként megfigyelhető dimerek amidrezgéseinél is, l. 6.2.3. fejezetet. Az amid-II rezgési módusnál a magasabb frekvenciájú a két láncközi csoport antiszimmetrikus rezgése, ekkor az IR intenzitás kisebb, a rotátorerősség negatív. Az alacsonyabb frekvenciájú csatolt rezgési módus a két láncközi csoport szimmetrikus amid-II rezgése, ekkor az IR intenzitás nagy, a rotátorerősség nagy negatív érték lesz. Ezek alapján adódik a feltételezés, hogy ha a molekula közepén található peptidcsoportok számát tovább növeljük, a csatolt rezgési számának növekedése miatt megkapjuk azokat a jellegzetes VCD jeleket, amelyek a kísérleti spektrumokban a különböző másodlagos szerkezettel rendelkező nagyobb peptidekre jellemzők (4.1. fejezet), és amelyek a momomerek számított VCD spektrumán még nem figyelhetők meg. Ilyenek az α -, illetve β -peptidek amid-I sávja, ahol azok egy pozitív, illetve negatív coupletből állnak, és hogy ugyanezek amid-II sávja egy erős, illetve gyenge negatív jelből áll. Azonban a számítási igény nagymértékű növekedése nem teszi lehetővé nagyobb tagszámú peptidmodellek spektrumának számítását még ilyen kis bázison sem.

Ezt alátámasztja a 4.6. ábra, amelyen a β -FmValNHMe mono-, di- és trimerek szimulált VCD spektruma látható. Ezeket a következőképpen állítottam elő: a számított (és már skálázott) frekvenciáknál a hozzá tartozó rotátorerősség értékekre Lorentz-görbék

illetve, majd az egyes konformerek relatív gyakoriságával súlyozva és az így kapott spektrumokat összegezve megkapjuk a szimulált VCD spektrumot. Látható a terminális amidcsoportok relatív jelerősségének fokozatos csökkenése (ilyenek pl. az amid-I tartományban a legmagasabb frekvenciánál található jelek) ezzel párhuzamosan pedig a láncközi amidcsoportok jelének relatív erősödése. A dimernél az amid-I sávnál már kivehető a negatív couplet jelalak, bár ebben az esetben a terminális amidcsoportok jelének nagysága még összevethető ezzel. Azonban a trimer esetében a már a negatív couplet válik meghatározóvá. A β -peptidek amid-II sávjára általában jellemző gyenge negatív jel ilyen alacsony tagszámú oligomerek számított spektrumában még nincs jelen. Nagyobb oligomereknél várhatóan már megfigyelhető, a számítási kapacitás növekedésével a tetramerek, pentamerek stb. VCD spektruma is kiszámíthatóvá válik, amelynek segítségével erre a kérdésre is választ kaphatunk.

4.5. Összefoglalás

A fejezetben az FmAANHMe általános képlettel jellemezhető (ahol AA: Asn, Asp, Cys és Val) peptidmodellek rezgési frekvenciáit, VCD rotátorerősségeit és a jelek robusztusságának vizsgáltam azok kvantumkémiai úton történő számításának elvégzését követően. Vizsgálatom tárgyát képezték a számított értékek függése az egyes aminosavak esetén azok geometriájától (az oldallánc konformációjától, valamint a peptid másodlagos szerkezetétől), az alkalmazott elméleti szinttől és az Fm(Val)_xNHMe (x : 1, 2 és 3) esetében a peptidlánc hosszától. Ezek során különös figyelmet fordítottam a jelek robusztusságára és ennek változásaira.

A vizsgálatok során kiderült, hogy a molekulák ezen tulajdonságai – főként a rotátorerősség és a robusztusság – függenek az alkalmazott bázis nagyságától, de nagyjából hasonló eredményeket kapunk B3LYP/6-31G* és aug-cc-pVTZ bázis használata esetén. A VCD jelek érzékenyek a molekula geometriájára, így a molekula konformációja erősen befolyásolja ezeket. Továbbá az α -, illetve β -peptidek rotátorerősségei és robusztusságértékei is nagy változatosságot mutatnak, és előbbiek jelei általában robusztusabbaknak mondhatók. A lánchossztól való függés vizsgálatakor kiderült, hogy annak növekedésével a kapott VCD spektrum erőteljes változást mutat és – a monomerrel ellentétben – fokozatosan egyre több hasonlóságot mutat a kísérleti spektrumokkal. A kiértékelés során elegendő a legalacsonyabb energiájú konformereket figyelembe venni, mivel várhatóan csak azok vannak jelen akkora mennyiségben a vizsgált rendszerben, hogy a kapott spektrumban jeleik észlelhetővé váljanak, így annak alakját alapvetően meghatározzák.

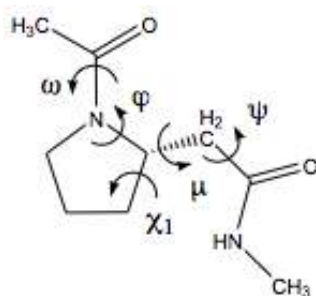
5. fejezet

Ac- β -homo-Pro-NHMe [3]

5.1. Bevezetés

Az elmúlt években nagymértékben megnőtt a β -aminosavakat tartalmazó peptidek szerkezeti analízise iránti érdeklődés. Ennek oka, hogy a β -aminosavak a természetben nagy számban fordulnak elő szabadon, illetve kötött állapotban fehérjékben is megtalálhatók [122]. Legnagyobb mennyiségben tengeri élőlényekben, illetve növényekben vannak jelen [123], és legtöbbször fiziológiailag aktívak. Általában peptidomimetikus molekuláknak tekintjük [124,125], mivel – az α -aminosavakat tartalmazó fehérjékhez hasonlóan – számos másodlagos szerkezettel rendelkezhetnek, mint különféle redők és hélixek [126–128], de azokkal ellentétben ellenállóak a legtöbb proteolitikus enzimmel szemben [129–131]. A királis β -aminosavak közül nagyobb figyelmet szentelnek a β^3 -homo-aminosavaknak (β^3 -H-aminosavak) [132], mivel könnyen előállíthatók enantiomertiszta formában az Arndt-Eistert-reakció segítségével [133, 134].

Különféle molekulák konformációs viszonyainak feltérképezése gyakran rezgési spektroszkópiai mérések és kvantumkémiai számítások együttes alkalmazásával történik. Annak érdekében, hogy a kísérleti és a számított eredmények összevethetőek legyenek, a mérések során a molekulát olyan környezetbe kell helyezni, hogy a kölcsönhatások minimalizálva legyenek. Ez megvalósítható a mátrixizolációs módszer alkalmazásával (l. 1.2.2.



5.1. ábra. Az Ac- β^3 -HPro-NHMe sematikus rajza a szerkezetét leíró torziós szögek jelölésével

fejezet).

Az elmúlt évtizedben a királis aminosavszármazékok vizsgálatára a VCD spektroszkópia is elérhetővé vált, a méréseket mind oldatfázisban, mind nemesgáz mátrixban el lehet végezni. Előbbi esetben a legtermészetesebb közeg a víz, de ilyenkor – az oldószer erős elnyelése miatt – az amid-I és amid-A sávok megfigyelése nem lehetséges. Ennek kiküszöbölésére a kísérleteket gyakran D_2O oldatban végzik el [135, 136], amelyben az oldószer és a fehérje közt hidrogén – deutérium kicserélődés zajlik le, és az amid-I' sáv (deuterált amid-I) mérhetővé válik, mivel sokkal kisebb lesz annak frekvenciaeltolódása, mint az oldószeré (az amid-A viszont továbbra sem mérhető az oldószerrel történő átfedés miatt). Az amid-II és -III sávok mérése ezzel ellentétben vízben könnyedén elvégezhető és ebben az esetben nem kell figyelembe venni a hidrogén és a deutérium kicserélődését [137]. Az amid-I sávok is mérhetők vízben, nagyon kis küvettavastagság és nagyon nagy koncentráció használatával, azonban ez csak nagyon kevés fehérje esetén járható út, az oldhatóság korlátozott volta és a különböző aggregátumok kialakulása miatt [138]. Fontos továbbá a polipeptidek mérése nemvizes közegben [139], ez azonban általában csak α -hélixek esetén járható út, ebben az esetben is oldhatósági problémák fellépése miatt [140]. Különböző izotópjelzett oligopeptidek vizsgálatára is sor került, ezen belül a ^{13}C , illetve a ^{13}C és ^{18}O az amid $C=O$ csoporton 40, illetve 65 cm^{-1} eltolódást mutattak az eredeti spektrumhoz képest [141, 142]. Kimutatták továbbá, hogy bizonyos α -hélix másodlagos szerkezettel rendelkező peptidek esetén ha az izotópjelzett szénatom a C-terminálison van, akkor – ellentétben az N-terminálison vagy az egyéb helyeken jelzett peptidekkel – a VCD jele eltér a karakterisztikustól, a másodlagos szerkezet megváltozik, a hélix “kitekeredik” [143]. Nemesgáz mátrixban történő mérés esetén a módszer rendkívül alkalmas a peptidek, illetve fehérjék másodlagos szerkezetének meghatározására (1. 4. fejezet). Ez utóbbi fejezetben α -aminosavak, illetve peptidmodellek MI-VCD spektroszkópiás vizsgálatára tértem ki, de kutatócsoportunk vizsgálta β -peptidmodellek szerkezetét is [3, 46].

Általában a diamidok a legkisebb és legegyszerűbb vegyületek, amelyek a γ -kanyar modellezésére alkalmasak. Ezek közül a legfontosabbak a prolin diamidszármazékok. Oldatfázisú és mátrixizolációs IR [144–152] és VCD [93–95] spektroszkópiás vizsgálatok kimutatták, hogy ilyen körülmények között a *transz*- γ konformer a legkisebb energiájú, és az oldószer polaritásának növekedésével a *cisz* konformer relatív gyakorisága növekszik.

Mivel a β -aminosavak esetén a terminális szénatomok között az α -aminosavakhoz képest egy további szénatom van, ezért – annak érdekében, hogy a peptidlánc szerkezetét megfelelően le tudjuk írni – egy új torziós szöveget kell bevezetni, amelyet μ -vel jelölünk. A molekula sematikus ábráját a megfelelő torziós szögek jelölésével a 5.1. ábrán tüntettem fel.

További különbség, hogy a β -aminosavak nem képesek 10, illetve 7 tagú gyűrűs (C_{10} , illetve C_7) intramolekuláris hidrogénkötést kialakítani, ami az α -aminosavakban a β -, illetve γ -kanyarok kialakulásának feltétele, ehelyett C_6 , illetve nagyobb (C_8 , C_{11} , C_{12}) tagszámú

gyűrűs szerkezeteket alkot. Az Ac- β -HGly-NHMe és az Ac- β -HAla-NHMe vizsgálata során a C₆ volt a legnagyobb arányban előforduló szerkezet [46], de nagyobb szerkezeteknél – mint amilyenek a *cisz*-2-amino-ciklopentán-karbonsav oligomerjei – is a C₆ gyűrűt észlelték [153]. C₈ gyűrűknél pszeudo- γ -kanyarok ($\psi\gamma$ -kanyar) kialakulását is tapasztalták [154]. *S*- β^3 -HPro, illetve *S*- α -Pro egységekből felépülő ciklikus penta-, illetve hexapeptideknél kimutatták, hogy a β^3 -HPro egységek $\psi\gamma$ -kanyar, illetve $\psi\beta$ -kanyarokat képeznek [155].

Vizsgálatunk célja a HPro szerkezetének feltérképezése volt, ezen belül az, hogy a peptid képez-e $\psi\beta$ -kanyarokat. Munkám a molekula VCD spektrum jelei robusztusságának vizsgálatára terjedt ki.

5.2. Eredmények

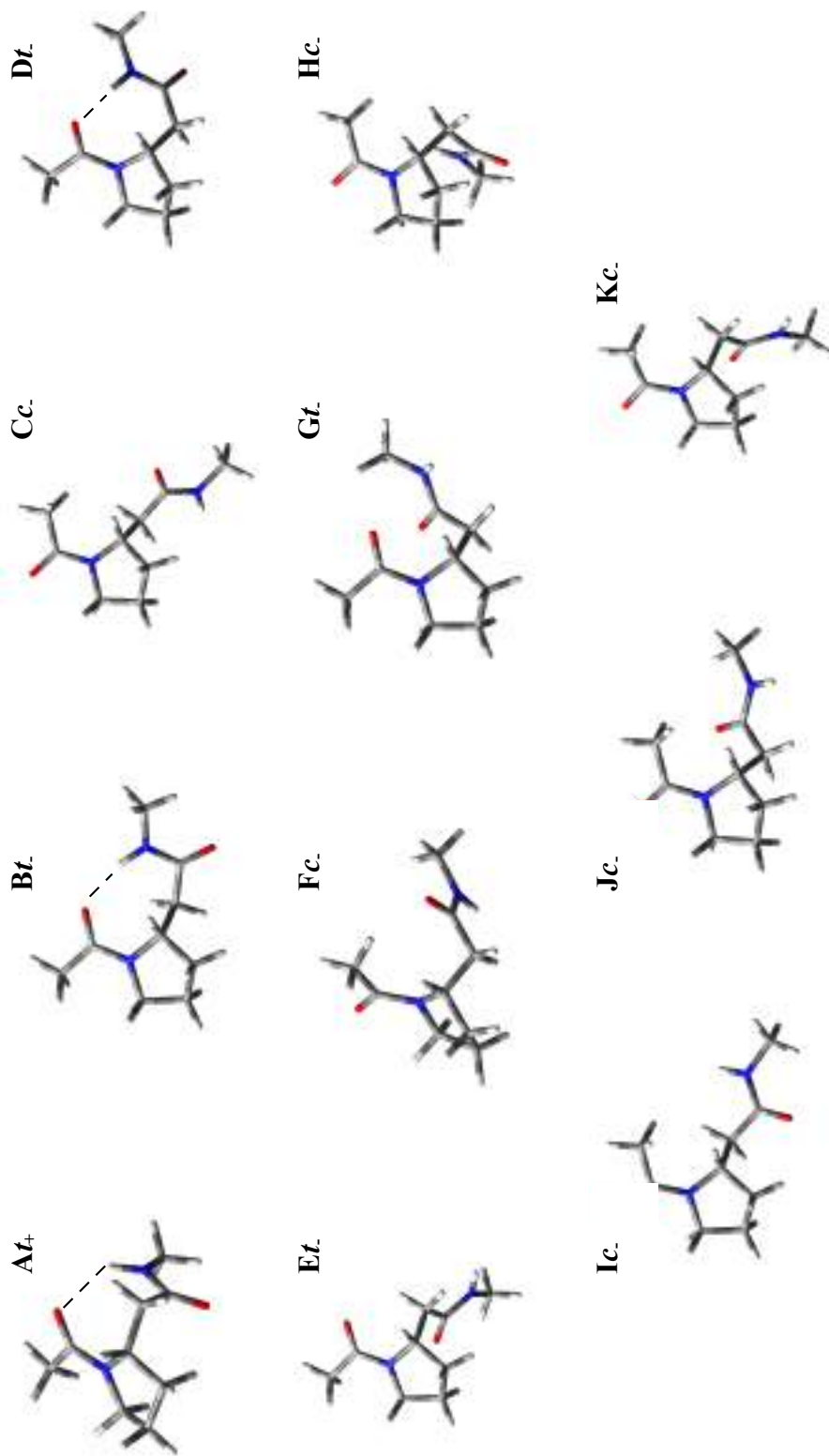
A különböző konformerek megjelölésére az ABC nagybetűit használtam, energia szerinti sorrendben (azaz a legalacsonyabb energiájú az A, második legalacsonyabb energiájú a B és így tovább). Az N-terminális amidcsoport szerkezetét *c* (*cisz*), illetve *t* (*transz*) betűkkel jelöltem. Eltérő nagybetűket használtam abban az esetben is, ha a *cisz* és *transz* konformerek többi torziós szöge egyébként megegyezett, azaz eltérő konformereknek számítottam azokat. Ennek jogosságát alátámasztja az észlelés, miszerint ha a két szerkezet közül egyik rendelkezik intramolekuláris hidrogénkötéssel, akkor a *cisz-transz* átmenet során ez felszakad és az összes torziós szög megváltozik. A „fel” ($\chi_1 < 0^\circ$), illetve „le” ($\chi_1 > 0^\circ$) pucker ring konformációk jelölése +, illetve – volt.

Munkám a mátrixizolációs mérésekre, továbbá az ehhez tartozó szabad molekulák geometriájának, konformereloszlásának, illetve VCD spektrumainak számítására terjedt ki. Az oldatfázisú mérések (5.2.3. fejezet), illetve számítások eredményeit a teljesség igénye miatt ismertetem.

5.2.1. Számítási eredmények

A vákuumban, illetve oldószermodellben végzett számítások eredményei alapján a magasabb energiájú pucker ring konformerek egy alacsony gáton keresztül átalakulnak az alacsonyabb energiájú szerkezetté. Emiatt a pucker ring párokat a spektrumok szimulálása során nem számítottam külön, hanem az alacsonyabb szabadentalpiájú változatot a két konformer összegzett Boltzmann-faktorával vettem figyelembe (az egyes Boltzmann-faktorok a 5.1. táblázatban megtalálhatók). A feltevést, miszerint a pucker ring párok közötti átmenet energiagátja elég alacsony ahhoz, hogy a leválasztás során a magasabb energiájú az alacsonyabbá alakuljon, a számítások is igazolták (l. 5.2. táblázat). Ez alapján várható, hogy a pucker ring párok közül csak az alacsonyabb energiájúakat kell figyelembe venni.

Az Ac- β^3 -HPro-NHMe B3LYP/6-31++G** bázison vákuumban történő optimalálásával



5.2. ábra. Az Ac-β³-HPPro-NHMe konformerei B3LYP/6-31++G** bázison.

5.1. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ konformerek szerkezeti paramétereit és relatív Gibbs-energiáit vákuumban $B3LYP/6\text{-}31++G^{**}$ bázison.

Konformer ^a	ω	φ	μ	ψ	χ_1	ΔG_{0K}^o ^b	ΔG_{345K}^o ^c	$p_i / \sum p_i$ ^d
At+	-176.4	-54.8	-45.5	105.6	-27.9	0.9	0.0	0.374
At-	-174.2	-62.7	-42.7	103.7	23.6	4.8	2.7	0.146
Bt-	-177.3	-72.8	134.8	-68.4	30.6	0.0	2.8	0.142
Cc-	4.8	-89.8	169.4	137.4	33.5	14.9	3.6	0.106
Dt-	-170.8	-103.2	73.9	7.1	37.3	4.2	4.9	0.067
Bt+	-177.0	-65.0	132.5	-71.4	-25.4	2.6	5.9	0.048
Et-	-179.7	-69.1	-65.7	-140.6	26.4	16.0	6.2	0.043
Cc+	4.2	-73.8	174.9	141.2	-19.7	17.8	7.6	0.026
Dt+	-170.5	-103.1	74.7	6.4	-4.7	8.4	9.1	0.016
Fc-	4.8	-104.1	70.6	-116.8	36.7	16.5	9.1	0.016
Gt-	-178.5	-88.9	43.4	90.0	35.0	15.6	11.4	0.007
Fc+	6.0	-104.7	71.1	-116.3	0.6	21.8	12.8	0.004
Hc-	5.9	-87.4	-65.4	83.7	29.7	20.6	12.9	0.004
Ic-	4.4	-89.0	168.7	-126.8	33.8	17.9	14.1	0.003
Hc+	7.6	-74.7	-64.0	63.6	-22.2	22.1	14.4	0.002
Gt+	-176.9	-89.8	54.6	80.0	-8.3	21.6	16.8	0.001
Jc-	7.9	-97.7	67.9	94.0	36.6	30.8	19.6	0.000
Kc-	4.6	-83.9	-63.3	-113.3	31.6	31.6	19.8	0.000
Jc+	8.5	-92.1	70.6	88.1	-8.6	35.1	26.8	0.000
Kc+	6.6	-65.5	-43.3	-98.3	-23.7	32.4	30.8	0.000

^a A torziós szöveget ($\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat (ΔG_T^o) $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ egységben adtam meg.

^b **Bt-** konformerhez viszonyítva 0 K-en ($\Delta G_{0K}^o = -612.63103E_h$).

^c **At+** konformerhez viszonyítva 345 K-en ($\Delta G_{345K}^o = -612.42849E_h$).

^d A Boltzmann faktorokat ($p_i / \sum p_i$) ΔG_{345K}^o -ből számoltam.

5.2. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ konformerek közötti gátak magassága (ΔE^\ddagger , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ban), $B3LYP/6\text{-}31++G^{**}$ bázison.

TS	ΔE^\ddagger	
	\rightarrow	\leftarrow
At+ \leftrightarrow At-	13.9	10.0
Bt- \leftrightarrow Bt+	12.4	9.8
Cc- \leftrightarrow Cc+	7.8	4.3
Dt- \leftrightarrow Dt+	5.9	1.5
Fc- \leftrightarrow Fc+	5.2	0.2
Gt- \leftrightarrow Gt+	7.0	0.9
Hc- \leftrightarrow Hc+	6.3	4.5
Jc- \leftrightarrow Jc+	6.1	1.3
Gt+ \leftrightarrow Jc+	68.5	55.7
Gt- \leftrightarrow Jc-	74.6	60.5
Et- \leftrightarrow Kc-	77.4	62.5
At+ \leftrightarrow Hc+	81.4	61.7
At- \leftrightarrow Hc-	74.8	60.8
Bt- \leftrightarrow Ic-	88.0	71.6
At- \leftrightarrow Et-	10.5	0.6
Ct- \leftrightarrow Ic-	3.5	0.1

20 különböző szerkezetet kaptam, ezek (a magasabb energiájú puckering-párok kivételével) a 5.2. ábrán láthatók, legfontosabb szerkezeti paramétereiket, relatív energiáikat és Boltzmann-faktoraikat a 5.1. táblázatban foglaltam össze. A legalacsonyabb energiájú konformer, amit **At+**-szal jelöltem, C_8 szerkezettel (azaz egy intramolekuláris hidrogénkötéssel, amely egy 8 tagszámú gyűrűt alkot) rendelkezik. A számítások alapján a puckering-pár **At+**, illetve **At-** 345 K-en nagyjából 52% relatív gyakoriságú. Két másik – hasonló C_8 szerkezetű – pár a **Bt-** és **Bt+**, illetve **Dt-** és **Dt+**, amelyek relatív gyakorisága 19, illetve 8%. A többi konformer nem tartalmaz intramolekuláris hidrogénkötést, de nagyobb entrópiatagjuk miatt relatív gyakoriságuk magasabb a vártnál. Ezek közül a legalacsonyabb szabadentalpiával **Cc-** (illetve **Cc+**) rendelkezik, relatív gyakoriságuk 13%. Az eredményt érdemes összevetni az aminosav α -analógjával, az α -Ac-Pro-NHMe molekulával, amelynél ugyanezen a hőmérsékleten és elméleti szinten az összes *cisz* konformer együttes relatív gyakorisága nem éri el a 3%-ot [44].

A többi konformer közül még az **Et-** konformernek, az **Fc-** és **Fc+**, illetve a **Gc-** és **Gc+** puckering párnak összesen akkorák a Boltzmann-faktoraik, amely alapján populációjuk eléri, illetve meghaladja az 1%-ot, azaz valószínűleg detektálható mennyiségben vannak jelen a rendszerben. A többi, intramolekuláris hidrogénkötést nem tartalmazó szerkezet – a **Hc-** és **Hc+**, **Ic-**, **Jc-** és **Jc+**, illetve a **Kc-** és **Kc+** – mennyisége elhanyagolható.

A *cisz* és *transz* konformerek közül több olyan is van, amelyek többé-kevésbé hasonló-

5.3. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ konformerek szerkezeti paramétereit és relatív Gibbs-energiáit ACN oldószerben IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával B3LYP/6-31++G** bázison.

Konformer ^a	ω	φ	μ	ψ	χ_1	ΔG_{298K}° ^b	$p_i / \sum p_i$ ^c
Cc-	3.2	-88.1	171.0	132.7	34.1	0.0	0.823
Cc+	0.1	-70.4	179.6	127.0	-15.8	6.0	0.072
Fc-	3.4	-103.1	68.7	-117.3	37.4	8.3	0.029
Et-	-177.2	-74.6	-62.7	-106.2	29.8	9.7	0.016
At+	-177.8	-64.7	-49.2	111.4	-23.7	10.3	0.013
At-	-174.9	-72.6	-57.8	106.8	25.9	10.3	0.013
Jc-	1.8	-98.4	61.4	90.8	36.8	11.3	0.009
Bt-	-177.2	-74.9	128.9	-60.2	31.8	11.5	0.008
Gt-	-176.0	-93.6	57.2	85.7	35.0	11.7	0.007
Fc+	3.1	-103.3	69.0	-117.1	5.4	13.5	0.003
Dt-	-170.6	-102.7	75.9	-0.1	37.5	15.2	0.002
Bt+	-178.2	-64.7	127.5	-63.9	-25.0	15.3	0.002
Kc+	-1.0	-65.9	-53.5	-107.4	-19.1	16.9	0.001
Gt+	-176.4	-91.1	62.3	81.5	-8.5	17.2	0.001
Jc+	2.0	-89.2	69.2	82.9	-7.1	17.4	0.001
H'c+	1.7	-68.2	-43.7 ^d	136.3 ^d	-19.8	18.5	0.000
Kc-	3.3	-76.5	-59.7	-107.3	31.1	19.0	0.000
H'c-	6.7	-77.4	-65.2	104.2 ^d	28.6	19.0	0.000
Dt+	-170.3	-102.8	75.1	1.6	-3.6	20.7	0.000

^a A torziós szögeket ($\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat (ΔG_T°) kJ·mol⁻¹ egységben adtam meg.

^b **Cc-** konformerhez viszonyítva 0 K-en ($G_{0K}^{\circ} = -612.445084E_h$).

^c A Boltzmann faktorokat ($p_i / \sum p_i$) G_{298K}° -ből számoltam.

^d A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.

5.4. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ konformerek szerkezeti paramétereit és relatív Gibbs-energiáit DMSO oldószerben IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával B3LYP/6-31++G** bázison.

Konformer ^a	ω	φ	μ	ψ	χ_1	ΔG_{298K}^o ^b	$p_i / \sum p_i$ ^c
Cc-	2.9	-87.9	170.6	133.4	34.1	0.0	0.798
Cc+	0.1	-70.5	179.7	128.7	-19.8	5.1	0.100
Fc-	3.6	-103.2	69.1	-117.8	37.4	7.8	0.034
Et-	-178.3	-73.6	-60.9	-105.0	29.9	10.3	0.013
At+	-177.7	-64.2	-48.5	113.4	-24.0	10.6	0.011
Jc-	1.6	-98.2	61.7	90.5	36.8	11.0	0.009
Gt-	-176.2	-94.2	57.6	86.4	35.2	11.1	0.009
Bt-	-177.1	-75.1	128.6	-60.3	31.9	11.8	0.007
At-	-174.8	-72.4	-59.3	107.4	25.7	11.9	0.007
Fc+	3.8	-104.6	68.7	-119.9	6.7	12.9	0.004
Kc-	3.1	-75.6	-58.4	-106.3	30.9	15.2	0.002
Dt-	-170.6	-102.9	75.7	-0.3	37.6	15.4	0.002
Bt+	-178.2	-64.9	127.1	-63.4	-24.9	15.8	0.001
Kc+	-1.3	-65.6	-53.2	-107.6	-19.2	16.2	0.001
Gt+	-175.5	-91.1	63.3	80.4	-9.2	17.5	0.001
Jc+	1.6	-89.2	68.7	83.1	-6.8	17.5	0.001
H'c+	2.3	-68.4	-43.9 ^d	137.8 ^d	-19.8	18.6	0.000
H'c-	6.5	-77.5	-64.2	105.2 ^d	28.6	19.1	0.000
Dt+	-170.3	-102.8	75.3	1.2	-3.6	20.9	0.000

^a A torziós szögeket ($\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat (G_T^o) $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ egységben adtam meg.

^b **Cc-** konformerhez viszonyítva 0 K-en ($G_{0K}^o = -612.445229E_h$).

^c A Boltzmann faktorokat ($p_i / \sum p_i$) G_{298K}^o -ből számoltam.

^d A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.

5.5. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ konformerek szerkezeti paramétereit és relatív Gibbs-energiáit DCM oldószerben IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával B3LYP/6-31++G** bázison.

Konformer ^a	ω	φ	μ	ψ	χ_1	ΔG_{298K}^o ^b	$p_i / \sum p_i$ ^c
Cc-	3.2	-88.1	170.4	133.9	33.9	0.0	0.751
Cc+	0.5	-70.7	179.5	129.3	-19.9	5.5	0.082
Fc-	3.7	-103.2	68.7	-117.8	37.3	7.6	0.035
Bt-	-177.2	-74.5	129.4	-60.9	31.6	7.8	0.032
At+	-177.6	-62.7	-48.1	111.8	-24.4	7.9	0.031
At-	-174.7	-71.9	-56.6	108.9	25.4	8.3	0.026
Et-	-178.1	-74.5	-63.2	-108.5	30.0	9.8	0.014
Gt-	-176.6	-93.6	55.2	85.2	35.0	11.5	0.007
Dt-	-170.7	-103.1	75.0	1.6	37.5	11.6	0.007
Fc+	3.6	-103.6	70.3	-117.4	3.9	13.0	0.004
Jc-	3.0	-98.9	62.1	90.2	36.8	13.3	0.004
Bt+	-178.2	-64.9	128.0	-64.7	-27.9	14.6	0.002
Kc-	4.2	-76.5	-58.9	-106.0	31.0	16.8	0.001
Gt+	-176.6	-91.1	61.0	81.7	-8.4	16.8	0.001
Dt+	-170.3	-103.0	75.0	2.0	-3.6	17.1	0.001
Kc+	0.1	-66.4	-53.9	-108.2	-19.1	17.1	0.001
H'c-	6.7	-78.0	-65.8	103.2 ^d	28.8	17.2	0.001
H'c+	2.9	-70.4	-45.3 ^d	134.2 ^d	-19.0	18.5	0.000
Jc+	3.5	-89.7	69.6	83.8	-7.3	18.9	0.000

^a A torziós szögeket ($\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat (G_T^o) $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ egységben adtam meg.

^b **Cc-** konformerhez viszonyítva 0 K-en ($G_{0K}^o = -612.440744E_h$).

^c A Boltzmann faktorokat ($p_i / \sum p_i$) G_{298K}^o -ből számoltam.

^d A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.

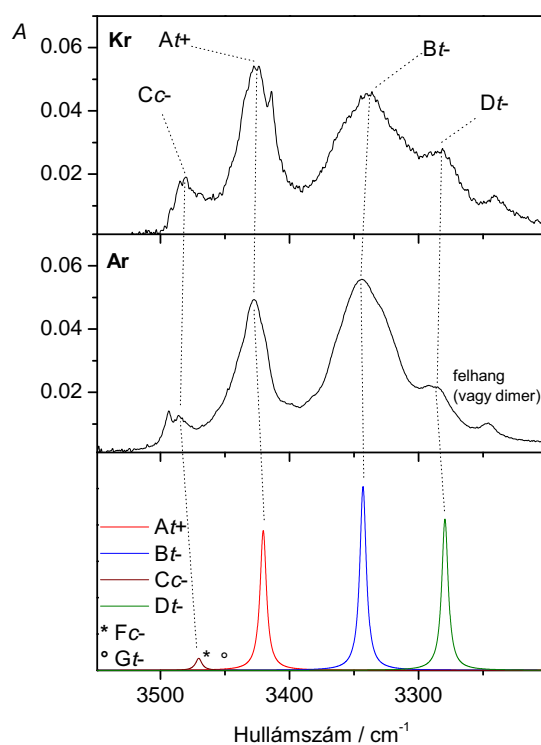
tanak egymásra, azaz egymás megfelelőinek tekinthetők. Ilyenek a $\mathbf{Gt}\pm$ és $\mathbf{Jc}\pm$, illetve $\mathbf{Et}-$ és $\mathbf{Kc}-$ párok, amelyek egyikében sincs intramolekuláris hidrogénkötés. Olyan esetben, amikor a molekula atomjai közt van hidrogénkötés, ennek felszakadása a *cis-transz* átmenet során a szerkezet nagyobb mértékű megváltozását eredményezi. Jó példák erre az $\mathbf{At}\pm$ és $\mathbf{Hc}\pm$, illetve a $\mathbf{Bt}-$ és $\mathbf{Ic}-$ szerkezetek közötti nagyobb eltérés.

Észrevehető, hogy a számítások szerint bizonyos szerkezeteknél csak az egyik puckering módosulat minimum a potenciális energiafelületen – ilyen az $\mathbf{Et}-$ és az $\mathbf{Ic}-$ – míg a másik nem az. Ha kiindulási geometriaként – a másik puckering módosulatból a pirrolidin gyűrű „átcsavarásával” – létrehoztam a másik módosulatot (azaz „ $\mathbf{Et}+$ ”, illetve „ $\mathbf{Ic}+$ ” szerkezeteket), akkor azok a geometriai optimalás során minden esetben a megfelelő legalacsonyabb szerkezetbe, azaz $\mathbf{At}+$, illetve $\mathbf{Cc}+$ szerkezetbe alakultak át. Az, hogy az $\mathbf{Et}-$ és az $\mathbf{Ic}-$ lokális minimum, pusztán sztérikus okokra vezethető vissza, és ennek megfelelően az átalakulás gátja a legalacsonyabb energiájú szerkezetekbe – azaz $\mathbf{At}-$, illetve $\mathbf{Cc}-$ konformerekbe – meglehetősen kicsi: 0,6, illetve 0,1 kJ·mol⁻¹ az alkalmazott bázison (l. 5.2. táblázat). Érdeemes megjegyezni, hogy nagyobb bázis alkalmazása esetén ezek a gátak eltűnnek, azaz $\mathbf{Et}-$ és $\mathbf{Ic}-$ nem tekinthető lokális minimumnak.

Összegezve a vákuumban történt számításokat, ezek alapján legalább négy szerkezet jelei várhatók a minta leválasztása után mátrixizolációs körülmények között, ezek rendre az $\mathbf{At}+$, $\mathbf{Bt}-$, $\mathbf{Cc}-$ és $\mathbf{Dt}-$. Ezekon túl még az $\mathbf{Fc}-$, illetve a $\mathbf{Gt}-$ konformerek azok, amelyek jelei elég nagyok lehetnek ahhoz, hogy azokat észlelhessük.

Az oldószermodelles számítások eredményeit, a kapott szerkezeteket, és ezek szabadentalpiakülönbségeit, illetve relatív gyakoriságukat a különböző oldószerekre (acetonitril – ACN, dimetil-szulfoxid – DMSO és diklór-metán – DCM, l. 2.2.4.2. fejezet) l. az 5.3., az 5.4. és 5.5. táblázatban. A vákuumban számítottakhoz képest a geometriában nagyobb eltérést nem tapasztalhatunk, egy-két kivételtől eltekintve. Legfontosabb ezek közül, hogy csak 19 konformert tudunk megkülönböztetni, az izolált molekulára végzett számítások során kapott 20 helyett. Az $\mathbf{Ic}-$ konformer – amely vákuumban történt számítások során is meglehetősen kicsiny energiagáttal rendelkezett, és mint lokális minimumot valószínűleg csak a nem elég nagy alkalmazott bázis miatt kaptuk meg – oldószermodell alkalmazva a geometriai optimalás során minden esetben $\mathbf{Cc}-$ szerkezetté alakult át. A másik eltérés $\mathbf{Hc}+$ szerkezetének változása – egészen pontosan a μ és ψ torziós szögek – a vákuumban számolthoz képest: előbbi eltérése nagyjából 20°, utóbbié több, mint 70°-kal eltér. Emiatt – hogy a vákuumban kapott szerkezettől megkülönböztessük – az oldószermodelles számítás során kapott szerkezetre $\mathbf{H}'\mathbf{c}\pm$ jelöléssel hivatkozunk a továbbiakban.

Annak ellenére, hogy a geometriákban a vákuumban számoltakhoz képest nem tapasztalható nagy eltérés, a szabadentalpia-különbségekben és ezáltal az egyes konformerek populációjában jóval nagyobb a változás. A vákuumban legalacsonyabb energiával rendelkező $\mathbf{At}\pm$ szerkezetek – amelyek relatív gyakorisága 52% körül volt – aránya drasztikusan lecsökken oldószerben (ACN: 2,6%, DMSO: 1,5%, DCM: 5,7%, l. 5.3., 5.4. és



5.3. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ MI-IR spektruma Ar és Kr mátrixban az amid-A tartományban.

5.5. táblázat). Ezzel szemben a $Cc\pm$ szerkezetek együttes gyakorisága rendkívüli módon megnő, nagyjából 90%-a lesz a teljes populációnak (DCM-ben 83%), ezt követi az Fc -konformer, amelynek 3% körüli arányban fordul elő. A még mátrixizolációs körülmények közt tapasztalható detektálási határ felett (ami nagyjából 1%) található konformerek – $At\pm$, $Bt-$, $Et-$ – hasonló arányban fordulnak elő acetonitrilben és dimetil-szulfoxidban, de diklór-metánban nagyobb mértékben, összesen 10%-ot érnek el. Ez utóbbi annak a következménye, hogy a diklór-metán – mint a leginkább apoláris molekula – a többi oldószerhez képest elősegíti az intramolekuláris hidrogénkötések kialakulását.

Összegezve az oldószermodell segítségével számoltak eredményét, elmondható, hogy acetonitrilben 6, dimetil-szulfoxidban 5, diklór-metánban 7 konformer relatív gyakorisága éri el az 1%-os határt, azaz várhatóan ezeknek a jeleit tudjuk detektálni mátrixizolációs körülmények között.

5.6. táblázat. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ Ar és Kr mátrixban megfigyelt, valamint a számított (SQM B3LYP/6-31++G** bázison) IR spektruma az amid-A, -I és -II tartományban, és ezek asszignációja.

Ar	Kr	Számított	Asszignáció
amid-A			
3494 ^b , 3485	3481	3471	$Cc^- \nu_1$
3428	3425, 3414 ^b	3420	$At^+ \nu_1$
3344, 3331 ^{b,c}	3338	3344	$Bt^- \nu_1$
3287	3282	3280	$Dt^- \nu_1$
3246	3240		$At^+ 2\nu_{18}$ (vagy dimer)
amid-I (C-terminális)			
1700 ^c	1699 ^c	1690	$Cc^- \nu_{17}$
1696 ^c	1695 ^c	1689	$Bt^- \nu_{17}$
1691	1690	1681	$At^+ \nu_{17}$
1681 ^c	1680 ^c	1672	$Dt^- \nu_{17}$
amid-I (N-terminális)			
1669	1665	1662	$Cc^- \nu_{18}$
1654	1652	1643	$At^+ \nu_{18}$
1649 ^c	1647 ^c	1642	$Dt^- \nu_{18}$
1640	1638	1640	$Bt^- \nu_{18}$
amid-II			
1553 ^d	1549d	1570, 1571	$Bt^- \nu_{19}$ és $Dt^- \nu_{19}$
1534 ^d	1530d	1536, 1530	$At^+ \nu_{19}$ és $Cc^- \nu_{19}$

^a A rezgési tartomány egyéb részeiről kísérleti és számított spektumok a függelékben találhatóak.

^b mátrixeffektus

^c váll

^d széles sáv

5.2.2. MI-IR és MI-VCD vizsgálatok

5.2.2.1. Amid-A tartomány

A 5.3. ábrán az Ac- β^3 -HPro-NHMe Ar és Kr mátrixban felvett MI-IR spektrumát, továbbá a hat legalacsonyabb energiájú konformer Boltzmann-faktorokkal súlyozott számított spektrumát tüntettem fel. Ezen jól látható, hogy mind a két kísérleti spektrumban öt, jól elváló sáv jelenik meg, amelyekből – magasabb hullámszámok felől nézve – az első négy jó egyezést mutat a **Cc**–, **At**+, **Bt**– és **Dt**– konformerek számított spektrumával (l. 5.3. ábra és 5.6. táblázat). Az ötödik, 3246, illetve 3240 cm^{-1} -nél (Ar, illetve Kr mátrixban) található csúcs a konformerek amid-A rezgéseinek egyikével sem egyeztethető össze. Ez a jel valószínűleg hidrogénkötéses dimerek jelenlétére utal, vagy egy amid-II rezgés felhangja (valószínűleg az **At**+ konformeré). Utóbbit valószínűsíti nagyságának reprodukálhatósága, hiszen a dimerek mennyisége a leválasztás körülményeinek megváltozásakor más lenne.

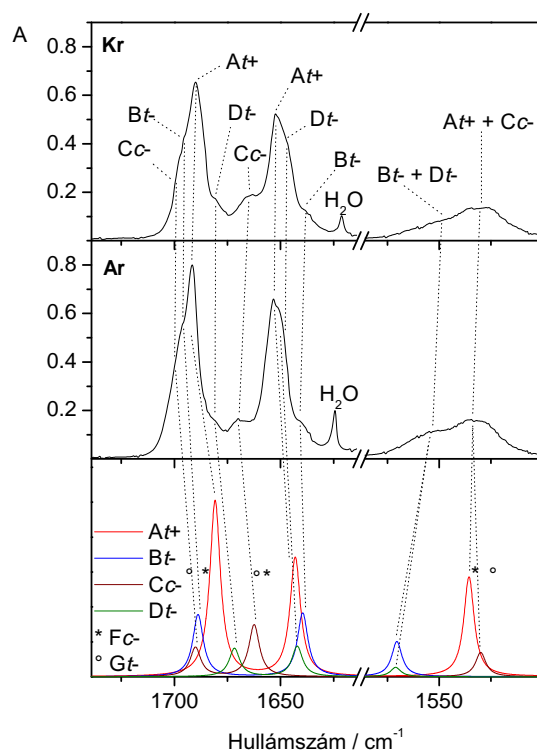
A 5.3. ábrán az is megfigyelhető, hogy vállak, illetve kis intenzitású csúcsok is megjelennek a tartományban 3494 és 3331 cm^{-1} -nél (illetve Kr mátrixban 3414 cm^{-1} -nél). Mivel ezek Ar és Kr mátrixban eltérő helyen jelennek meg, ezért valószínűbb, hogy mátrixeffektus eredményei, mintsem nagyobb energiájú konformerek jelei. **Fc**– és **Gt**– jeleit a számítások alapján **Cc**– és **At**+ konformereké elfedik, és a kísérleti spektrumok alapján sem tudjuk egyértelműen azonosítani jelenlétüket a mátrixban.

Összességében elmondható, hogy **Cc**–, **At**+ és **Bt**– esetén a számított spektrumok jó egyezést mutatnak a kísérleti eredményekkel, **Dt**– esetén viszont annak relatív intenzitását kissé felülbecsülte.

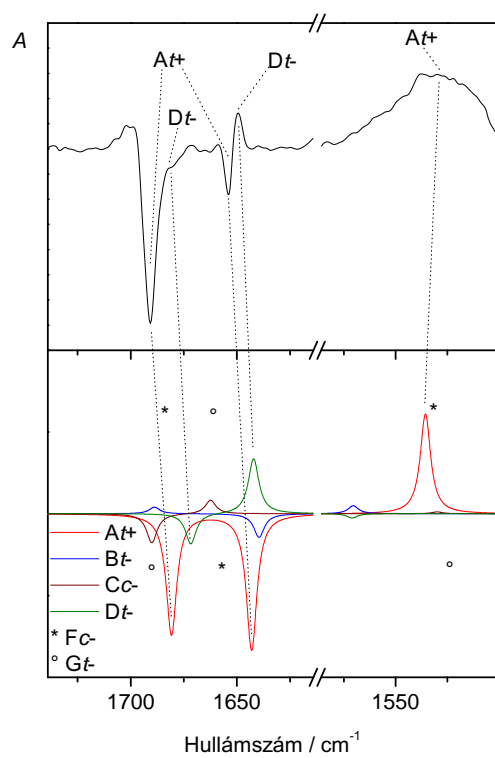
5.2.2.2. Amid-I és -II tartomány

A számítások alapján **Bt**– és **Dt**– mindkét, illetve a **Cc**– magasabb frekvenciájú (C-terminálisának) amid-I rezgése 8–9 cm^{-1} távolságra van a legnagyobb intenzitású **At**+ konformer jelétől, így attól valószínűleg nem lesz megkülönböztethető. Az egyetlen kivétel a **Cc**– alacsonyabb frekvenciájú (N-terminálisának) amid-I rezgése (l. 5.4. ábra). Ezt a kísérleti eredmények is alátámasztják: két intenzív jel között – amelyek vállakkal rendelkeznek – egy kisebb intenzitású elnyelés is megjelenik. A két intenzívebb sáv több jelre bontható fel, mint amennyi a legnagyobb relatív gyakoriságú konformerekhez tartozik, ennek oka a mátrixeffektus eredményeként létrejövő jelfelhasadás. Ezt alátámasztja az, hogy az Ar és Kr mátrixban felvett spektrumokban az amid-I tartomány jelei különböznek.

Az amid-II tartományban egy kiszélesedett és kis intenzitású sáv található, amelynek magasabb hullámszámú végét – a számítások alapján – **Bt**– és **Dt**–, maximumát **At**+ és **Cc**– konformer jelei alkotják. Mivel az **Fc**– és **Gt**+ amid-I és -II jelei nem térnek el jelentősen a legnagyobb gyakoriságú konformerekétől, ezért ebben a tartományban IR vizsgálatokkal nem mutatható ki jelenlétük.



5.4. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ MI-IR spektruma Ar és Kr mátrixban az amid-I és -II tartományban.



5.5. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ MI-VCD spektruma Ar és Kr mátrixban az amid-I és -II tartományban.

5.7. táblázat. Az *Ac-β³-HPro-NHMe* kísérleti és számított frekvenciái, VCD rotátorerősségei ($R_{\text{szám}}$, 10^{-44} esu²·cm²-ben), továbbá a számított robusztusságok ($\zeta_{\text{szám}}$, ppm-ben) és az asszignált csúcsok előjelei.

konformer és rezgési módus	$\tilde{\nu}_{\text{szám}}$	$\tilde{\nu}_{\text{kís}}^{\text{a}}$	$R_{\text{szám}}$	$\zeta_{\text{szám}}^{\text{b}}$	$R_{\text{kís}}$ előjel
A <i>t</i> + ν_{17}	1681	1691	-64	-7.7	-
A <i>t</i> + ν_{18}	1643	1654	-74	-14.6	-
A <i>t</i> + ν_{19}	1536	1534 ^c	+58	12.1	+
A <i>t</i> - ν_{17}	1682		-3	-9.4	
A <i>t</i> - ν_{18}	1646		+100	-15.7	
A <i>t</i> - ν_{19}	1534		-8	12.2	
B <i>t</i> - ν_{17}	1689	(1696) ^d	+10	1.1	
B <i>t</i> - ν_{18}	1640	(1640) ^d	-38	-4.5	
B <i>t</i> - ν_{19}	1570	(1553) ^d	+13	3.0	
C <i>c</i> - ν_{17}	1690	(1700) ^d	-65	-11.4	
C <i>c</i> - ν_{18}	1662	(1669) ^d	+31	3.2	
C <i>c</i> - ν_{19}	1530	(1634) ^d	+5	1.0	
D <i>t</i> - ν_{17}	1672	1681	-111	-13.0	-
D <i>t</i> - ν_{18}	1642	1649	+203	22.2	+
D <i>t</i> - ν_{19}	1571	(1553) ^d	-17	-4.9	

^a Ar mátrixban.

^b ppm-ben, a ≈ 10 alatti értékek nem-robusztus jelnek felelnek meg.

^c széles sáv

^d Csak MI-IR-ben detektálható jel.

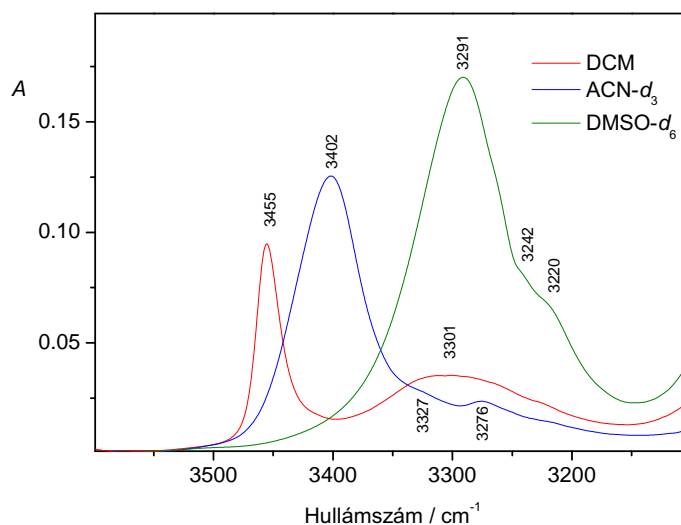
A vizsgált tartomány rotátorerősségeit és robusztusságait az 5.7. táblázatban foglaltam össze, ebből kitűnik, hogy az $\mathbf{At}+$ mindhárom vizsgált rezgési módusa intenzív és robusztus. A számított és kísérleti VCD spektrumok a 5.5. ábrán láthatók, amelyek jól egyeznek egymással, így az Ar mátrixban 1691 és 1654, illetve 1534 cm^{-1} -nél található jelek nagy bizonyossággal az $\mathbf{At}+$ konformer jeleiként asszignálhatók, ami alátámasztja az MI-IR vizsgálatok eredményeit.

1648 cm^{-1} -nél (Ar mátrixban) található még egy intenzív pozitív csúcs, amely – összevetve az MI-IR spektrumokkal, valamint a számított rotátorerősségekkel – a $\mathbf{Dt}-$ kisebb hullámszámú (az N -terminális) amid-I rezgéseként asszignálható. A jel lehetne $\mathbf{At}-$ N -terminálisának amid-I rezgési módusa is, amely a számítások szerint robusztus és intenzív VCD jelet ad. Ennek az alternatív asszignálásnak viszont ellentmond az a feltételezésünk, miszerint – mint az már korábban kiderült – $\mathbf{At}-$ valószínűleg a puckering párjává $\mathbf{At}+$ konformerré alakul át, így csak utóbbit detektáljuk. További bizonyíték erre, hogy $\mathbf{At}-$ jele nagyobb hullámszámoknál lenne, mint $\mathbf{At}+$ konformeré, $\mathbf{Dt}-$ jele viszont kisebbnél – csakúgy, mint a kísérleti spektrumban. $\mathbf{Dt}-$ másik, C-terminálisának amid-I jele beleolvad $\mathbf{At}+$ jelébe, annak kiszélesedését okozva.

A VCD spektrum többi jele kisebb, előjelük és intenzitásuk kevéssé reprodukálható, így asszignálásuk nem végezhető el. Ez összhangban van a számítások eredményeivel, miszerint $\mathbf{Bt}-$ és $\mathbf{Ct}-$ jelei az amid-I és -II, továbbá $\mathbf{Dt}-$ jelei az amid-II tartományban kis intenzitásúak és nem-robusztusak.

5.2.2.3. Egyéb rezgési tartományok

Az MI-IR és MI-VCD spektrumok többi tartománya jó egyezést mutat az $\mathbf{At}+$, $\mathbf{Bt}-$, $\mathbf{Ct}-$ és $\mathbf{Dt}-$ jeleit tartalmazó számított spektrummal. A legintenzívebb csúcsok könnyedén asszignálhatók – mint amilyenek az $\mathbf{At}+$ és $\mathbf{Bt}-$ konformerekhez tartozóak – de vannak egyéb, jellegzetes hullámszámoknál levő sávok, amelyek a számítások alapján kizárólag $\mathbf{Ct}-$, illetve $\mathbf{Dt}-$ jelei lehetnek (előbbinél ilyen a 888, illetve 887, utóbbinál a 754, illetve 753 cm^{-1} -nél található elnyelés is Ar, illetve Kr mátrixban). A három legalacsonyabb energiájú konformer kísérleti úton kapott relatív intenzitásai összhangban vannak a számított eredményekkel, $\mathbf{Dt}-$ konformernél utóbbi kissé felülbecsli azt. Ennek két oka lehet: vagy a relatív gyakoriságát becsüli felül a számítási módszer, vagy a számított infravörös intenzitásokat. Előbbit alátámasztja, hogy az összes, konformerre specifikus jelnél felülbecsli a számítás a kísérletileg kapott intenzitásokat. A többi, magasabb energiájú konformer jeleit egyik vizsgált tartományban sem sikerült egyértelműen azonosítani.



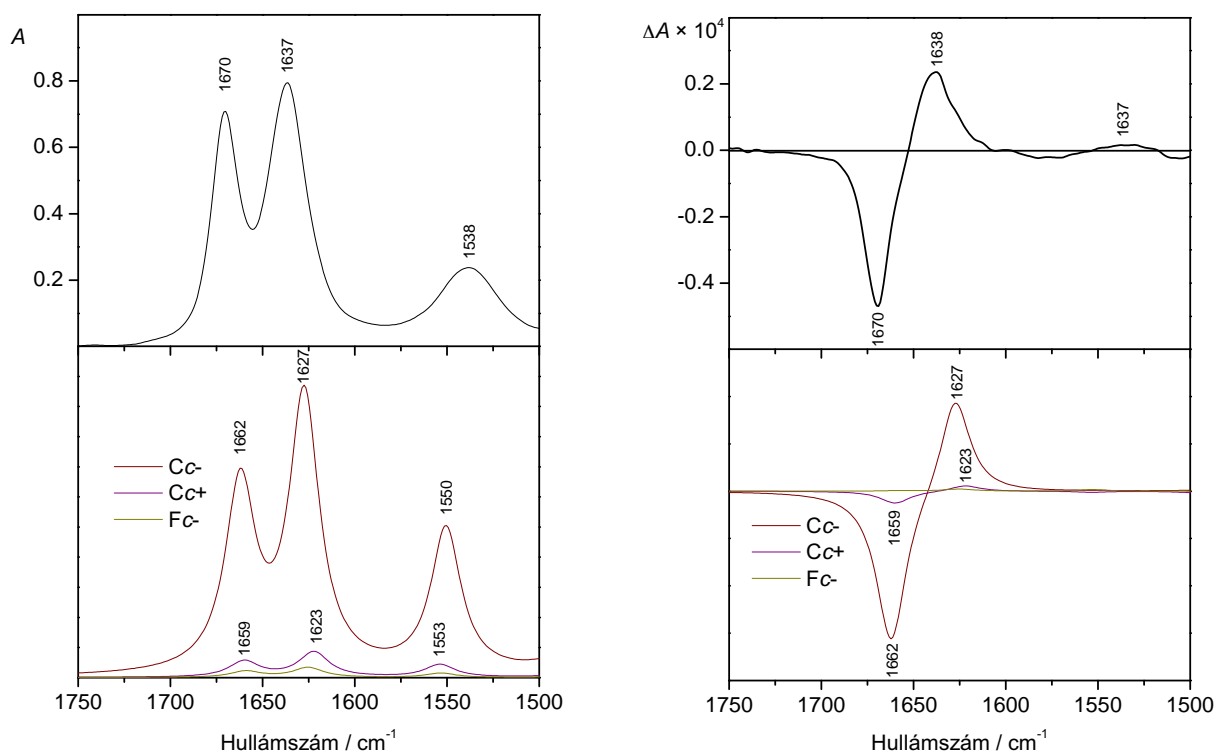
5.6. ábra. Az $Ac-\beta^3$ -HPro-NHMe IR spektruma DCM, ACN- d_3 és DMSO- d_6 oldószerben az amid-A tartományban.

5.2.3. Oldatfázisú vizsgálatok

5.2.3.1. Amid-A tartomány

Az $Ac-\beta^3$ -HPro-NHMe DCM, ACN- d_3 , illetve DMSO- d_6 oldószerben készült IR spektrumát az 5.6. ábrán tüntettem fel. A három felhasznált oldószerből a diklór-metán a legkevésbé poláris, azaz a hat legkevésbé kölcsön a vizsgált molekulával, így az amid-A tartomány ebben az esetben nagyjából hasonló helyen található, mint a mátrixizolációs módszerrel felvett IR spektrumban, néhány nyilvánvaló különbséggel. Legfontosabb ezek közül a **Cc**- 3455 cm^{-1} -nél található csúcsa, mely sokkal intenzívebb oldószerben, mint nemesgáz mátrixban. Ez összhangban van a számítások során kapott eredménnyel, miszerint oldószerben az N-terminális *cis* szerkezetek stabilizálódnak, így relatív gyakoriságuk nagymértékben megnő (l. 5.2.1. fejezet). Ezt a jelet kisebb hullámszámok felé haladva egy széles, közepes intenzitású elnyelés követi, amelynek maximuma 3301 cm^{-1} -nél van. Ez legnagyobb valószínűséggel a **Bt**- konformer jele lehet, amely a második legnagyobb relatív gyakorisággal fordul elő DCM-ben a számítások szerint, de feltételezhetően **At**+ elnyelése is megjelenik. Ennek a sávnak a számítottéhoz képest jóval nagyobb intenzitása azt jelenti, hogy az oldószermodell DCM-nél a *transz* konformerek relatív gyakoriságát alulbecsli.

Ugyanezt a tartományt ACN- d_3 -ban de főként DMSO- d_6 -ban mérve megfigyelhető a sávok vöröseltolódása, illetve kiszélesedése, amely az N-H csoport oldószerrel történő kölcsönhatásának erősödésére utal. Ez a leglátványosabban **Cc**- jelenél figyelhető meg, amelyben nincs intramolekuláris hidrogénkötés, így a vöröseltolódás a legnagyobb: a sáv



5.7. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ IR és VCD spektruma $ACN\text{-}d_3$ oldószerben az amid-I és -II tartományban.

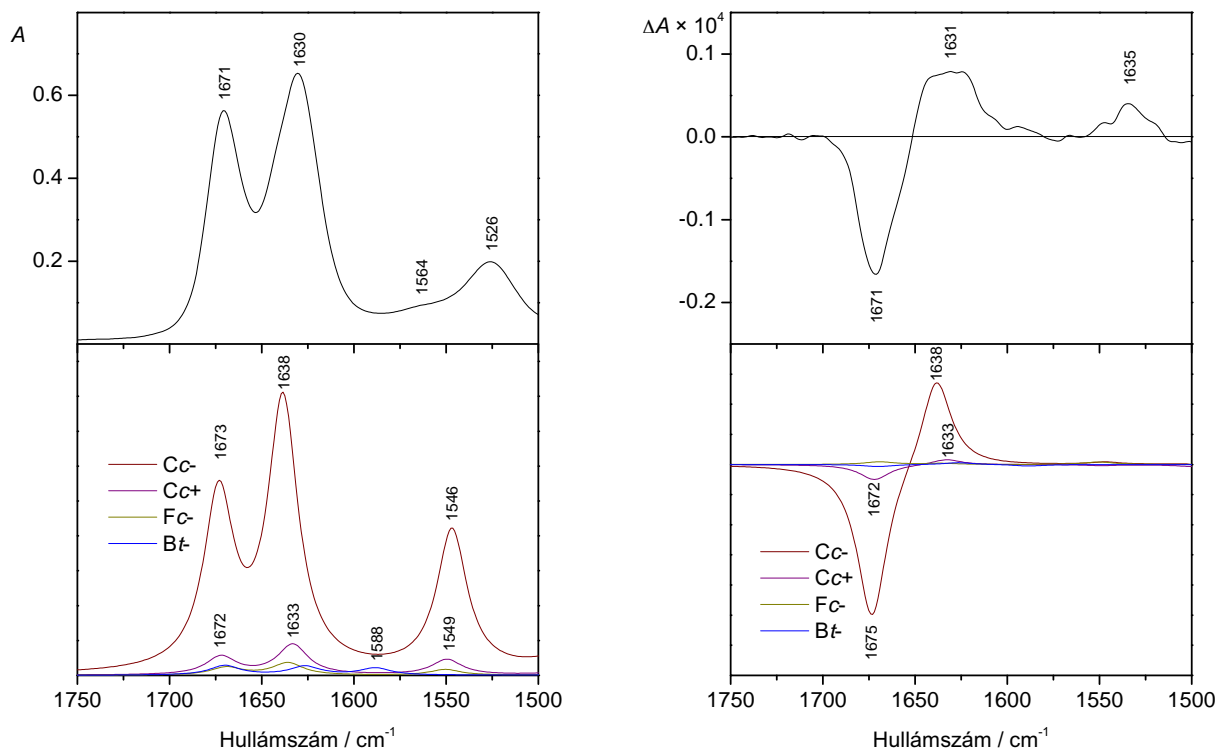
maximuma 3402 , illetve 3291 cm^{-1} -nél van oldószerrel függően (53 , illetve 64 cm^{-1} az eltolódás mértéke a DCM-ben mérthez képest). Az eltolódás mértéke az intramolekuláris hidrogénkötést tartalmazó *transz* konformerekénél sokkal kisebb – és az elnyelések intenzitása eleve kisebb – így jeleik beleolvadnak a **Cc-** sávjába, annak kisebb hullámszámú oldalán vállként megjelenve.

Érdeemes megjegyezni, hogy az oldószermodelles spektrumszámítások nem adnak jó eredményt, mivel ez alapján a *cisz* szerkezetek (**Cc-**) amid-A rezgési módusa alacsonyabb frekvenciájú, mint a *transz* konformereké. Ez ellentétes a kísérletileg kapott eredményekkel – és azzal, amit várunk, hiszen utóbbiakban intramolekuláris hidrogénkötések vannak, amelyek az amid-A rezgési módus frekvenciáját csökkentik.

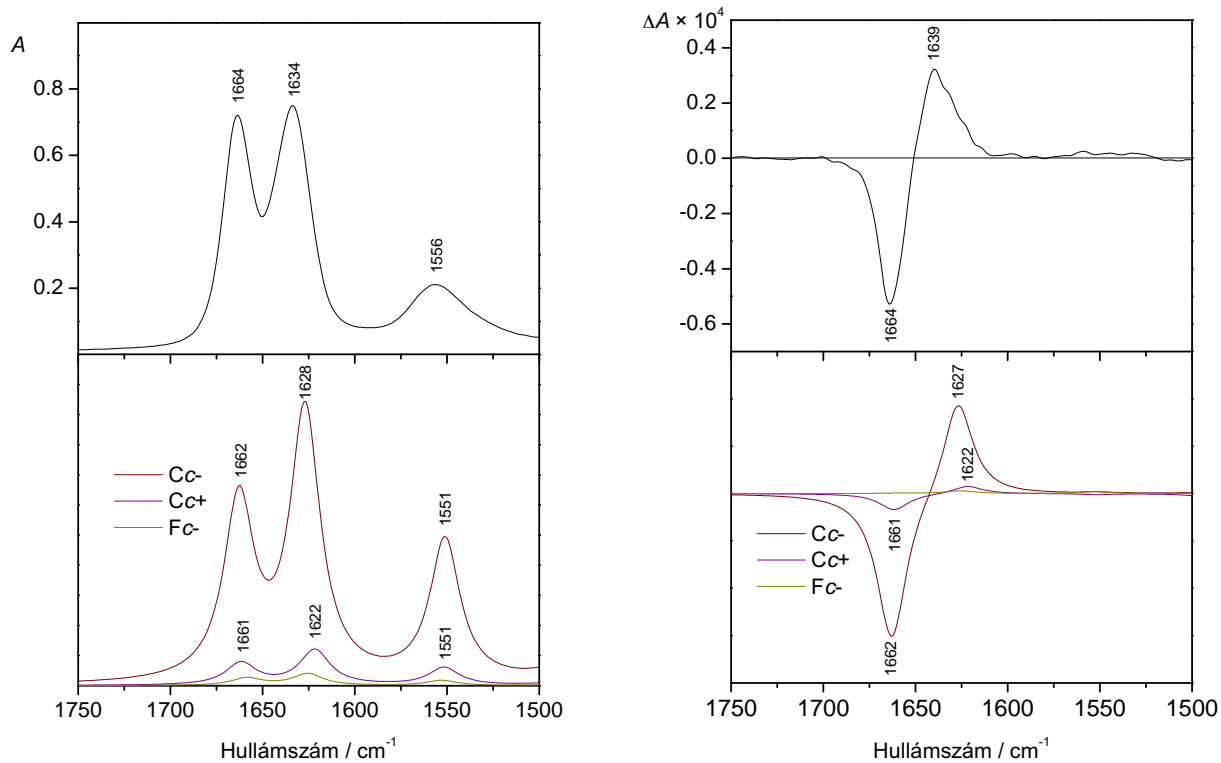
5.2.3.2. Amid-I és -II tartomány

A vizsgált rezgési tartományban a molekulának mind az IR, mind a VCD spektrumát felvettem $ACN\text{-}d_3$, $DMSO\text{-}d_6$ és DCM oldószerben mérve. Ezeket és a legalacsonyabb energiájú konformerek különböző oldószerre számított spektrumát összegeztem a 5.7., 5.8. és a 5.9. ábrán.

$ACN\text{-}d_3$ oldószerben mérve 1670 és 1637 cm^{-1} -nél található két csúcs, amelyek a C-



5.8. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ IR és VCD spektruma DCM oldószerben az amid-I és -II tartományban.



5.9. ábra. Az $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$ IR és VCD spektruma $DMSO\text{-}d_6$ oldószerben az amid-I és -II tartományban.

és N-terminálisok amid-I rezgéseinek felelnek meg. A C-terminális amid-II rezgésének közepes intenzitású elnyelése 1538 cm^{-1} -nél van. A VCD spektrumban az amid-I rezgések csúcsai 1670 , illetve 1638 cm^{-1} -nél jelennek meg, előbbi negatív, utóbbi pozitív előjelű. Felfedezhető az amid-II nagyon gyenge és széles jele is 1537 cm^{-1} -nél. A legnagyobb relatív gyakoriságú (**Cc**–) konformer számított IR és VCD spektruma jó egyezésben van – mind a frekvenciákat, mind az intenzitásokat tekintve – ezekkel a kísérleti eredményekkel. A többi konformer, amelyeknek jeleit még detektálhatnánk, túl közel vannak **Cc**– elnyeléseikhez, ezért azok nem válnak el tőle. Egyetlen sáv van, amelyet a számítási eredmények alapján nem tudunk értelmezni, mégpedig egy a kis intenzitású pozitív sáv az amid-II tartományban. Az 1%-nál nagyobb relatív intenzitású konformerek közül egyetlen egy van, amely erős pozitív elnyeléssel rendelkezik ebben a tartományban, ez az **At**+. Ez a szerkezet lehet felelős az MI-VCD spektrumban ezért a pozitív jelért az amid-II tartományban. Emiatt tűnik valószínűnek a feltételezés, miszerint az oldószermodelles számítások e konformer relatív gyakoriságát valamelyest alulbecslik – mint az már az amid-A tartományban is tapasztalható volt.

DMSO- d_6 oldószerben mért spektrumok hasonlóak, azzal az eltéréssel, hogy a sávok az amid-I tartományban kék- (1664 , illetve 1634 cm^{-1} , azaz -6 , illetve -4 cm^{-1}), az amid-II-ben vöröseltolódást (1556 cm^{-1} , azaz $+19\text{ cm}^{-1}$) mutatnak az acetonitrilben mértékhez képest, amely az erősebb solvatáció eredménye. Az amid-II sáv ennek következtében annyira kiszélesedik, hogy VCD intenzitása gyakorlatilag 0 lesz. A **Cc**– konformer számított IR és VCD spektruma remekül egyezik a kísérleti eredményekkel, a többi konformer jeleit viszont nem lehet azonosítani.

Az IR és VCD spektrum képe DCM oldószerben nagy hasonlóságot mutat a két másik oldószerben felvett spektrumokkal, csak néhány kisebb eltérés figyelhető meg. A sávok intenzitása általában csökken, emiatt a VCD spektrumban az amid-I de főleg az amid-II jelek azonosítása nehezebb. Az IR spektrumban az 1526 cm^{-1} -nél található intenzív csúcs mellett megjelenik 1564 cm^{-1} -nél egy gyenge csúcs is, amely egy intramolekuláris hidrogénkötést tartalmazó konformeré. (A hidrogénkötések kialakulása a hajlítási rezgés, így az amid-II-ben található N–H hajlítási rezgés frekvenciáját is növeli.) Ez nagy valószínűséggel **Bt**– konformerhez rendelhető. (A számítások szerint ennek relatív gyakorisága DCM oldószerben 3,1%.) Ezt alátámasztja az, hogy ez az egyetlen konformer, amelynek amid-II jele ennyire elválna a többiétől (számított frekvencia 1588 cm^{-1}), továbbá ebben legerősebb az intramolekuláris hidrogénkötés (N–H \cdots O=C kötéshossz $1,97\text{ \AA}$). Másfelől a többi oldószerben már az **At**+ jeleként (relatív gyakorisága oldószermodellel 3,2%) asszignált 1536 cm^{-1} -nél található pozitív előjelű VCD sáv a legintenzívebb ebben a tartományban. Ez is alátámasztja azt a korábbi megfigyelést, miszerint az oldószermodell használata alulbecsli az intramolekuláris hidrogénkötést tartalmazó *transz* konformerek arányát a mintában. Ettől függetlenül a kísérleti spektrum jól egyezik a *cisz* amid szerkezetű **Cc**– konformer számított spektrumával, főként az amid-I tartományban.

A különböző oldószerekben felvett IR és VCD spektrumok összehasonlításával levonható az a tanulság, miszerint a számítások a tendenciákat általában jól jelzik előre. Ilyen az intramolekuláris hidrogénkötést tartalmazó *transz* konformerek relatív arányának növekedése az oldószer polaritásának csökkenésével (DMSO- d_6 < ACN- d_3 < DCM), valamint a *cisz* amid **Cc**- konformer túlnyomó aránya még DCM-ben is. Két konformert sikerült még azonosítani, **Bt**-, illetve **At**+ szerkezeteket, előbbit a DCM-ben felvett IR, utóbbit DCM, illetve ACN- d_3 oldószerben felvett VCD spektrum alapján.

5.3. Összefoglalás

A fejezetben az Ac- β^3 -HPro-NHMe MI-IR és -VCD, illetve oldatfázisú spektroszkópiás vizsgálatát ismertettem. A kísérleteket kiegészítették a spektrumok kvantumkémiai úton történő számításai, illetve előbbinél a VCD jelek robusztusságának vizsgálata is. Ezeket összevetve kijelenthető, hogy a vizsgált rendszerekben a molekulának többféle konformere fordul elő mind nemesgáz mátrixban, mind oldatfázisban.

Ar, illetve Kr mátrixban három *transz* (**At**+, **Bt**- és **Dt**-) és egy *cisz* (**Cc**-) szerkezetet sikerült azonosítanom. Utóbbi relatív gyakoriságát a számítások az előzetesen vártnál nagyobbra becsülték. Ezt a kísérleti úton kapott eredmények is alátámasztották, ezek alapján a **Cc**- aránya izolált körülmények között 10% körül van (345 K-en). Ez jóval nagyobb arány, mint az α -aminosavak esetén általában tapasztalható, aminek oka az eggyel több szénatom peptidláncban, amely emiatt flexibilisebb, így az entropiajárulék is nagyobb.

Mind az oldószermodelles számítások, mind a DCM, ACN- d_3 és DMSO- d_6 oldószerben történt IR és VCD vizsgálatok során megfigyelhető volt a *transz* aminosavak arányának drasztikus csökkenése, még a legkevésbé poláros diklór-metánban is a *cisz* szerkezetű **Cc**- konformer volt jelen legnagyobb mennyiségben a mintában.

További fontos eredmény, hogy míg az α -prolin a γ -kanyarok kialakításában nagy szerepet vállal, úgy a β^3 -HPro egység kevésbé vesz részt a pseudo- γ -kanyar kialakításában, viszont szintetikus β -peptidek *cisz* szerkezetű építőegysége lehetne.

A jelek robusztusságának vizsgálata szempontjából a legfontosabb eredmény az, hogy a β^3 -HPro egység konformációs tulajdonságainak feltérképezésekor is megerősítést nyert az a feltételezés, miszerint a szerkezetvizsgálat során – főleg flexibilis molekulák esetén – amikor számítások segítségével kívánjuk a kísérletileg kapott VCD spektrumot értelmezni, nem elég pusztán a rotátorerősségeket figyelembe venni, hanem szükséges azok robusztusságának vizsgálata is, továbbá az oldószerhatást is megfelelően figyelembe kell vennünk.

6. fejezet

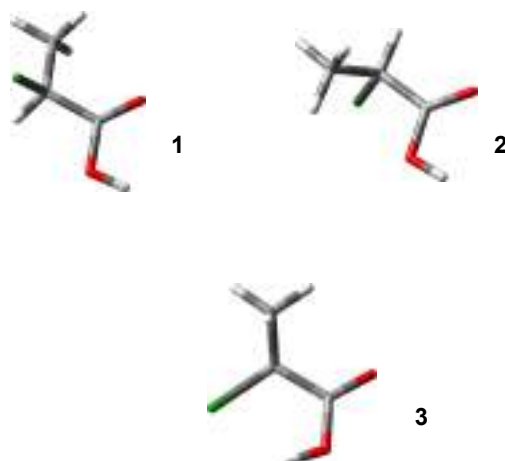
2-klórpropionsav [4]

6.1. Bevezetés

A peptidmodellek vizsgálatánál látható volt (l. 4., illetve 5. fejezet), hogy a molekula konformációja nagymértékben befolyásolja a számított VCD spektrumot. A robusztusság tárgyalásánál már szó volt arról, hogy a konformáció mellett az oldószer, illetve komplexek kialakulása is hasonló változást eredményez (l. 3. fejezet). Emiatt a kölcsönhatásokat figyelembe kell vennünk a számítások elvégzésekor, vagy minimalizálni kell azokat a mérés során. Utóbbi a mátrixizolációs módszer használatával (l. 1.2.2. fejezet) [3, 4, 40–45], előbbi gyakran oldószermodellek használatával lehetséges. Ilyen – az oldószermolekulákat nem tartalmazó, hatásukat implicit módon figyelembe vevő – a polarizálható kontinuum (polarizable continuum, PCM) [67] vagy conductor-like screening (COSMO) [156] modellek. Sok esetben azonban ez nem elégséges és explicit módon figyelembe kell venni a molekula – oldószermolekula közötti kölcsönhatást, mint ahogy azt dimerek – és nagyobb oligomerek –, illetve egyéb komplexek jelenléte esetén is el kell végezni [157].

A hidrogénkötést tartalmazó komplexek VCD spektrumra gyakorolt hatásának jelentőségét számos publikáció bizonyítja: 0,1–0,2 mol·dm⁻³ koncentrációjú oldatban β -laktámok [158], (S)-2-fenil-propionsav [159], α -ariloxilpropánsav [160], tetrahidrofurán-2-karbonsav [161] és (-)-kamfánsav [162] esetén dimerek, (S)-2,2'-dimetil-bifenil-6,6'-dikarbonsav [163] esetén tetramerek voltak jelen a VCD spektrumban. A felsorolt vegyületek monomerjeinek VCD spektrumát csak nagyon híg oldatban tudták felvenni, és mindegyik esetben megfigyelhető volt a VCD spektrum nagymértékű változása a dimerizációval.

Ha a vizsgált molekulánk az oldószerrel komplexet képez, az ugyancsak befolyásolja a VCD spektrumot. Bizonyos esetekben az alapvetően akirális oldószermolekula jele – amely egyébként zérus lenne – a komplexképződést követően láthatóvá válik. Ez a jelenség a kiralitás transzfer (chirality transfer, CT), mely mind erős – mint amilyen a *D*-tejsav – víz [164, 165], metil-laktát – víz [166] és modellpeptid – víz komplexek [45] –, mind gyenge – mint amilyen a kámfor·CDCl₃ és az *R*-(+)-pulegon·CHCl₃ [167] – hidrogénkötéses



6.1. ábra. Az *S*-(-)2-klórpropionsav monomer konformereinek szerkezete B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

rendszereknél kimutatható. Ezekről Sadlej és munkatársai egy összefoglaló munkát is publikáltak [168].

6.2. Eredmények

6.2.1. 2-klórpropionsav monomer

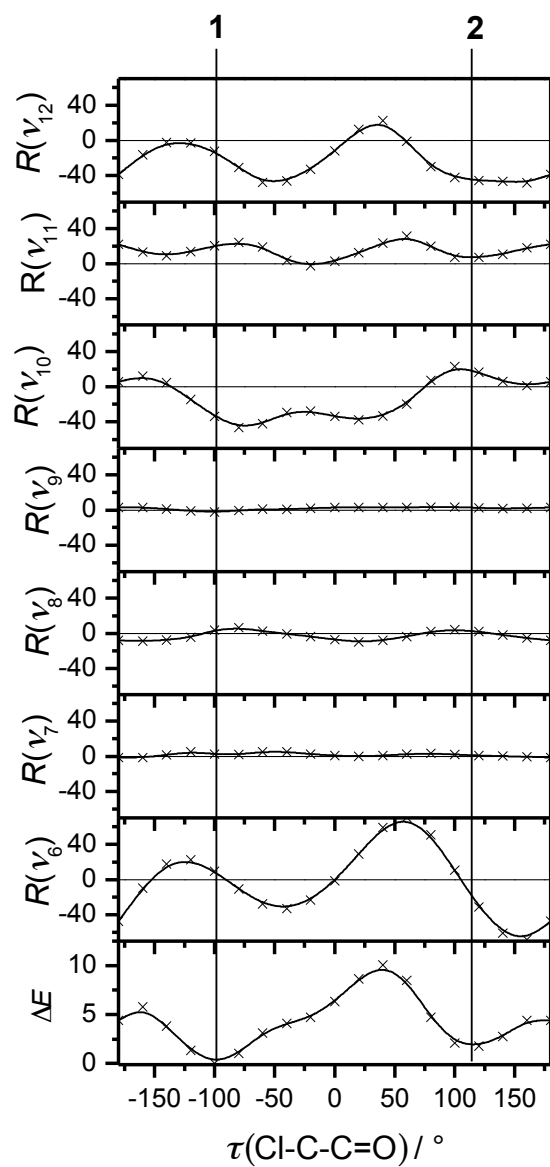
6.2.1.1. Számítási eredmények

Az 6.1. ábrán láthatók a geometria optimalás során végeredményül kapott szerkezetek. Mind B3LYP/6-31++G** mind B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison három minimum létezik, ebből kettő *transz* – amelyek csak a Cl–C–C=O torziós szögben különböznek – egy pedig *cisz* karbonsav. Előbbiek relatív aránya aug-cc-pVTZ bázison 59, illetve 35%, utóbbié 6% körül van, ami magasabb, mint más karbonsavaknál [169]. Ennek oka az O–H hidrogénje és a Cl atom között kialakuló gyenge H-kötés.

Az 6.1. táblázatban található az *S*-klórpropionsavra a B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison számított rezgési frekvenciák, intenzitások, rotátorerősségek és az egyes rezgési módusok robusztusságai, a kísérletileg vizsgált spektrális tartományban (1900–1200 cm⁻¹). Érdekes megjegyezni, hogy esetünkben – és ez általában is igaz – a karbonil nyújtási rezgés rotátorerőssége – ellentétben az IR intenzitással – nem túl nagy, és robusztussága is kicsi: $|\zeta| \ll 10$. Ennek oka a csoport kiralitáscentrumtól való távolsága. Emiatt a rotátorerősség nem lesz túl nagy, így annak aránya az elektromos átmeneti dipólmomentummal (amely elég nagy érték, ami miatt az IR intenzitás nagy értéket vesz fel) sem lesz az. A két *transz* klórpropionsavnál az előjelek egymással ellentétesek, aminek oka, hogy különbözik a két konformerben a Cl–C–C=O torziós szög, így a karbonilcsoportok irányultsága is más lesz a kiralitáscentrumhoz képest. Mivel a rotátorerősségek nagyfokú érzékenységet

6.1. táblázat. Az S(-)-2-klórpropionsav monomer konformereinek IR frekvenciái ($\tilde{\nu}$ cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátoreőrösségei (R 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robusztusságuk (ζ ppm-ben) az 1200–1900 cm^{-1} spektrális tartományban SQM B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

módus	konformer 1			konformer 2			konformer 3					
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
ν_{12}	1224.5	21	-11	-22.1	1242.7	22	-48	-67.8	1226.4	28	-11	-14.5
ν_{11}	1288.5	4	19	152.7	1317.1	2	5	100.5	1292	11	-10	-20.9
ν_{10}	1372.8	46	-35	-26.3	1339.2	39	20	16.4	1330.8	365	14	1.5
ν_9	1389	6	-3	-11.7	1386.8	6	3	15.5	1380.8	16	6	12.7
ν_8	1449.7	9	5	16.7	1451.4	13	4	10.4	1454	15	-10	-24.5
ν_7	1453.7	7	1	11.3	1459.7	5	0	4.7	1460.5	3	0	-3.1
ν_6	1766.1	288	8	1.3	1758.9	330	-17	-2.3	1776.9	286	-69	-10.7



6.2. ábra. Az S-(-)-2-klórpropionsav $\nu_6 - \nu_{12}$ normálmódusai rotátorerősségeinek változása a Cl-C-C=O diéderes szög függvényében B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison. A többi geometriai paramétert optimizáltam. A rotátorerősségek (R) 10^{-44} esu²·cm²-ben, az energiakülönbségek (ΔE) kJ·mol⁻¹-ben vannak megadva.

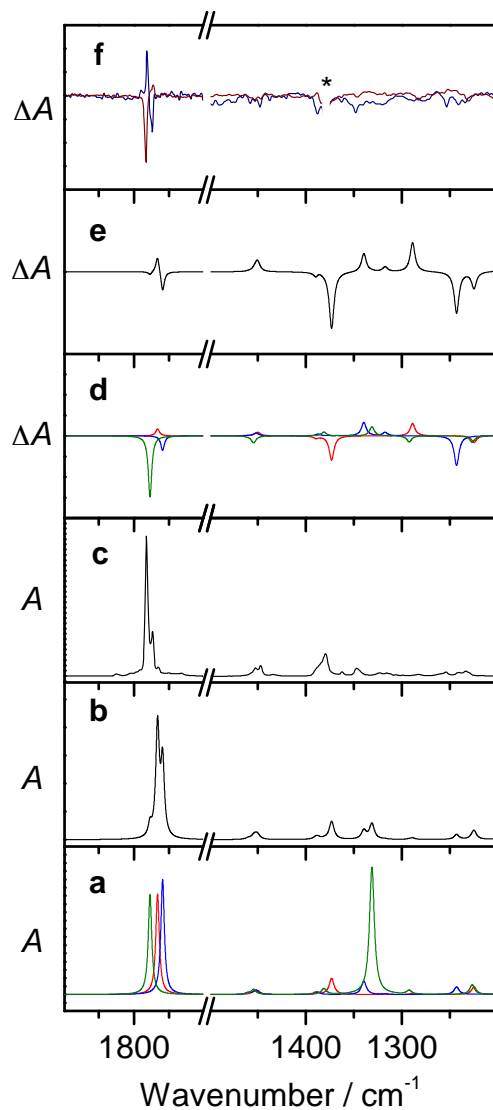
mutatnak a molekulaszervezet megváltozására (l. 4. fejezet), így ennek a torziós szögnek a változása is befolyásolja a számított VCD intenzitásokat. A 6.2. ábrán látható a számított rotátorerősség függése a Cl–C–C=O torziós szögtől az 1900–1200 cm⁻¹ spektrális tartományban található rezgési módusokra. A számítások során részleges geometriai optimalizálás történt, azaz a torziós szög fixen maradt, a molekula többi részét optimalizáltam, ennek energiáját és rotátorerősségét számítottam a torziós szög függvényében. Látható, ahogy a rotátorerősség többször is előjelet vált a Cl–C–C=O szög egy teljes körbefordulásával. A karbonilcsoport esetén a számított VCD jelek erősen fluktuálnak, de az energiaminimumok környékén nulla közeli értékek. A ν_7 , ν_8 , ν_9 (H–C–H deformációs rezgések) – módus rotátorerőssége közel nulla minden szögre. ν_{10} , ν_{11} , ν_{12} módusok azok, amelyek számított VCD intenzitásának abszolútértéke egyik vagy másik konformer esetén nagyobb – és ezek robusztusnak is nevezhető jelek –, de itt is igaz a rotátorerősség erős fluktuációja a torziós szög változásával. Összefoglalva elmondható, hogy a számított VCD spektrumok értelmezésénél nagyfokú körültekintéssel kell eljárni, mivel a számítások nagy része izolált molekulára történik, viszont a valóságban a molekula a környezetével kölcsönhatásba léphet, amely a geometriáját megváltoztathatja – így a rotátorerősséget, akár annak előjelét is.

6.2.1.2. Monomerek IR spektruma

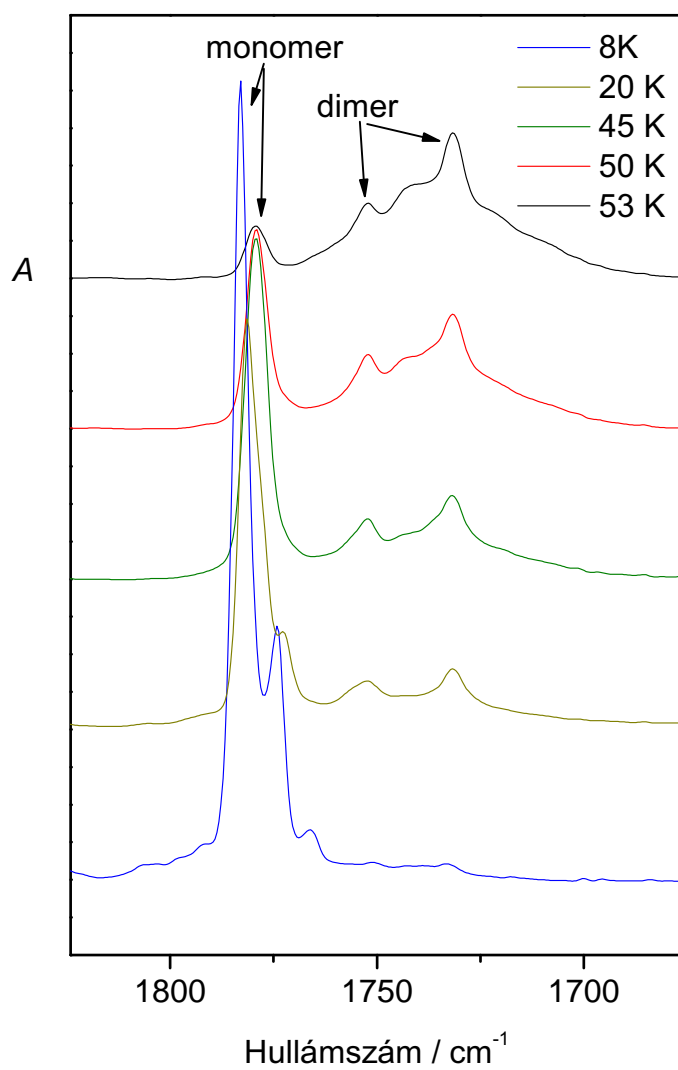
A 6.3. ábrán látható a 2-klórpropionsav monomerek számított, illetve kísérleti MI-IR és MI-VCD spektruma. Ezek összevetésével látszik a jó egyezés, azaz mátrixizolációs körülmények között főként monomerek vannak jelen, dimerek jelei csak nyomokban láthatók. További bizonyíték erre, hogy ha a mátrixot felmelegítjük, akkor dimerek képződnek és a hozzá tartozó jelek megnőnek, míg a monomerek jelei lecsökkennek, illetve eltűnnek (6.4. ábra). Így a monomer 1782 és 1774 cm⁻¹-nél található karbonil rezgések is, amely a két *transz* klórpropionsav konformerhez tartozik. Ezzel szemben egy széles elnyelési sáv jelenik meg, amelyből két csúcs emelkedik ki 1752 és 1732 cm⁻¹-nél, ezek a klórpropionsav dimerek szimmetrikus és antiszimmetrikus karbonil nyújtási rezgései. A monomerek és dimerek karbonil rezgései közti frekvenciakülönbség jól egyezik a számított eltéréssel. A kísérleti eredményeket a 6.2. táblázatban foglaltam össze, látható, hogy a rezgések döntő hányada a két *transz* klórpropionsavhoz tartozóként asszignálható. Ezen felül a *cisz* konformer legintenzívebb jelei is megjelennek a spektrumban, azaz a C=O és az O–H nyújtási rezgés 1791 cm⁻¹-nél és utóbbi mátrixeffektus miatt felhasadt jele 3497, illetve 3491 cm⁻¹-nél.

6.2.1.3. Monomerek VCD spektruma

Annak érdekében, hogy a számításokat – amelyeket az *S* enantiomerre végeztem el – a kísérleti eredményekkel összevethessük, mind az *S*(-)-, mind az *R*(+)-2-klórpropionsav



6.3. ábra. a) A 2-klórpropionsav konformerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) IR spektruma. 1: piros vonal, 2: kék vonal, 3: zöld vonal. b) A konformerek Boltzmann-populációjával súlyozott kompozit IR spektrum. c) Az S-(-)-2-klórpropionsav IR spektruma Ar mátrixban 8 K hőmérsékleten. d) A 2-klórpropionsav konformerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) VCD spektruma. 1: piros vonal, 2: kék vonal, 3: zöld vonal. e) A konformerek Boltzmann-populációjával súlyozott kompozit VCD spektrum. f) Az S-(-)- (sötétkék vonal) és R-(+)-2-klórpropionsav (bordó vonal) VCD spektruma Ar mátrixban 8 K hőmérsékleten. Az alapvonal nem tökéletes korrekciójaként visszamaradt és törölt sáv csillaggal jelölve.



6.4. ábra. A C=O nyújtási tartomány ($1675\text{--}1815\text{ cm}^{-1}$) a 2-klórpropionsav dimerek keletkezésakor, a mátrix hőkezelése során.

6.2. táblázat. Az S(-)-2-klórpropionsav monomer MI-IR és MI-VCD spektrum 1200 – 1900 cm^{-1} tartományának asszignációja.

konformer	rezgési módus	$\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$		VCD előjel	
		szám.	kís.	szám.	kís.
3	ν_6	1778	1791	–	nem látható
1	ν_6	1766	1782	+	+
2	ν_6	1759	1773	–	–
2	ν_7	1460	1457	0	nem látható
1	ν_7	1454	1453	+	–(?) ^b
2	ν_8	1451	1451 ^a	+	–(?) ^b
1	ν_8	1450	1447	+	–(?) ^b
1	ν_9	1389	1388	–	–
2	ν_9	1387	1385	+	nem látható
1	ν_{10}	1373	1380	–	–
2	ν_{10}	1339	1348	+	–(?) ^b
3	ν_{10}	1331	1343	+	nem látható
2	ν_{11}	1317	1324	+	nem látható
1	ν_{11}	1289	1284	+	+
2	ν_{12}	1243	1259, 1254 ^c	–	–
1	ν_{12}	1225	1240, 1233 ^c	–	–

^a váll

^b bizonytalan

^c mátrixeffektus

MI-VCD spektrumát felvettem (6.3. ábra), melyek egymásnak – az elmélettel összhangban – tükörcsképei, ha nem is tökéletesen azok. Ennek oka vagy a nem tökéletes alapvonal-korrektció, vagy optikailag szennyező anyag jelenléte a mintákban. Utóbbi feltételezést alátámasztja, hogy az *R* enantiomert tartalmazó üvegben idővel láthatóan szennyezés jelent meg, amit vákuumbepárlással sem lehetett eltávolítani. A két enantiomer IR spektruma gyakorlatilag megegyezik, azonban a VCD spektrumot az esetlegesen jelen lévő szennyező nagyobb mértékben befolyásolhatja, lévén a vizsgált tartományban a klóropionsav VCD jelintenzitásai kicsik.

Összefoglalva elmondható, hogy a VCD spektrum vizsgált tartományában az esetek többségében gyenge, nem-robusztus jelek vannak, amelyek alapján a vizsgált molekula konfigurációja csak nagy körültekintés mellett határozható meg. Egyedül a C=O nyújtási rezgés jele az intenzív, viszont a számítások alapján ez sem robusztus módus. Ez a jelenség nem csak a karbonsavaknál, hanem ketonoknál [73], illetve amidoknál [3] (továbbá 1. 4. fejezet) is megfigyelt, oka általában az, hogy a karbonilcsoport távol van a kiralitás-centrumtól így nem csatolódik azokkal azokkal a módusokkal, amelyekben utóbbi rezgése részt vesz.

Annak ellenére, hogy a karbonil rezgési módusok nem számítanak robusztusnak, a számított és kísérletileg kapott előjelek megegyeznek, és az intenzitások is hasonlóak, így a két VCD spektrum jól egyezik (6.3. ábra). Az **1** konformer számított jele 1759 cm^{-1} -nél, a mért 1774 cm^{-1} -nél, a **2** konformeré 1766 cm^{-1} -nél, illetve 1782 cm^{-1} -nél található, azaz a két konformer jelei közt kísérletileg mérhető frekvenciaeltérést a számítás jól reprodukálja. Így levonható a következtetés, miszerint a használt bázis (B3LYP/aug-cc-pVTZ) elegendően magas a probléma modellezéséhez. Az $1500\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ közötti spektrális tartományban a kísérlet úton kapott VCD spektrumban kicsi, nehezen reprodukálható jelek vannak, amelyek jól magyarázhatók azzal, hogy a számított spektrumban az ebbe a tartományba eső rezgési módusok (ν_7 , ν_8 , ν_9) rotátorerőssége kicsi. Ugyanez igaz – a számításokkal ellentétben – ν_{10} , ν_{11} és ν_{12} módusok rezgéseire is. Ennek oka, hogy ezek jelek kiszélesedésnek, így kevésbé láthatók a spektrumban. Mivel ezek a rezgések a klóratomhoz köthetők, ezért a kiszélesedés oka lehet a Cl atom kölcsönhatása a mátrixszal, az izotópeffektus (^{35}Cl , illetve ^{37}Cl egymástól kissé eltérő frekvenciái), illetve mátrixeffektus. További ok lehet az, hogy ezeknek a rezgéseknek az IR intenzitása sokkal kisebb a karbonilcsoport jelenél, így ezeknek a módusoknak a VCD jelintenzitás jel/zaj viszonya rosszabb lesz. Ez utóbbit ki lehet küszöbölni, ha a minta leválasztása tovább tart, így ezeknek a jeleknek is elegendően nagy lesz az IR jelintenzitása, azonban ekkor a mátrix olyan vastag lett, hogy nagyfokú fényszórása miatt a VCD spektrumot nem lehetett felvenni.

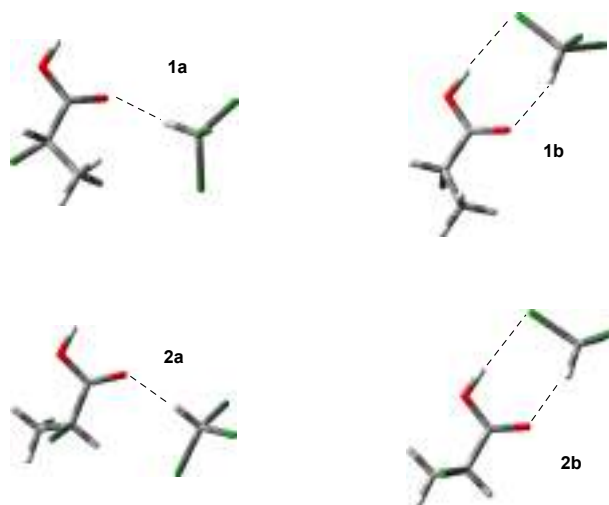
6.3. táblázat. Az $S(-)-2$ -klórpropionsav – $CHCl_3$ komplexek rezgési frekvenciái ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $km \cdot mol^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , $10^{-44} \text{ esu}^2 \cdot cm^2$ -ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) SQM B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

kompl. módus ^a	mon. módus ^b	1a			1b			2a			2b						
		$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ				
ν_{15}	ν_{12}	1225.6	23	-8	-15.1	1229.1	20	26	91.2	1245	20	-76	-29.2	1247.8 ^c	41	-60	-69.8
ν_{14}	ν_3^*	1243.2	24	1	1.1	1246.2	31	-2	-10.2	1249.3	17	33	3.5	1242.3 ^c	19	9	52
ν_{13}	ν_2^*	1244.2	24	-6	-9.2	1253.8	24	1	1.8	1250.8	29	0	-27.0	1254.9	23	-3	-10.7
ν_{12}	ν_{11}	1290.7	3	19	198.5	1303.6	2	12	208.5	1322.7	3	2	35.8	1318.2	5	13	96.3
ν_{11}	ν_{10}	1378.2	50	-36	-24.6	1386	58	-28	-25.1	1347.9	46	22	15.3	1361.6	39	26	20.4
ν_{10}	ν_9	1391.4	6	-3	-13.3	1388.8	5	-21	-41.8	1388.4	8	0	3.8	1389.1	12	2	6.1
ν_9	ν_8	1450.2	12	4	9.9	1449.4	9	6	19.3	1451.5	13	6	16.4	1450.8	13	2	5.7
ν_8	ν_7	1455.4	9	7	35.7	1454.1	9	0	6.9	1459.9	6	-1	-1.3	1459.4	7	3	15.2
ν_7	ν_6	1755.1	420	1	0.2	1741.8	294	25	3.9	1744.1	445	-13	-1.4	1734.9	338	-14	-1.9

^a A számozás az $S(-)-2$ -klórpropionsav – $CHCl_3$ komplex összes rezgés módusának figyelembevételével történt.

^b Az $S(-)-2$ -klórpropionsav, valamint a $CHCl_3$ (csillaggal jelölve) monomerek megfelelő rezgési módusa.

^c Az $S(-)-2$ -klórpropionsav, valamint a $CHCl_3$ rezgési módusainak sorrendje a másik három komplexhez képest felcserélődött.



6.5. ábra. Az S-(-)-2-klórpropionsav – CHCl_3 komplexek konformereinek szerkezete B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

6.4. táblázat. Az S-(-)-2-klórpropionsav monomer **1** és **2** konformerének rezgési frekvenciái ($\tilde{\nu}$, skálázatlan, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben) és rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) B3LYP/aug-cc-pVTZ bázis IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával CHCl_3 oldószerre.

módus	konformer 1			konformer 2		
	$\tilde{\nu}$	I	R	$\tilde{\nu}$	I	R
ν_{12}	1242.3	27	-35	1262.7	29	-49
ν_{11}	1306.6	14	30	1340.6	3	10
ν_{10}	1397.8	79	-49	1361.8	86	26
ν_9	1416.6	8	-2	1413.1	7	3
ν_8	1480.5	12	2	1480.7	18	3
ν_7	1484.4	10	5	1489.5	7	-1
ν_6	1774.7	484	-11	1764.3	547	-7

6.2.2. 2-klórpropionsav – CHCl₃ komplex

6.2.2.1. Számítási eredmények

A 6.5. ábrán láthatók a geometria optimalás végeredményeként kapott komplexek. Mivel a *cisz* monomer relatív gyakorisága nem túl nagy, ezért annak kloroformos komplexeit a számítás során nem vettem figyelembe. Mind az **1**, mind a **2** konformer két különböző komplexet alkot, ezek jelölése rendre **1a**, **1b**, **2a**, **2b**. Ezek közül az **a** módosulatokban (**1a**, **2a**) a kloroform hidrogénje a klórpropionsav molekula karbonilcsoportjának oxigénjével (Cl₃C–H ... O=C), míg a **b** jelűeknél (**1b**, **2b**) ezen a hidrogénkötésen kívül egy másik, gyenge kölcsönhatás is létesül a kloroform egyik klóratomja és a karbonsav hidroxilcsoportjának hidrogénje között (C–Cl ... H–O). Ezen kívül több lehetséges kiindulási geometriát figyelembe vettem (például olyan komplexet, amelyikben a kloroform hidrogénje és a klórpropionsav klóratomja között van kölcsönhatás), de mindegyik a felsorolt négy komplex valamelyikébe alakult át az optimalás során. A sűrűségfüggvény elmélettel (B3LYP/aug-cc-pVTZ) kapott eredményeket összehasonlítva a perturbációs módszerrel (MP2/6-31++G**) kapottakkal elmondható, hogy nincs lényegi eltérés a geometriák között. A legnagyobb eltérés a C=O ... H–O távolságban 3.9 pm (~ 2%) az **1a** komplexnél, de a többire ez minden esetben 1% alatt van. A H ... Cl távolságra nagyjából 2–3 pm az eltérés a **2a** és **2b** komplexekre (~ 1%). Csak néhány intermolekuláris torziós szög esetén látható nagyobb eltérés, itt ez lehet akár 50° is.

A sűrűségfüggvény elmélettel kapott eredményeket alapul véve 0 K hőmérsékleten **2a** a legstabilabb komplex, ezt követi rendre **1b**, **1a** és **2a** ($\Delta G_{0K}^0 = 0,42, 0,48,$ illetve $0,79$ kJ·mol⁻¹). Érdekes megjegyezni, hogy ezek a szabadentalpiakülönbségek a számítás hibahatárán belül vannak, azonban ekkora eltérés már okozhatja hőkezelés után a magasabb energiájú komplexek átalakulását az alacsonyabbikba. Talán nem meglepő az eredmény, miszerint a komplexképződés a monomer nem-robusztus jeleit változtatja meg leginkább (v. ö. 6.1. és 6.3. táblázat). A változás akár egy nagyságrendnyi is lehet, az **1** monomer C=O rezgési módus (ν_6) rotátorerőssége 8×10^{-44} esu²·cm², míg ugyanez 1×10^{-44} , illetve 25×10^{-44} esu²·cm² az **1a** és **1b** komplexekre. Azonban a robusztus rezgési módusok esetén is lehetséges a rotátorerősség nagyfokú változása komplexképződés során, a **2** monomer ν_{12} rezgési módusának rotátorerőssége -48×10^{-44} esu²·cm², ugyanez **2a**, illetve **2b** komplexekre -76×10^{-44} , illetve -60×10^{-44} esu²·cm². Ez alapján megállapítható, hogy a számított VCD jelintenzitásokat jelentősen befolyásolja a hidrogénkötésű komplexek keletkezése, még a gyenge hidrogénkötéseké is (mint amilyen az **1b** és **1b** komplexekben vannak jelen). A változás még a robusztus jeleknél is közel 20–40%-os, nem-robusztusaknál legalább 2–3-szoros, de az egy nagyságrendet megközelítő is lehet.

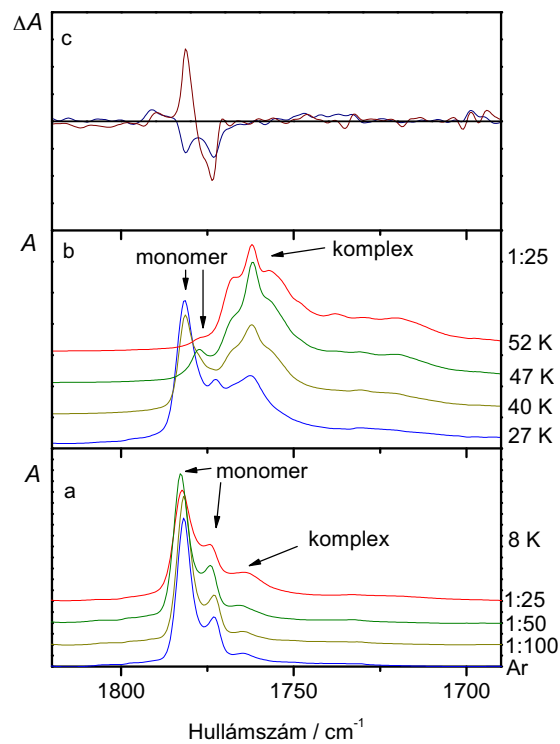
Arra már a korábbi, kiralitás transzfert vizsgáló munkák (l. 6.1. fejezet) alapján lehet következtetni, hogy a komplexált kloroform C–Cl, illetve C–H csoportok rezgéseinek rotátorerősségei kicsik lesznek, így azok jelei nem robusztusak. Azonban van néhány

kivétel ahol a számított VCD jelintenzitások és robusztusságok aránylag nagyok (l. 6.3. táblázat), ilyen a **2b** komplex H–C–Cl hajlítási módusa 1242,3 cm⁻¹-nél, ahol $R = 9 \times 10^{-44}$ esu²·cm², illetve $\zeta = 52$ ppm.

A kloroform molekulák hatását implicit módon is figyelembe vettem oldószermodell alkalmazásával, az eredményeket az 6.4. táblázatban foglaltam össze. Ezt összevetve a monomerekre kapott értékekkel (6.1. táblázat) megállapítható, hogy nem csupán a komplexképződés, hanem pusztán az oldószermolekulák által elektromos tér is alapvető hatással bír a számított VCD spektrumra. Legjobb példa erre az **1** monomer C=O rezgésének előjelváltása. Ezt magyarázhatnánk azzal a már korábban tett megállapításunkkal, miszerint egyensúlyi geometria közelében a C=O rezgési módus rotátorerőssége kicsi és Cl–C–C=O torziós szög változásával előjelet vált (l. 6.2. ábra). Ebben az esetben azonban az előjel megváltozása főként az oldószermolekulák által keltett elektromos térrel hozható összefüggésbe. Ha az **1** monomer vákuumban kapott geometriájának rotátorerősségét PCM modell segítségével számítjuk ki, és ezt összevetjük a kizárólag oldószermodellel számolt rotátorerősséggel, azt tapasztaljuk, hogy azok nagyjából megegyeznek (–8,5, illetve -11×10^{-44} esu²·cm²). Ezzel szemben a PCM modellel kapott geometria rotátorerősségét vákuumban számítva ugyanazt kapjuk, mint a teljesen vákuumban számított esetben ($R = 8 \times 10^{-44}$ esu²·cm²), tehát a molekula geometriájának megváltozása önmagában nem befolyásolja a rotátorerősség előjelét. Más rezgési módusoknál viszont a geometria megváltozása okozza az előjel megváltozását, ilyen a C–O–H hajlítási rezgése is. Ebben az esetben az oldószer sokkal jobban megváltoztatja a geometriát, mint a C=O csoportnál: előbbinél a változás $\Delta r_e(O-H) > 1,4$ pm, illetve $\Delta r_e(C-O) < -1,2$ pm, utóbbinál $\Delta r_e(C=O) < 0,4$ pm, illetve $\Delta \tau_e(Cl-C-C=O) < 2^\circ$

6.2.2.2. Komplexek IR spektruma

A 2-klórpropionsav – kloroform komplexek előállításához és vizsgálatához a klórpropionsavat kloroformot is tartalmazó Ar mátrixban választottam le, a CHCl₃:Ar arány 1:100 és 1:25 között volt. A 6.6. ábrán látható, hogy a C=O nyújtási tartományban 1748 és 1773 cm⁻¹ között egy új sáv jelenik meg, amely a kloroformos komplexek jeleit tartalmazza. Ezt alátámasztja, hogy a sáv intenzitása a kloroform arányának növekedésével nő. Az 1:25 CHCl₃:Ar arányú mátrixot hőkezelve a sáv intenzitása tovább nő, maximuma 1762 cm⁻¹-nél található, miközben a klórpropionsav monomer jele fokozatosan csökken, majd eltűnik. Ugyanígy az O–H nyújtási tartományban **1** (kísérlet: 3560 cm⁻¹-nél, számított: 3573 cm⁻¹-nél), illetve **2** monomer jele (kísérlet: 3566 cm⁻¹-nél, számított: 3578 cm⁻¹-nél) fokozatosan csökken hőkezelés hatására, miközben egy új csúcs jelenik meg és növekszik 3460 cm⁻¹-nél. Kisebb hullámszámoknál a CHCl₃ C–Cl nyújtási rezgésénél (argon mátrixban 766 cm⁻¹-nél) 5 cm⁻¹-rel magasabb, illetve 8 cm⁻¹-rel alacsonyabb hullámszámoknál, továbbá kisebb intenzitású csúcsok 632, 986, 1051, 1083, 1100, 1155, 1161, 1164, 1187, 1192, 1197, 1245, 1458 és 3481 cm⁻¹-nél jelennek meg hőkezelés során.



6.6. ábra. A 2-klórpropionsav $C=O$ nyújtási tartománya ($1815\text{--}1675\text{ cm}^{-1}$) a) MI-IR spektrum tiszta Ar, illetve 1:100, 1:50 és 1:25 $\text{CHCl}_3\text{:Ar}$ arányú mátrixokban 8 K hőmérsékleten. b) MI-IR spektrumok 1:25 $\text{CHCl}_3\text{:Ar}$ arányú mátrixban hőkezelés során. c) R-(+)-2-klórpropionsav MI-VCD spektruma 1:25 $\text{CHCl}_3\text{:Ar}$ arányú mátrixban (sötétkék vonal) és tiszta Ar mátrixban (bordó vonal) 8 K hőmérsékleten.

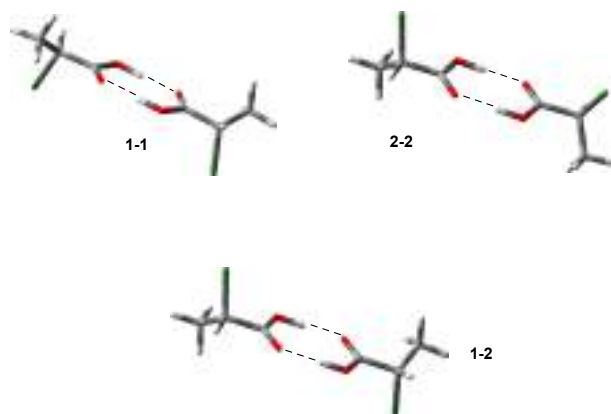
A számított eredményekkel összevetve arra a megállapításra juthatunk, hogy az új jelek mind magyarázhatók **1b**, illetve **2b** jelenlétével a mátrixban. Az 1762 cm^{-1} -nél található csúcs 20 cm^{-1} -rel alacsonyabb hullámszámnál van, mint **1** monomer C=O nyújtási rezgésének jele, a számított különbség 24 cm^{-1} . Nem ilyen jó az egyezés **2b** komplexnél, ahol a monomerhez képest 11 cm^{-1} a kísérleti úton mért eltolódás, a számított azonban 24 cm^{-1} . **1a** és **2a** komplexekre a számítás ezeknél jóval alacsonyabb rezgési frekvenciákat jósol, így azok valószínűleg nincsenek jelen akkora mennyiségben a mátrixban, hogy jeleik láthatóvá váljanak. Az O–H tartományban a komplexek jelének maximuma (3460 cm^{-1} -nél) 100 , illetve 106 cm^{-1} -rel tolódott el kisebb hullámszám felé **1**, illetve **2** monomer jelétől, ami jól egyezik a számított eredményekkel (113 , illetve 114 cm^{-1}). Az **1a**, illetve **2a** komplexekre a számított eltolódások néhány cm^{-1} -et jósolnak, azonban a monomer csúcsának közelében nem jelennek meg új csúcsok hőkezelés hatására. A kloroform C–Cl nyújtási rezgésre számított eltolódások ($+5$, illetve -8 cm^{-1}) nem egyeznek annyira jól a mért értékekkel ($+18$, illetve -18 cm^{-1} **1b**, illetve **2b** komplexekre), de még ebben az esetben az esetben is feltételezhetjük, hogy a jelek ezekhez a komplexekhez tartoznak.

Érdekes jelenség, hogy hőkezelés során a klórpropionsav dimerek jelei (6.2.3. fejezet) nem jelennek meg a kloroformot is tartalmazó Ar mátrixban 1752 , illetve 1732 cm^{-1} -nél. Ez magyarázható kloroformos komplexek keletkezésével, ugyanis a CHCl_3 mind **1b**, mind **2b** esetén a C=O és az O–H csoporttal alakít ki hidrogénkötést, így gátolva a dimerek keletkezését. A kísérleti eredmények alapján kijelenthető, hogy a kloroformot tartalmazó mátrixban hőkezelés előtt mind a négy lehetséges szerkezet jelen lehet kis koncentrációban, azonban a hőmérséklet emelésével **1b** vagy **2b** komplexek keletkeznek nagyobb mennyiségben. A két szerkezet közül az egyiket az MI-IR kísérleti eredmények alapján nem lehet egyértelműen választani.

6.2.2.3. Komplexek VCD spektruma

A 2-klórpropionsavat 1:25, illetve 1:100 CHCl_3 :Ar mátrixban leválasztva, 8 K hőmérsékleten mérve a komplexek VCD spektruma megkapható. Hőkezelést nem alkalmazhattam, mivel annak hatására a mátrix a fényt jobban szórja, így a kapott VCD spektrum rossz minőségű, zajos lesz. A mért spektrumban a C=O nyújtási tartományban két negatív csúcs található 1781 és 1773 cm^{-1} -nél (6.6. ábra). Ez összhangban van a PCM számításokban kapott eredményekkel, azonban ezek a jelek nem robusztusak, így az egyezés lehet véletlen is. Az viszont megállapítható, hogy mind a számított, mind a kísérleti eredmények azt mutatják, hogy már egy kis külső perturbáció – nevezetesen a kloroform molekulákkal gyenge hidrogénkötésű komplexek képződése – is nagymértékben megváltoztathatja a vizsgált molekula monomerjének (itt **1** konformer) VCD spektrumát. Sajnos a komplexek sávja a hőkezelés hiánya miatt nem látszik, mivel azokból a mátrixban túl kevés van, így jelük gyenge.

Érdemes megjegyezni, hogy – korábbi munkákkal összhangban [61] – az oldószermo-



6.7. ábra. Az *S*-(-)-2-klórpropionsav dimer konformereinek szerkezete *B3LYP/aug-cc-pVTZ* bázison.

dellel kapott számítási eredmények kevésbé pontosak, mint az oldószermolekulát explicit módon figyelembe vevő számítások.

6.2.3. 2-klórpropionsav dimer

6.2.3.1. Számítási eredmények

A geometria optimalása során a *S*-(-)-2-klórpropionsav dimerekre három szerkezet adódott, ezek a 6.7. ábrán láthatók és jelölésük **1-1**, **1-2**, **2-2** (a számok az egyes monomereket jelölik), ezek relatív aránya 45, 38, illetve 17% 298 K hőmérsékleten. A számítások alapján a *cis* konformer nem képez stabil dimereket.

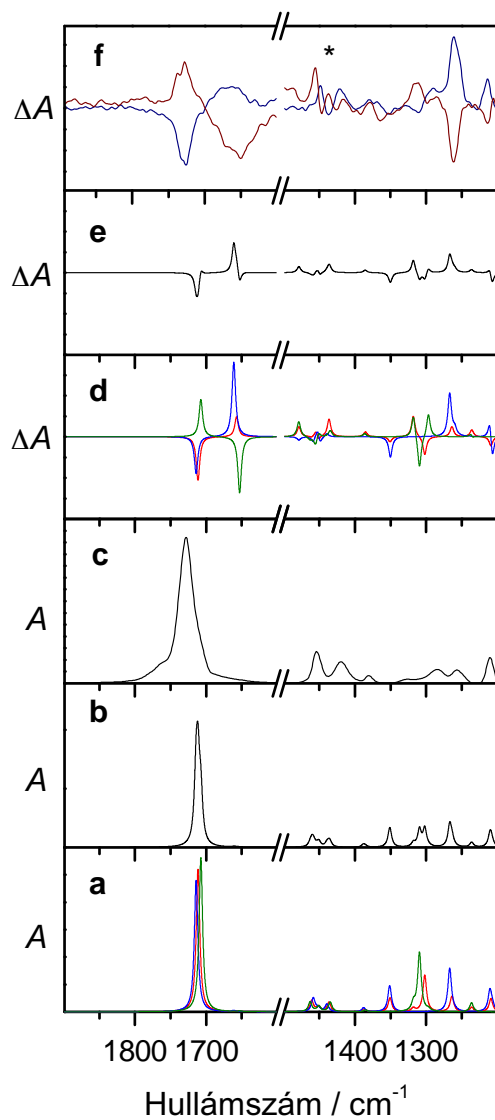
A számított IR és VCD spektrumokat a 6.5. táblázatban foglaltam össze. A dimereknél az egyes karbonilcsoportok rezgési csatolódnak, emiatt szimmetrikus és antiszimmetrikus nyújtások figyelhetők meg. Előbbihez az alacsonyabb, utóbbihoz a magasabb hullámszámú jel tartozik, továbbá a szimmetrikus rezgés IR intenzitása elhanyagolható az antiszimmetrikuséhoz képest. Ez nem igaz a számított VCD spektrumoknál, ahol a két rezgési módus rotátorerőssége összemérhető nagyságú. Előjelük azonban ellentétes lesz, és **1-1**, **1-2** dimereknél a szimmetrikus, **2-2** esetén az antiszimmetrikus rezgés pozitív előjelű. Mivel a különböző dimerek azonos rezgési módusainak előjele nem feltétlenül egyezik meg, ezért jeleik többé-kevésbé kiolthatják egymást, ez látható a 6.8. ábrán, ahol a dimerek Boltzmann-faktorokkal korrigált számolt VCD spektrumait összeadva a kapott spektrumban a jelek gyengébbek, mint a dimerek esetén (6.8./e ábra). Megfigyelhető továbbá, hogy az így kapott összspektrum (szimmetrikus és antiszimmetrikus) karbonil jele pozitív couplet (pozitív – negatív csúcseggyüttes kisebb hullámszámok felől nézve) ellentétben a monomerekkel, amelyekél negatív couplet volt a karbonil rezgési tartományban. Érdeemes azonban hangsúlyozni, hogy a coupletek eltérő okból alakultak ki: a monomereknél a két domináns konformer jeleinek, a dimereknél a két karbonilcso-

6.5. táblázat. Az S(-)-2-klórpropionsav dimerek rezgési frekvenciái ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robustusságai (ζ , ppm-ben) SQM B3LYP/aug-cc-pVTZ bázison.

dimer módus ^a	monomer módus ^b	1-1				1-2				2-2			
		$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
ν_{28}	ν_{12}	1207.2	27	-43	-45.9	1209.1	68	-15	-6.3	1236.1	25	-30	-33.4
ν_{27}	ν_{12}	1210.5	108	35	9.7	1235.8	23	11	12.4	1236.4	22	32	46
ν_{26}	ν_{11}	1259.7	4	11	171	1263.8	80	16	5.5	1296.8	11	36	126
ν_{25}	ν_{11}	1266.9	225	67	8.9	1301.9	189	-28	-5.3	1309.3	304	-50	-4.8
ν_{24}	ν_{10}	1350.2	12	-33	-198.8	1317.9	18	32	55.6	1317.7	40	36	33.3
ν_{23}	ν_{10}	1351.2	124	4	2.2	1350.6	72	-8	-4.1	1318.6	1	-2	-697.5
ν_{22}	ν_9	1387.6	11	-1	-0.9	1385.1	5	7	50.5	1384.7	6	-3	-27.3
ν_{21}	ν_9	1387.7	10	1	0.1	1387.7	10	0	0.1	1385.6	3	7	80.7
ν_{20}	$\nu_{11} + \nu_{13}$	1439.1	38	5	1.8	1436.1	48	24	16.4	1434.5	49	9	5.6
ν_{19}	ν_8	1449.1	3	-14	-257.8	1449.8	9	2	-49.4	1450.2	3	-7	-74.1
ν_{18}	ν_8	1451.4	14	14	23.8	1450.6	16	-9	-3.9	1450.4	26	14	19.7
ν_{17}	ν_7	1454.2	3	3	95.4	1454.3	5	8	141.5	1455.1	2	-12	-459.3
ν_{16}	ν_7	1458.2	70	-8	-2.1	1460.5	57	-2	-8.7	1462.7	50	-4	-4.4
ν_{15}	$\nu_{11} + \nu_{13}$	1478.4	1	-4	-4170.2	1478.3	1	13	449.9	1478.6	2	20	798.1
ν_{14}	ν_6	1661	6	89	634	1657.2	4	24	192.4	1652.9	3	-68	-1094.9
ν_{13}	ν_6	1714	678	-43	-2.9	1711.4	735	-51	-3.2	1707.4	795	44	2.4

^a A számozás az S(-)-2-klórpropionsav dimer összes rezgés módusának figyelembevételével történt.

^b Az S(-)-2-klórpropionsav monomerek megfelelő rezgési módusa.



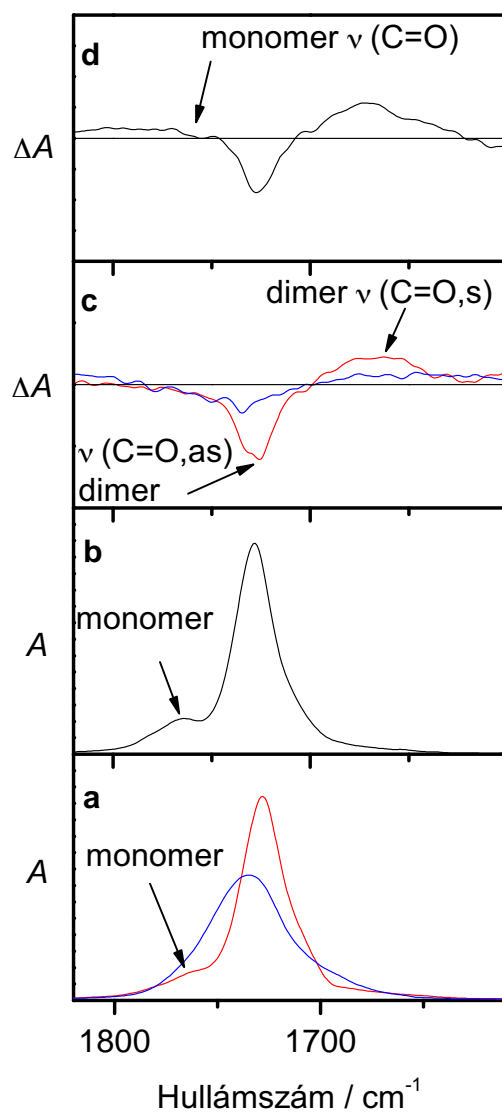
6.8. ábra. a) A 2-klórpropionsav dimerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) IR spektruma. 1-1: piros vonal, 1-2: kék vonal, 2-2: zöld vonal. b) A dimerek Boltzmann-populációjával súlyozott kompozit IR spektrum. c) Az S-(-)-2-klórpropionsav IR spektruma 0.1 mol·dm⁻³ koncentrációjú CCl₄ oldatban. d) A 2-klórpropionsav dimerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) VCD spektruma. 1-1: piros vonal, 1-2: kék vonal, 2-2: zöld vonal. e) A dimerek Boltzmann-populációjával súlyozott kompozit VCD spektrum. f) Az S-(-) (sötétkék vonal) és R-(+)-2-klórpropionsav (bordó vonal) VCD spektruma 0.1 mol·dm⁻³ koncentrációjú CCl₄ oldatban. Az oldószerek erős elnyelése miatt jelentkező artifaktumokat csillaggal jelöltem.

port csatolt szimmetrikus és antiszimmetrikus rezgéseinek jeleinek eredménye a két csúc (utóbbinál a két jel az egyes homo- és heterodimerek jeleinek összege). A karbonilcsoportok nyújtási rezgési módusainak robusztussága is eltérő: a szimmetrikus rendkívül robusztus ($|\zeta| > 100$ minden dimerre) – aminek oka az, hogy a viszonylag nagy rotátorerősséghez kicsi IR intenzitás, azaz elektromos átmeneti dipólmomentum társul –, míg az antiszimmetrikus nem robusztus ($|\zeta| \approx 0$ minden dimerre).

A vizsgált hullámszámtartomány többi jelét vizsgálva megállapítható, hogy mind a szimmetrikus, mind az antiszimmetrikus H–O–C hajlítási rezgés (azaz ν_{23} és ν_{24} módusok) frekvenciája toódik el legnagyobb mértékben a dimerképződés hatására – több, mint 20 cm^{-1} -rel csökkent (l. 6.5. táblázat, v. ö. 6.1. táblázat). Ezen kívül az antiszimmetrikus H–C–Cl rezgés mutatja a legnagyobb rotátorerősségnövekedést a monomerhez képest, közel háromszorosa annak, de a többi dimernél is megfigyelhető a rotátorerősség növekedése. Hasonló jelenség figyelhető meg aminosavak amidrezgéseinél a lánchossz növekedésével (l. 4.4.3. fejezet). Ebben az esetben sem szabad azonban figyelmen kívül hagyni, hogy a különböző dimerek VCD jelei egymással átfedhetnek kioltva egymás jeleit (ilyen pl. ν_{10} és ν_{11} módus).

6.2.3.2. Dimerek IR spektruma

Mint azt már a 6.2.1.2. fejezetben láthattuk, Ar mátrixban a 2-klórpropionsav monomerek hőkezelés hatására dimerizálódnak, és hozzájuk tartozó új csúcsok jelennek meg – így a karbonil nyújtási tartományban is 1752 és 1732 cm^{-1} -nél (6.4. ábra). Hogy ezek valóban a dimerekhez tartozó csúcsok, alátámasztja a tény, miszerint a monomer klórpropionsav számított és kísérleti frekvenciájának különbsége $\approx 15 \text{ cm}^{-1}$, és az **1-1** dimer számított karbonil antiszimmetrikus rezgési frekvenciája ugyanennyivel tér el fenti a kisebb hullámszámú csúcstól (6.5. táblázat). A jel nagyobb hullámszámú oldalán található váll **1-2** és **2-2** dimer jelenlétének tudható be. A másik csúcsot valószínűleg egyéb magasabb energiájú dimerek okozzák, amelyek egy erős (C=O ... H–O), valamint a másik karbonilcsoport és az α -szénatom hidrogénje között egy gyenge (C=O ... H–C $_{\alpha}$) hidrogénkötést tartalmaznak. Ilyen dimereket azonosítottak már Ar mátrixban, a hangyasav [170], illetve az ecetsav [171] vizsgálatakor, illetve hangyasavat He nanocseppben [172, 173], továbbá metil-acetát – ecetsav keverék szuperszonikus expanziójakor [174]. Habár ezek a dimerek magasabb energiájúak a két erős H-kötést tartalmazó társaiknál, alacsony hőmérsékleten kimutathatók (amennyiben a leválasztás során keletkeznek), mivel a stabil dimerbe történő átalakulásukkor az átmeneti állapot energiája – azaz az aktiválási gát – viszonylag magas [171]. Ezeknél a dimereknél a monomer jeléhez képest mérhető vöröseltolódás ($\approx -22 \text{ cm}^{-1}$) hasonló nagyságú az általam számított, valamint az irodalomban fellelhető hullámszámkülönbséggel (-24 cm^{-1} , illetve $-18,5 \text{ cm}^{-1}$). Érdemes megjegyezni, hogy ezekhez a számításokhoz a **2** monomert hasonlítottam össze dimerével, mivel az **1** monomerből ilyen típusú dimerek – sztérikus okokból kifolyólag – nem keletkezhetnek. A dimerek kar-



6.9. ábra. Az S-(-)-2-klórpropionsav C=O nyújtási tartománya (1820–1600 cm^{-1}) a) IR spektrum 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú CCl_4 (piros vonal), illetve CHCl_3 (kék vonal) oldatban b) IR spektrum 0,02 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú CCl_4 oldatban c) VCD spektrum 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú CCl_4 (piros vonal) és CHCl_3 (kék vonal) oldatban d) VCD spektrum 0,02 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú CCl_4 oldatban. Az IR spektrumoknál $A = 0-0,75$, a VCD spektrumoknál $\Delta A = -2,0 \times 10^{-5} - 2,0 \times 10^{-5}$ közötti tartományban volt. A küvettavastagság 0,2 mm volt a 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ és 1 mm volt a 0,02 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú oldatok esetén.

bonilcsoportjának szimmetrikus nyújtási rezgései – mivel IR intenzitásuk sokkal kisebb – nem különülnek el, hanem beleolvadnak a dimerek két nagy csúcsa közötti széles sávba. A dimerek képződése a 2800–3000 cm^{-1} közötti tartományban is nyomon követhető.

A dimereket nemcsak mátrixizolációs körülmények között, hanem oldatfázisban is vizsgáltam. Mint ahogy az a 6.9. ábrán is látható, a 2-klórpropionsav karbonil nyújtási rezgésének frekvenciája 1728 cm^{-1} -nél volt 0,02, illetve 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú CCl_4 oldatban, amely nem sokkal tér el a dimerek Ar mátrixban mért értéktől (1732 cm^{-1}). Ez – egybehangzóan a korábbi vizsgálatok eredményével [159–162] – alátámasztja a feltételezést, miszerint oldatfázisban a karbonsavak (és így a 2-klórpropionsav is) túlnyomórészt dimerek formájában vannak jelen. A csúcs nagyobb hullámszám felőli oldalán található váll (1765 cm^{-1} -nél) a koncentráció csökkenésével nő, és – az oldószerhatást figyelembe véve – jól összeegyeztethető **1**, illetve **2** monomer mátrixban kapott jeleivel (1782 cm^{-1} , illetve 1774 cm^{-1}). Fontos megjegyezni, hogy oldatban – az oldószerre effektus miatti jelkiszélesedés miatt – a monomerek csúcsai nem válnak el egymástól, hanem egyetlen jelet alkotnak.

A 2-klórpropionsav spektrumokat kloroformban is felvettem, 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációban. Ekkor – mint az a 6.9. ábrán látható – a karbonilcsoport jele kiszélesedik, és nagyobb hullámszámok irányába tolódik el (1735 cm^{-1}) a széntetrakloridban felvett spektrumhoz képest. Ennek oka a monomerek nagyobb aránya az oldatban, amelyeket az oldószerrel létrejött gyenge komplexek – mint **1a**, illetve **1b** – stabilizálnak (6.1. fejezet).

6.2.3.3. Dimerek VCD spektruma

Annak érdekében, hogy a dimerek számított VCD spektrumát összehasonlítsam a kísérleti úton kapottal, elsőként a hőkezelt mátrix VCD spektrumát vettem fel. Ekkor azonban a mátrix fényszórása olyannyira megnövekedett, hogy az lehetetlenné tette jó minőségű VCD felvétel elkészítését. Ezért a számított eredményeket az oldatfázisban kapott kísérleti eredményekkel hasonlítottam össze. A dimerek Boltzmann-faktorral súlyozott összegspektruma jó egyezést mutat a klórpropionsav 0,1 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú széntetraklorid oldatban mérttel, mind a karbonilcsoport, mind a vizsgált tartomány többi rezgésére, ν_{12} módust kivéve (l. 6.9. ábra). Ennek oka, hogy ilyen körülmények között kicsi a monomerek koncentrációja, jeleik nem zavarják a mérést. A monomerek a hígabb – 0,02 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ koncentrációjú – oldatban sincsenek akkora arányban jelen, jeleik a zajból alig emelkednek ki (6.9. ábra).

Fontos észrevétel volt, hogy a CHCl_3 -ban felvett spektrumban nagyjából feleakkora nagyságú és jelentősen kiszélesedett a karbonilcsoport jele a CCl_4 -ben felvetthez képest. Ez a monomerek, illetve azok kloroformmal képzett komplexei jelenlétének tudhatók be. Ha egy komplex VCD előjele ellentétes a dimerével – ilyen **1b** karbonil és a dimer karbonil antiszimmetrikus rezgései –, akkor az a mért jelintenzitást tovább csökkenti (6.1. fejezet).

6.3. Összefoglalás

A fejezetben a 2-klórpropionsav erős (dimer), illetve gyenge (CHCl_3 -mal képzett) hidrogénkötésű komplexeinek VCD spektrumra gyakorolt hatását vizsgáltam. Ennek során mind a mono- és dimerek, mind a gyenge hidrogénkötésű komplexek esetén azok IR és VCD spektrumát kiszámítottam, és kiértékeltem, amelynek eredményül mindegyik esetben többféle szerkezet adódott. Ezt követte a kísérleti IR és VCD spektrumának felvétele mátrixizolációs körülmények között, a szerkezetmeghatározást a számított spektrumokkal történő összevetés segítette. A monomer esetében a két MI-IR spektrum jó egyezést mutatott, ezek alapján két *transz* (**1**, **2**) és egy *cisz* (**3**) konformer van jelen az Ar mátrixban, előbbieket az utóbbinál jóval nagyobb arányban. A *cisz* konformer aránya általában a karbonsavakhoz képest – az Ac- β^3 -HPro-NHMe-nél tapasztaltakhoz hasonlóan – szokatlanul nagy ($\sim 6\%$), amit a klóratom, illetve az α -szénatom hidrogénje közötti gyenge kölcsönhatás okoz. Az asszignációt megerősítette egy későbbi vizsgálatunk is, amelynek során a nemrégiben átadott lézermalatóriumunkban a monomerek Ar mátrixban történő szelektív gerjesztését vizsgáltuk [175] (a lézermalatóriumot, valamint az ott található berendezéseket egy a Magyar Kémiai Folyóiratban megjelent cikk már bemutatta [176], illetve további információkat a laboratórium honlapján lehet olvasni <http://msl.chem.elte.hu/muszerek.html>).

A 2-klórpropionsav – CHCl_3 komplexeknél egy gyenge hidrogénkötésű speciest (1b vagy 2b) lehetett azonosítani. Ezzel szemben a klórpropionsav hőkezelésekor keletkező dimereknél a két erős hidrogénkötést tartalmazó komplexek (mint amilyen az 1–1) mellett olyan szerkezetek is jelen vannak, amelyekben egy erős ($\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}$) és egy gyenge ($\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{C}$) hidrogénhíd alakul ki. A mátrixizolációs méréseket kiegészítő oldószeres mérések során arra a következtetésre jutottam, hogy a klórpropionsav viszonylag tömény (0,02, illetve $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) CCl_4 oldatában is főként már dimerek vannak jelen, ebben mérve a VCD spektrum a dimerek számított spektrumával jól egyezett. Ezzel szemben ha az oldószer kloroform volt, az oldatban a monomerek (illetve CHCl_3 komplexek) is számottevő mennyiségben voltak kimutathatók.

A VCD spektrumokat monomereknél Ar mátrixban, dimereknél oldatban, míg a klórpropionsav CHCl_3 komplexeit kloroformot tartalmazó Ar mátrixban vettem fel. A számított és a kísérleti eredményeket kiértékelve, továbbá a számított rezgési módusok robusztusságának vizsgálata során a karbonsavak VCD spektrumára vonatkozó legfontosabb általános következtetések a következők: a 2-klórpropionsav monomer esetén nem volt olyan robusztus rezgési módus, amely minden konformer esetén robusztus lett volna. Kiralitás α -szénatomot tartalmazó karbonsavaknál a $\text{C}=\text{O}$ nyújtási rezgési módus nem csatol olyan rezgésekkel, amelyekben a kiralitáscentrum nagy koefficienssel szerepel, így – a nem túl nagy – rotátorerősség nagysága főként az elektromos átmeneti dipólvektortól függ. Továbbá az összes rezgési módus érzékeny az $\text{X}-\text{C}-\text{C}=\text{O}$ (2-klórpropionsavnál $\text{X} = \text{Cl}$)

torziós szögre, azaz a VCD spektrumot nagymértékben befolyásolja a molekula konformációja. Így abszolút konfiguráció meghatározásakor az összes szóba jövő konformert és csak a robusztus módusokat figyelembe véve szabad az asszignálást elvégezni.

Korábbi vizsgálatokkal [177] összhangban megállapítható, hogy a gyenge hidrogénkötést tartalmazó komplexek keletkezése is alapvető hatással bír a VCD spektrumra. A robusztus módusok rotátorerősségeinél 20–40%-os eltérés tapasztalható a monomerhez képest, de egyes esetekben ez nagyobb is lehet. Ezen felül megállapítható, hogy – például CHCl_3 oldatban mérttel összehasonlítva [177] – az oldószermodelleket alkalmazva sokkal kisebb egyezés tapasztalható, mint a az oldószermolekulát explicit módon figyelembe vevő számítások esetén, amely a komplexek oldatban történő keletkezésére utal.

Az oldószermodelles, illetve hőkezelés nélküli mátrixok vizsgálatok világossá vált, hogy az oldószer-, illetve a mátrixba zárt CHCl_3 molekulák által keltett külső elektromos tér hatására, a mátrixba zárt molekula geometriájának megváltozásából eredően a jelek rotátorerőssége változik, egyes nem-robusztus módusok esetén akár az előjel is megváltozhat. Ez utóbbira példa a $\text{C}=\text{O}$ nyújtási, illetve a $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ hajlítási rezgése. A hatás következhet közvetlenül a keltett elektromos térből, vagy közvetett módon a molekula geometriájának megváltozásából. A komplexekben – korábbi munkákkal összhangban [73] – az eredetileg akirális kloroform rezgései általában kicsi rotátorerősségűek és nem robusztusak – kivéve a molekula $\text{H}-\text{C}-\text{Cl}$ hajlítási rezgését, amely közepes nagyságúnak mondható – ez kiváló példája a kiralitás transzfernek (l. pl. [45], illetve 6.1. fejezet).

Korábbi vizsgálatok kimutatták [178], hogy hidrogénkötések kialakulásakor a jelek rotátorerősségének növekedésére kell számítani. Ezzel összhangban dimerek VCD spektrumában a monomerekhez képest a rotátorerősségek általában nagyobbak és a jelek robusztusabbak [159–163]. A megfelelő oldószer kiválasztására is hangsúlyt kell fektetnünk: a CHCl_3 -ban felvett spektrum bonyolultabb a CCl_4 -ben felvettnél. Előbbi használatakor a komplexek keletkezése mellett a monomerek stabilitása is megnő így azok megjelennek a spektrumban, továbbá a dimerek jelintenzitása is csökken. Emiatt – mégha a számítási igény nagyobb is – amennyiben az oldhatóság engedi, érdemes olyan koncentrációjú CCl_4 oldatban végezni a VCD mérést, amelyben főleg dimerek vannak jelen.

7. fejezet

Összefoglalás, konklúzió

A VCD spektroszkópia a királis vegyületek szerkezetmeghatározásában egyre nagyobb szerepet játszik és merev molekulák esetén ma már egy jól bevált módszer. Egyes esetekben azonban – jellemzően a flexibilis molekuláknál – problémát jelenthet a szerkezet meghatározása. Ezeknél – a merev társaikhoz képest – jóval nagyobb gondot jelentenek bizonyos, az ún. nem-robusztus jelek, amelyek azt eredményezhetik, hogy az adott szerkezetű molekulának a számított és a kísérleti úton kapott spektruma nem egyezik meg teljesen, megnehezítve az asszignációt.

A jeleket így csoportosíthatjuk aszerint, hogy mennyire érzékenyek a különféle perturbációkra. Ezt robusztusságnak nevezzük és az adott módust – aszerint, hogy a külső körülmények megváltozására érzékeny vagy sem – robusztusként, illetve nem-robusztusként osztályozzuk. Ehhez szükséges volt egy új, mértékinvariáns mennyiség bevezetése, amely helyesen jelzi előre a számított jelek megbízhatóságát.

A kifejlesztett robusztusság becslő módszer eredményességének teszteléséhez olyan flexibilis modellmolekulákat választottam ki, amelyeknél előzetesen várható volt, hogy lesznek nem-robusztus módusaik. Ennek során több optikailag aktív biomolekula szerkezetvizsgálatát végeztem el VCD spektroszkópia segítségével, amelyet egyéb módszerek (pl. mátrixizolációs mérések, FT-IR spektroszkópia) egészítettek ki és segítettek. Ezen felül a perturbációk – például más oldószer használata, dimerek, komplexek képződése, számítás eltérő bázison – hatására az egyes molekulák konformációjában, illetve szerkezetében bekövetkező változásoknak a nem-robusztusnak előjelzett módusokra, illetve VCD spektrumra gyakorolt hatását kísértem figyelemmel.

Doktori munkám során molekulák rezgési módusainak robusztusságát a bevezetett definíció segítségével becsülve kiderült, hogy a robusztusok jó egyezést mutatnak a kísérleti úton kapottakkal, azonban amelyek robusztussága kicsi, nem minden esetben volt ugyanaz az előjele, mint a kísérletileg kapott jeleknek. A robusztusság alkalmazása – azáltal, hogy megmutatja melyik számított rezgési módusok előjeleiben bízhatunk meg – nagymértékben segíti a VCD spektrumok asszignálását és így a molekulák szerkezetének meghatározását.

8. fejezet

Summary

VCD spectroscopy plays an increasingly important role in determining the structure of chiral compounds and in the case of rigid molecules it is now a well-established method. However, in some cases (such as the flexible molecules) there are problems with the determination of the structure. These molecules have much more of the so-called non-robust vibrational signals compared to the rigid ones which results in the observation that the calculated and the experimental spectra do not match completely, making the correct assignment difficult.

Thus the signals can be classified according to their sensitivity to various perturbations. This is called robustness and the vibrational mode is called robust or non-robust depending on whether it is or not sensitive to slight changes in environmental conditions. A new, gauge-independent quantity has been introduced which reliably indicates which signals are correct.

For testing the effectiveness of the newly developed robustness estimation method, flexible molecules were chosen which have non-robust vibrational modes (as previously expected). In order to do so, several optically active biomolecule structures have been determined by VCD spectroscopy, which was supported by other methods (such as matrix isolation method, FT-IR spectroscopy). Furthermore, the impact of changes in molecular conformation or structure caused by perturbations (such as the use of different solvents, formation of dimers or complexes and calculations on different basis) on the non-robust modes and VCD spectrum have been evaluated.

In this work, the robustness of the molecular vibrational modes has been estimated by the help of the introduced definition. It turned out that the robust ones show good agreement with those obtained experimentally. However, if the robustness was small, the calculated signal was not always the same as the experimentally obtained ones. The use of robustness by showing the vibrational modes that can be trusted greatly helps the assignment of VCD spectra and so the determination of molecular structure.

A. Függelék

Az α -, illetve β -FmAANHMe számított fizikai paramétereit táblázatosan

A.1. táblázat. Az α -, illetve β -FmAANHMe (AA: Asn, Asp, Cys) monomerek frekvenciái ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) B3LYP/6-31G* bázison. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skáláztak.

N-terminális amid-I				
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmAsnNHMe- α_1	1746.2	186	-92	-19.9
FmAsnNHMe- α_2	1744.6	244	142	25.9
FmAsnNHMe- α_3	1739.7	246	-12	-2.8
FmAsnNHMe- β_1	1719.8	361	-56	-7.1
FmAsnNHMe- β_2	1718.7	399	144	14.5
FmAspNHMe- α_1	1744.0	200	49	11.0
FmAspNHMe- α_2	1740.8	118	-28	-12.0
FmAspNHMe- α_3	1747.3	205	-32	-7.1
FmAspNHMe- α_4	1747.3	231	-65	-12.8
FmAspNHMe- α_5	1744.4	233	99	18.5
FmAspNHMe- α_6	1745.4	208	57	11.1
FmAspNHMe- α_7	1746.4	210	3	0.4
FmAspNHMe- α_8	1739.1	182	-46	-12.1
FmAspNHMe- β_1	1727.4	169	-30	-4.9
FmAspNHMe- β_2	1726.2	167	182	44.4
FmAspNHMe- β_3	1729.6	151	-95	-22.3
FmAspNHMe- β_4	1728.8	160	39	8.1
FmAspNHMe- β_5	1728.7	198	-80	-14.7
FmAspNHMe- β_6	1716.1	131	-12	-4.4
FmAspNHMe- β_7	1737.1	118	58	21.9
FmCysNHMe- α_1	1760.1	223	-147	-29.5
FmCysNHMe- α_2	1746.3	217	-99	-20.5
FmCysNHMe- α_3	1744.0	206	-16	-4.7
FmCysNHMe- α_4	1746.0	206	-32	-8.0

FmCysNHMe- α_5	1744.3	204	-12	-3.7
FmCysNHMe- α_6	1750.1	215	3	1.0
FmCysNHMe- β_1	1737.9	179	76	15.4
FmCysNHMe- β_2	1729.4	187	24	5.0
FmCysNHMe- β_3	1728.6	167	58	13.0
FmCysNHMe- β_4	1731.7	186	116	22.2
FmCysNHMe- β_5	1728.8	168	65	14.7
FmCysNHMe- β_6	1743.4	215	61	10.1
FmCysNHMe- β_7	1735.5	170	45	9.2

C-terminális amid-I

	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmAsnNHMe- α_1	1736.0	326	19	0.7
FmAsnNHMe- α_2	1733.7	255	-59	-9.6
FmAsnNHMe- α_3	1718.3	85	206	94.7
FmAsnNHMe- β_1	1703.7	117	6	-0.5
FmAsnNHMe- β_2	1699.8	149	62	17.1
FmAspNHMe- α_1	1719.0	222	69	14.0
FmAspNHMe- α_2	1719.3	230	64	14.0
FmAspNHMe- α_3	1719.4	208	101	21.3
FmAspNHMe- α_4	1718.8	220	78	16.5
FmAspNHMe- α_5	1727.2	181	83	21.1
FmAspNHMe- α_6	1680.6	368	41	5.2
FmAspNHMe- α_7	1688.2	277	110	17.7
FmAspNHMe- α_8	1717.3	216	83	18.0
FmAspNHMe- β_1	1707.0	335	93	11.7
FmAspNHMe- β_2	1702.9	305	-64	-9.3
FmAspNHMe- β_3	1709.5	306	107	15.0
FmAspNHMe- β_4	1711.3	252	23	5.1
FmAspNHMe- β_5	1709.1	314	164	22.3
FmAspNHMe- β_6	1680.7	372	82	10.2
FmAspNHMe- β_7	1719.3	344	61	7.2
FmCysNHMe- α_1	1733.2	210	163	33.7
FmCysNHMe- α_2	1713.7	210	102	21.0
FmCysNHMe- α_3	1716.9	214	58	13.0
FmCysNHMe- α_4	1719.4	210	83	18.3
FmCysNHMe- α_5	1717.4	210	68	15.4
FmCysNHMe- α_6	1722.3	199	153	33.7
FmCysNHMe- β_1	1714.2	306	-110	-14.9
FmCysNHMe- β_2	1705.1	303	-44	-6.3
FmCysNHMe- β_3	1707.9	295	42	7.7
FmCysNHMe- β_4	1710.1	274	-98	-13.6
FmCysNHMe- β_5	1708.9	298	-21	-2.1
FmCysNHMe- β_6	1710.6	261	-92	-13.9
FmCysNHMe- β_7	1711.8	304	-53	-7.0

C-terminális amid-II

	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmAsnNHMe- α_1	1534.8	175	-42	-6.5
FmAsnNHMe- α_2	1532.3	160	-16	-3.9
FmAsnNHMe- α_3	1534.4	183	-32	-5.3
FmAsnNHMe- β_1	1581.7	147	88	-0.5
FmAsnNHMe- β_2	1571.9	153	-131	-64.3
FmAspNHMe- α_1	1533.4	174	-16	-1.4
FmAspNHMe- α_2	1534.4	172	-20	-2.4
FmAspNHMe- α_3	1531.5	172	-14	-1.0
FmAspNHMe- α_4	1532.2	166	-25	-3.7
FmAspNHMe- α_5	1527.9	156	-6	1.4
FmAspNHMe- α_6	1545.7	180	-24	-3.2
FmAspNHMe- α_7	1541.5	164	-24	-4.5
FmAspNHMe- α_8	1535.9	171	-24	-3.4
FmAspNHMe- β_1	1557.6	154	-13	-3.6
FmAspNHMe- β_2	1573.8	189	-44	-9.5
FmAspNHMe- β_3	1542.2	158	22	5.3
FmAspNHMe- β_4	1539.2	135	-1	-0.1
FmAspNHMe- β_5	1542.8	137	18	4.9
FmAspNHMe- β_6	1569.4	147	0	-0.2
FmAspNHMe- β_7	1513.6	150	17	6.1
FmCysNHMe- α_1	1544.3	154	-58	-14.5
FmCysNHMe- α_2	1529.6	169	-63	-13.5
FmCysNHMe- α_3	1531.7	173	-56	-12.5
FmCysNHMe- α_4	1531.8	175	-58	-12.7
FmCysNHMe- α_5	1531.3	173	-64	-13.9
FmCysNHMe- α_6	1525.2	143	-97	-23.6
FmCysNHMe- β_1	1572.2	151	-8	-2.5
FmCysNHMe- β_2	1550.4	144	-12	-4.1
FmCysNHMe- β_3	1539.1	148	-10	-4.3
FmCysNHMe- β_4	1543.0	140	-9	-3.5
FmCysNHMe- β_5	1542.3	144	8	0.7
FmCysNHMe- β_6	1536.6	165	13	1.8
FmCysNHMe- β_7	1538.1	166	5	-0.3

N-terminális amid-II

	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmAsnNHMe- α_1	1482.6	102	-11	-19.1
FmAsnNHMe- α_2	1492.6	81	27	24.7
FmAsnNHMe- α_3	1480.7	121	-7	-15.6
FmAsnNHMe- β_1	1475.5	154	25	15.5
FmAsnNHMe- β_2	1505.4	202	8	2.7
FmAspNHMe- α_1	1482.3	113	38	-40.4
FmAspNHMe- α_2	1482.8	113	-2	-23.1
FmAspNHMe- α_3	1483.9	113	-17	3.3
FmAspNHMe- α_4	1483.8	108	-17	-5.4
FmAspNHMe- α_5	1491.0	87	17	15.5

FmAspNHMe- α_6	1481.0	109	-16	-21.4
FmAspNHMe- α_7	1491.5	85	26	23.9
FmAspNHMe- α_8	1482.5	111	-2	-29.7
FmAspNHMe- β_1	1482.6	254	37	17.8
FmAspNHMe- β_2	1481.4	242	35	28.7
FmAspNHMe- β_3	1486.7	201	-5	5.5
FmAspNHMe- β_4	1483.8	249	11	8.1
FmAspNHMe- β_5	1484.1	278	16	4.6
FmAspNHMe- β_6	1479.4	226	21	-1.4
FmAspNHMe- β_7	1481.7	186	36	28.9
FmCysNHMe- α_1	1491.9	54	-28	-8.2
FmCysNHMe- α_2	1479.9	106	-2	-10.9
FmCysNHMe- α_3	1484.6	105	-47	-25.7
FmCysNHMe- α_4	1484.2	105	-20	-14.2
FmCysNHMe- α_5	1483.8	103	-36	-13.2
FmCysNHMe- α_6	1497.7	101	72	20.2
FmCysNHMe- β_1	1480.9	239	-56	-4.8
FmCysNHMe- β_2	1479.9	221	77	52.7
FmCysNHMe- β_3	1486.4	238	76	26.9
FmCysNHMe- β_4	1478.1	220	110	59.5
FmCysNHMe- β_5	1484.5	257	89	26.4
FmCysNHMe- β_6	1489.4	140	136	51.5
FmCysNHMe- β_7	1489.7	163	74	27.2

A.2. táblázat. Az *a*-FmValNHMe monomerek frekvenciái ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) különböző bázisokon. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

B3LYP/6-31G*		FmValNHMe- α_1	FmValNHMe- α_2	FmValNHMe- α_3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1748.0	1745.6	1746.4
(N-terminális)	I	224	229	230
	R	-36	15	20
	ζ	-7.1	3.1	3.8
amid-I	$\tilde{\nu}$	1721.1	1717.5	1719.6
(C-terminális)	I	179	196	196
	R	84	77	58
	ζ	20.0	16.9	13.1
amid-II	$\tilde{\nu}$	1521.8	1523.1	1524.5
(C-terminális)	I	165	149	154
	R	8	-4	2
	ζ	5.4	2.9	3.9
amid-II	$\tilde{\nu}$	1483.9	1497.0	1495.3
(N-terminális)	I	83	110	107
	R	4	39	31
	ζ	21.0	10.7	16.0

B3LYP/6-31++G**		FmValNHMe- α_1	FmValNHMe- α_2	FmValNHMe- α_3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1728.3	1727.3	1727.2
(N-terminális)	I	275	275	276
	R	-30	17	41
	ζ	-5.2	2.5	6.1
	$\tilde{\nu}$	1700.3	1698.6	1695.5
amid-I (C-terminális)	I	212	228	241
	R	90	77	40
	ζ	18.5	14.7	7.5
	$\tilde{\nu}$	1513.9	1518.3	1521.9
amid-II (C-terminális)	I	195	168	174
	R	-27	-43	-32
	ζ	-4.7	-8.7	-6.4
	$\tilde{\nu}$	1489.2	1499.0	1498.3
amid-II (N-terminális)	I	100	120	116
	R	6	36	25
	ζ	2.8	10.1	7.3
	B3LYP/aug-cc-pVTZ		FmValNHMe- α_1	FmValNHMe- α_2
amid-I	$\tilde{\nu}$	1729.9	1729.5	1729.5
(N-terminális)	I	266	266	265
	R	-37	5	42
	ζ	-6.4	0.6	6.7
	$\tilde{\nu}$	1699.7	1699.6	1693.9
amid-I (C-terminális)	I	209	222	240
	R	87	89	44
	ζ	18.2	17.3	8.2
	$\tilde{\nu}$	1513.7	1518.1	1522.4
amid-II (C-terminális)	I	176	153	161
	R	9	-12	0
	ζ	2.5	-2.4	0.3
	$\tilde{\nu}$	1490.3	1501.2	1500.5
amid-II (N-terminális)	I	89	114	110
	R	0	45	27
	ζ	-10.5	14.8	9.6

A.3. táblázat. A β -FmValNHMe monomerek frekvenciái ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) különböző bázisokon. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

B3LYP/6-31G*		FmValNHMe- β_1	FmValNHMe- β_2	FmValNHMe- β_3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1732.7	1734.6	1728.8
(N-terminális)	I	199	212	202
	R	-67	-22	-78
	ζ	-13.1	-4.0	-14.1
amid-I	$\tilde{\nu}$	1705.3	1703.1	1700.8
(C-terminális)	I	289	253	277
	R	58	38	110
	ζ	8.5	6.5	16.8
amid-II	$\tilde{\nu}$	1536.0	1538.5	1541.4
(C-terminális)	I	156	153	141
	R	6	16	5
	ζ	1.3	3.7	1.6
amid-II	$\tilde{\nu}$	1488.6	1486.7	1484.0
(N-terminális)	I	170	200	207
	R	6	33	24
	ζ	5.7	19.0	18.5
B3LYP/6-31++G**		FmValNHMe- β_1	FmValNHMe- β_2	FmValNHMe- β_3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1708.3	1710.9	1704.4
(N-terminális)	I	222	249	223
	R	-59	131	65
	ζ	-10.0	17.9	9.8
amid-I	$\tilde{\nu}$	1686.8	1683.5	1680.2
(C-terminális)	I	393	326	368
	R	44	-128	-48
	ζ	5.0	-14.3	-4.4
amid-II	$\tilde{\nu}$	1537.5	1528.6	1530.0
(C-terminális)	I	169	180	162
	R	-6	47	29
	ζ	-2.3	8.0	5.1
amid-II	$\tilde{\nu}$	1497.5	1493.1	1487.5
(N-terminális)	I	165	241	273
	R	-11	47	-51
	ζ	-1.8	10.3	-4.8

B3LYP/aug-cc-pVTZ		FmValNHMe- β_1	FmValNHMe- β_2	FmValNHMe- β_3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1710.1	1712.7	1705.8
(N-terminális)	I	222	242	215
	R	-59	18	-74
	ζ	-11.0	2.7	-13.6
amid-I	$\tilde{\nu}$	1686.4	1684.4	1681.9
(C-terminális)	I	368	314	359
	R	44	22	122
	ζ	5.3	3.3	14.7
amid-II	$\tilde{\nu}$	1536.8	1540.1	1544.4
(C-terminális)	I	157	162	149
	R	2	13	5
	ζ	0.3	3.0	1.1
amid-II	$\tilde{\nu}$	1495.7	1491.4	1485.0
(N-terminális)	I	161	206	208
	R	7	26	21
	ζ	2.0	5.7	4.4

A.4. táblázat. A β -Fm(Val) $_2$ NHMe dimerek ($\tilde{\nu}$, cm^{-1} -ben), IR intenzitásai (I , $\text{km}\cdot\text{mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei (R , 10^{-44} $\text{esu}^2\cdot\text{cm}^2$ -ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) B3LYP/6-31G* bázison. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

	amid-I (N-terminális)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1733.7	269	-78	-12.0
FmValNHMe- β_{22}	1735.2	261	-30	-4.1
FmValNHMe- β_{33}	1728.7	287	-35	-4.9
FmValNHMe- β_{12}	1733.5	254	-98	-15.0
FmValNHMe- β_{21}	1734.9	270	-23	-3.4
FmValNHMe- β_{13}	1733.4	268	-97	-14.7
FmValNHMe- β_{31}	1728.7	281	-7	-1.2
FmValNHMe- β_{23}	1734.5	272	-43	-6.2
FmValNHMe- β_{32}	1729.1	276	-43	-5.7
	amid-I (centrum)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1709.8	56	19	3.9
FmValNHMe- β_{22}	1707.8	63	183	90.9
FmValNHMe- β_{33}	1704.6	70	22	8.2
FmValNHMe- β_{12}	1707.0	68	218	101.0
FmValNHMe- β_{21}	1708.7	66	26	7.0
FmValNHMe- β_{13}	1707.2	69	78	33.0
FmValNHMe- β_{31}	1705.4	60	-25	-17.4
FmValNHMe- β_{23}	1706.6	77	77	29.4
FmValNHMe- β_{32}	1704.2	63	147	69.6

	amid-I (C-terminális)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1687.6	337	-94	-11.2
FmValNHMe- β_{22}	1687.7	309	-198	-25.5
FmValNHMe- β_{33}	1677.3	301	-26	-2.7
FmValNHMe- β_{12}	1687.9	329	-247	-31.0
FmValNHMe- β_{21}	1685.5	310	-94	-11.2
FmValNHMe- β_{13}	1681.7	315	-73	-8.9
FmValNHMe- β_{31}	1684.1	328	-76	-9.2
FmValNHMe- β_{23}	1679.4	290	-60	-6.8
FmValNHMe- β_{32}	1684.0	326	-153	-19.0
	amid-II (C-terminális)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1536.0	145	26	3.7
FmValNHMe- β_{22}	1541.8	140	40	7.2
FmValNHMe- β_{33}	1542.9	125	14	1.1
FmValNHMe- β_{12}	1541.8	145	34	6.1
FmValNHMe- β_{21}	1536.9	145	24	3.1
FmValNHMe- β_{13}	1539.8	123	17	2.0
FmValNHMe- β_{31}	1537.1	147	14	0.9
FmValNHMe- β_{23}	1540.3	123	16	1.4
FmValNHMe- β_{32}	1540.0	145	32	5.5
	amid-II (centrum)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1508.6	255	231	36.1
FmValNHMe- β_{22}	1510.0	246	335	55.5
FmValNHMe- β_{33}	1509.5	223	204	37.9
FmValNHMe- β_{12}	1508.0	292	303	42.0
FmValNHMe- β_{21}	1509.2	208	292	55.1
FmValNHMe- β_{13}	1504.8	307	287	35.1
FmValNHMe- β_{31}	1512.2	178	196	45.7
FmValNHMe- β_{23}	1504.9	232	326	53.5
FmValNHMe- β_{32}	1511.0	206	241	49.7
	amid-II (N-terminális)			
	$\tilde{\nu}$	I	R	ζ
FmValNHMe- β_{11}	1486.9	257	-192	-23.6
FmValNHMe- β_{22}	1483.5	350	-134	-14.8
FmValNHMe- β_{33}	1477.6	329	-76	-22.1
FmValNHMe- β_{12}	1485.5	275	-189	-38.9
FmValNHMe- β_{21}	1483.2	334	-177	-4.9
FmValNHMe- β_{13}	1485.5	308	-267	-40.5
FmValNHMe- β_{31}	1478.3	309	-119	-16.5
FmValNHMe- β_{23}	1481.8	277	-145	-16.1
FmValNHMe- β_{32}	1478.2	266	-109	-13.5

A.5. táblázat. A β -Fm(Val)₃NHMe trimerek ($\tilde{\nu}$, cm⁻¹-ben), IR intenzitásai (I , km·mol⁻¹-ben), rotátorerősségei (R , 10⁻⁴⁴ esu²·cm²-ben) és robusztusságai (ζ , ppm-ben) B3LYP / 6-31G* bázison. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

		FmValNHMe- β_{111}	FmValNHMe- β_{112}	FmValNHMe- β_{113}
amid-I	$\tilde{\nu}$	1733.4	1733.5	1733.2
(N-terminális)	I	263	267	263
	R	-71	-62	-53
	ζ	-11.8	-10.8	-9.1
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1696.1	1695.3	1693.8
(N-terminális)	I	19	14	23
	R	44	276	115
	ζ	47.8	643.3	157.4
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1683.3	1683.4	1679.1
(C-terminális)	I	428	427	399
	R	-159	-331	-160
	ζ	-14.9	-31.5	-16.1
amid-I	$\tilde{\nu}$	1710.3	1708.3	1708.2
(C-terminális)	I	130	126	146
	R	-70	-106	-91
	ζ	-21.6	-28.9	-23.8
amid-II	$\tilde{\nu}$	1536.7	1538.5	1540.8
(C-terminális)	I	139	141	120
	R	34	39	21
	ζ	6.1	7.6	3.2
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1511.7	1511.2	1512.0
(C-terminális)	I	106	119	121
	R	560	600	587
	ζ	195.9	188.8	181.7
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1503.0	1500.1	1501.3
(N-terminális)	I	404	377	452
	R	-264	-190	-318
	ζ	-28.2	-24.7	-29.1
amid-II	$\tilde{\nu}$	1486.8	1486.0	1485.9
(N-terminális)	I	369	341	418
	R	-271	-277	-253
	ζ	-10.5	-13.5	-12.5

		FmValNHMe- β_{221}	FmValNHMe- β_{222}	FmValNHMe- β_{223}
amid-I	$\tilde{\nu}$	1734.8	1734.5	1734.9
(N-terminális)	I	259	263	261
	R	6	6	13
	ζ	-0.1	-0.3	1.0
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1696.4	1695.9	1694.6
(N-terminális)	I	39	27	40
	R	231	381	249
	ζ	172.3	480.2	192.0
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1680.3	1681.5	1676.2
(C-terminális)	I	366	372	344
	R	-268	-384	-224
	ζ	-29.5	-42.0	-25.6
amid-I	$\tilde{\nu}$	1709.5	1708.4	1707.5
(C-terminális)	I	152	142	167
	R	-112	-96	-112
	ζ	-26.6	-20.6	-23.5
amid-II	$\tilde{\nu}$	1538.3	1539.6	1542.7
(C-terminális)	I	139	133	124
	R	29	47	17
	ζ	4.8	9.4	2.2
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1516.0	1515.8	1513.3
(C-terminális)	I	91	94	97
	R	599	594	629
	ζ	246.9	238.4	244.3
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1502.3	1501.0	1498.5
(N-terminális)	I	359	377	341
	R	-181	-111	-189
	ζ	-19.8	-10.9	-20.9
amid-II	$\tilde{\nu}$	1482.7	1482.1	1481.8
(N-terminális)	I	381	415	367
	R	-170	-143	-147
	ζ	1.3	3.4	-1.0

		FmValNHMe- β_{331}	FmValNHMe- β_{332}	FmValNHMe- β_{333}
amid-I	$\tilde{\nu}$	1728.4	1728.4	1727.9
(N-terminális)	I	281	283	279
	R	-27	-16	-15
	ζ	-4.4	-3.0	-2.5
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1689.9	1689.2	1686.9
(N-terminális)	I	48	24	25
	R	-8	81	32
	ζ	-17.5	77.1	32.7
amid-I centrum	$\tilde{\nu}$	1674.7	1674.6	1671.1
(C-terminális)	I	378	387	377
	R	-112	-162	-99
	ζ	-10.3	-16.2	-10.3
amid-I	$\tilde{\nu}$	1705.7	1704.7	1705.2
(C-terminális)	I	149	155	162
	R	-24	-6	-14
	ζ	-6.7	1.6	-3.0
amid-II	$\tilde{\nu}$	1537.9	1537.5	1543.3
(C-terminális)	I	143	137	123
	R	24	43	18
	ζ	3.0	8.3	2.4
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1516.3	1514.8	1515.3
(C-terminális)	I	79	77	78
	R	389	436	457
	ζ	227.1	224.3	221.5
amid-II centrum	$\tilde{\nu}$	1501.5	1500.2	1500.6
(N-terminális)	I	302	307	339
	R	-104	-112	-179
	ζ	-17.1	-19.2	-20.9
amid-II	$\tilde{\nu}$	1474.5	1475.3	1475.0
(N-terminális)	I	524	685	551
	R	-136	-233	-239
	ζ	-16.1	15.7	-24.0

Irodalomjegyzék

- [1] S. Góbi, G. Magyarfalvi, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 16130.
- [2] S. Góbi, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, előkészületben.
- [3] S. Góbi, K. Knapp, E. Vass, Z. Majer, G. Magyarfalvi, M. Hollósi, G. Tarczay, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 13603.
- [4] S. Góbi, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, *Phys. Chem. Chem. Phys. (Weak Hydrogen Bonds - Strong Effects? Special Issue)* 13 (2011) 13972.
- [5] J. M. Bijvoet, A. F. Peerdeman, A. J. Van Bommel, *Nature* 168 (1951) 271.
- [6] P. J. Stephens, F. Devlin, J. Cheeseman, *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, 2012.
- [7] A. Cotton, *C. R. H. Acad. Sci.* 120 (1895) 989.
- [8] G. Magyarfalvi, G. Tarczay, E. Vass, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* 1 (2011) 403.
- [9] G. Holzwarth, E. C. Hsu, H. S. Mosher, T. R. Faulkner, A. Moscovitz, *J. Am. Chem. Soc.* 96 (1974) 251.
- [10] L. A. Nafie, J. C. Cheng, P. J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 3842.
- [11] L. A. Nafie, T. A. Keiderling, P. J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 2715.
- [12] H. Sugeta, C. Marcott, T. R. Faulker, J. Overend, A. Moscovitz, *Chem Phys. Lett.* 40 (1976) 397.
- [13] T. A. Keiderling, P. J. Stephens, *Chem. Phys. Lett.* 41 (1976) 46.
- [14] T. A. Keiderling, P. J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 8061.
- [15] E. Marcott, C. C. Blackburn, T. R. Faulkner, A. Moscovitz, J. Overend, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 5262.
- [16] L. A. Nafie, M. Diem, D. Vidrine, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 496.
- [17] L. D. Barron, B. A. D., *Mol. Phys.* 20 (1971) 1111.
- [18] L. D. Barron, M. P. Bogaard, A. D. Buckingham, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 603.
- [19] M. Hollósi, I. Laczkó, Z. Majer, *A sztereokémia és kiroptikai spektroszkópia alapjai*, Nemzeti Tankönyvkiadó, 2004.
- [20] G. Tarczay, E. Vass, S. Góbi, G. Magyarfalvi, *Magyar Kémiai Folyóirat* 119 (2013) 53.
- [21] G. C. Pimentel, D. A. Dows, E. Whittle, *J. Chem. Phys.* 22 (1954) 1943.
- [22] C. Fábri, T. Szidarovszky, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, *J. Phys. Chem. A* 115 (2011) 4640.

- [23] B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy – Methods and Applications*, VCH Verlag GmbH, 1995.
- [24] Y. Grenie, J. Lassegues, C. Garrigou-Lagrange, *J. Chem. Phys.* 53 (1970) 2980.
- [25] G. G. Sheina, E. D. Radchenko, A. Y. Ivanov, S. G. Stepanian, Y. P. Blagoi, *Zh. Fiz. Khim.* 62 (1988) 985.
- [26] I. D. Reva, S. Stepanian, A. M. Plokhotnichenko, E. D. Radchenko, G. G. Sheina, Y. Blagoi, *J. Mol. Struct.* 318 (1994) 1.
- [27] S. G. Stepanian, I. D. Reva, E. D. Radchenko, L. Adamowicz, *J. Phys. Chem. A* 105 (2001) 10664.
- [28] M. T. S. Rosado, M. L. R. S. Duarte, R. Fausto, *J. Mol. Struct.* 410-411 (1997) 343.
- [29] S. G. Stepanian, I. D. Reva, E. D. Radchenko, L. Adamowicz, *J. Phys. Chem. A* 103 (1999) 4404.
- [30] B. Lambie, R. Ramaekers, G. Maes, *J. Phys. Chem. A* 108 (2004) 10426.
- [31] S. Jarmelo, L. Lapinski, M. J. Nowak, P. R. Carey, R. Fausto, *J. Phys. Chem. A* 109 (2005) 5689.
- [32] R. Ramaekers, J. Pajak, M. Rospenk, G. Maes, *Spectrochim. Acta A* 61 (2005) 1347.
- [33] A. Kaczor, I. D. Reva, L. M. Proniewicz, R. Fausto, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 2360.
- [34] A. Kaczor, I. D. Reva, L. M. Proniewicz, R. Fausto, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 2957.
- [35] J. C. Dobrowolski, R. K. M. H. Jamróz, J. E. Rode, J. Sadlej, *ChemPhysChem* 8 (2007) 1085.
- [36] C. G.-L. Y. Grenie, M. Avignon, *J. Mol. Struct.* 24 (1975) 293.
- [37] H. Torii, T. Tatsumi, T. Kanazawa, M. Tasumi, *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 309.
- [38] E. Najbauer, G. Bazsó, G. Sándor, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, előkészületben.
- [39] G. Bazsó, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, *Magyar Kémiai Folyóirat, Kémiai közlemények* 112 (2006) 137.
- [40] D. Schlosser, F. Devlin, K. Jalkanen, P. Stephens, *Chem. Phys. Lett.* 88 (1982) 286.
- [41] D. O. Henderson, P. L. Polavarapu, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 7110.
- [42] G. Tarczay, G. Magyarfalvi, E. Vass, *Angew. Chem.* 45 (2006) 1775.
- [43] G. Pohl, A. Perczel, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 4698.
- [44] G. Pohl, A. Perczel, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, *Tetrahedron* 64 (2008) 2126.
- [45] G. Tarczay, S. Góbi, G. Magyarfalvi, E. Vass, *Vibrational Spectroscopy* (invited article, Prominent Young Vibrational Spectroscopists issue) 50 (2009) 21.
- [46] T. Beke, C. Somlai, G. Magyarfalvi, A. Perczel, G. Tarczay, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 7918.
- [47] L. Rosenfeld, *Z. Physik* 52 (1929) 161.
- [48] L. A. Nafie, T. B. Freedman, *J. Chem. Phys.* 78 (1983) 7108.
- [49] P. J. Stephens, *J. Phys. Chem.* 89 (1985) 748.
- [50] F. London, *J. Phys. Radium* 8 (1937) 397.
- [51] R. Ditchfield, *Mol. Phys.* 27 (1974) 789.

- [52] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. R. J. R. Cheeseman, J. A. M. Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian, inc., wallingford CT (2004.).
- [53] PQS Version 3.2, Parallel Quantum Solutions, 2013 Green Acres Rd., Fayetteville, AR. 72703.
- [54] R. D. Amos, Chem. Phys. Lett. 133 (1987) 21.
- [55] D. Yang, A. Rauk, J. Chem. Phys. 100 (1994) 7995.
- [56] K. L. Bak, P. Jorgensen, T. Helgaker, K. Ruud, H. J. A. Hensen, J. Chem. Phys. 98 (1993) 8873.
- [57] P. J. Stephens, C. Ashvar, F. Devlin, J. Cheeseman, M. Frisch, Mol. Phys. 89 (1996) 579.
- [58] K. L. Bak, O. Bludsky, P. Jorgensen, J. Chem. Phys. 103 (1995) 10548.
- [59] J. He, X. Cao, L. A. Nafie, T. B. Freedman, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 11320.
- [60] V. P. Nicu, J. Neugebauer, E. J. Baerends, J. Phys. Chem. A 112 (2008) 6978.
- [61] W. H. E. Debie, P. Bultinck, B. van der Veken, Phys. Chem. Chem. Phys. 10 (2008) 3498.
- [62] V. P. Nicu, E. J. Baerends, Phys. Chem. Chem. Phys. 11 (2009) 6107.
- [63] L. Andrews, M. Moskovits, Chemistry and Physics of Matrix-Isolated Species, North Holland, 1989.
- [64] G. Némethy, K. D. Gibson, K. A. Palmer, C. N. Yoon, G. Paterlini, A. Zagari, S. Rumsey, H. A. Scheraga, J. Phys. Chem. 96 (1992) 6472.
- [65] P. Pulay, G. Fogarasi, G. Pongor, J. E. Boggs, A. Vargha, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 7037.
- [66] J. Baker, A. A. Jarzecki, P. Pulay, J. Phys. Chem. A 102 (1998) 1412.
- [67] M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, V. Barone, J. Chem. Phys. 117 (2002) 43.
- [68] C. Peng, H. B. Schlegel, Israel J. Chem. 33 (1993) 449.
- [69] C. Peng, P. Y. Ayala, H. B. Schlegel, M. J. Frisch, J. Comput. Chem. 17 (1996) 49.
- [70] P. J. Stephens, J. Phys. Chem. 91 (1987) 1712.
- [71] W. Kuhn, T. Farad. Soc. 26 (1930) 293.
- [72] E. D. Gussem, P. Bultinck, M. Feledziak, J. Marchand-Brynaert, C. V. Stevens, W. Herrebout, Phys. Chem. Chem. Phys.
- [73] V. P. Nicu, E. Debie, W. Herrebout, B. van der Veken, P. Bultinck, E. J. Baerends, Chirality 21 (2009) E287.
- [74] D. M. Byler, H. Susi, Biopolymers 25 (1986) 469.
- [75] W. Surewicz, H. H. Mantsch, D. Chapman, Biochemistry 32 (1993) 389.

- [76] R. Schweitzer-Stenner, *Biophys. J.* 83 (2002) 523.
- [77] D. K. Graff, B. Pastrana-Rios, S. Y. Venyaminov, F. G. Pendergast, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11282.
- [78] M. Diem, P. J. Gotkin, J. M. Kupfer, A. P. Tindall, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 8103.
- [79] M. Diem, P. J. Gotkin, J. M. Kupfer, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 5644.
- [80] M. Diem, E. Photos, H. Khouri, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6829.
- [81] M. Diem, P. L. Polavarapu, M. Oboodi, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3329.
- [82] B. B. Lai, M. Diem, P. L. Polavarapu, M. Oboodi, T. B. Freedman, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3336.
- [83] T. B. Freedman, M. Diem, P. L. Polavarapu, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3343.
- [84] L. A. Nafie, M. R. Oboodi, T. B. Freedman, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 7449.
- [85] T. A. Keiderling, R. A. G. D. Silva, G. Yoder, R. K. Dukor, *Bioorg. & Med. Chem.* 7 (1999) 133.
- [86] V. Baumruk, D. F. Huo, R. K. Dukor, T. A. Keiderling, D. Lelievre, A. Brack, *Biopolymers* 34 (1994) 1115.
- [87] T. A. Keiderling, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6 (2002) 682.
- [88] S. Yasui, T. A. Keiderling, G. M. Bonora, C. Toniolo, *Biopolymers* 25 (1986) 79.
- [89] S. Yasui, T. A. Keiderling, R. Katachai, *Biopolymers* 26 (1987) 1407.
- [90] G. Yoder, A. Polese, R. A. G. D. Silva, F. Formaggio, M. Crisma, Q. B. Broxtermann, J. Kamphuis, C. Toniolo, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 10278.
- [91] C. Toniolo, F. Formaggio, S. Tognon, Q. B. Broxterman, B. Kaptein, R. Huang, V. Setnicka, T. A. Keiderling, I. H. McColl, L. Hecht, L. D. Barron, *Biopolymers* 75 (2004) 32.
- [92] A. Borics, R. F. Murphy, S. Lovas, *Biopolymers* 85 (2007) 111.
- [93] M. Miyazawa, K. Inouye, T. Hayakawa, Y. Kyogoku, H. Sugeta, *Appl. Spectr.* 50 (1996) 644.
- [94] K. Lee, S. Hahn, K. Oh, J. S. Choi, C. Joo, H. Lee, H. Han, M. Cho, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 18834.
- [95] K. Oh, J. Han, K. Lee, S. Hahn, H. Han, M. Cho, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 13355.
- [96] T. A. Keiderling, *Circular Dichroism: Principles and Applications*, 2nd Edition, Wiley, 2000, 621.
- [97] R. Schweitzer-Stenner, *Vibr. Spectrosc.* 42 (2006) 98.
- [98] E. Vass, M. Hollósi, R. B. F. Besson, *Chem. Rev.* 103 (2003) 1917.
- [99] P. Bour, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 9602.
- [100] J. Kubelka, R. A. G. D. Silva, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 5325.
- [101] P. Bour, J. Kubelka, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 65 (2002) 45.
- [102] R. A. G. D. Silva, S. Yasui, J. Kubelka, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 65 (2002) 229.
- [103] P. Bour, J. Kim, J. Kapitán, R. P. Hammer, R. Huang, L. Wu, T. A. Keiderling, *Chirality* 20 (2008) 1104.

- [104] E. Vass, Z. Majer, M. H. K. Köhalmly, *Chirality* 22 (2010) 762.
- [105] J. Kim, J. Kapitán, A. Lakhani, P. Bour, T. A. Keiderling, *Theor. Chem. Acc.* 119 (2008) 81.
- [106] P. Bour, J. Sopková, L. Bednárová, P. Malon, T. A. Keiderling, *J. Comp. Chem.* 18 (1997) 646.
- [107] P. Bour, J. Kubelka, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 53 (2000) 380.
- [108] J. Kubelka, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 12048.
- [109] H. G. Bohr, K. J. Jalkanen, M. Elstner, K. F. S. Suhai, *Chem. Phys.* 246 (1999) 13.
- [110] R. Schweitzer-Stenner, F. Eker, Q. Huang, K. Griebenow, P. A. Mroz, P. M. Kozlowski, *J. Phys. Chem. B* 106 (2002) 4294.
- [111] P. Bour, T. A. Keiderling, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* 675 (2004) 95.
- [112] J. Kubelka, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 6142.
- [113] R. Huang, J. Kubelka, W. Barber-Armstrong, R. A. G. D. Silva, S. M. Decatur, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 2346.
- [114] W. G. Han, K. J. Jalkanen, M. Elstner, S. Suhai, *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 2587.
- [115] M. Knapp-Mohammady, K. J. Jalkanen, F. Nardi, R. C. Wade, S. Suhai, *Chem. Phys.* 240 (1999) 63.
- [116] J. Kubelka, T. A. Keiderling, *J. Phys. Chem. A* 105 (2001) 10922.
- [117] J. Kubelka, R. Huang, T. A. Keiderling, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 8231.
- [118] R. Schweitzer-Stenner, *J. Phys. Chem.*
- [119] J. H. Choi, M. Cho, *J. Chem. Phys.* 120 (2004) 4383.
- [120] J. H. Choi, J. S. Kim, M. Cho, *J. Chem. Phys.* 122 (2005) 174903.
- [121] H. Ito, *Biospectroscopy* 2 (1996) 17.
- [122] D. Seebach, A. K. Beck, D. Bierbaum, *Chem. & Biodiv.* 1 (2004) 1111.
- [123] G. Cardillo, C. Tomasini, *Chem. Soc. Rev.* 25 (1996) 117.
- [124] D. Seebach, J. Gardiner, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 1366.
- [125] W. S. Horne, S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 1399.
- [126] W. DeGrado, J. Schneider, Y. Hamuro, *J. Pept. Res.* 54 (1999) 206.
- [127] D. Seebach, J. V. Schreiber, S. Abele, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *Helv. Chim. Acta* 83 (2000) 34.
- [128] D. Seebach, D. F. Hook, *Biopolymers* 84 (2000) 23.
- [129] T. Hintermann, D. Seebach, *Chimia* 51 (1997) 244.
- [130] D. Seebach, M. Albert, P. I. Arvidsson, M. Rueping, J. V. Schreiber, *Chimia* 55 (2001) 345.
- [131] J. Frackenpohl, P. I. Arvidsson, J. V. Schreiber, D. Seebach, *ChemBioChem* 2 (2001) 445.
- [132] K. Möhle, R. Günther, M. Thormann, N. Sewald, H. Hofmann, *Biopolymers* 50 (1999) 167.
- [133] J. Podlech, D. Seebach, *Angew. Chem.* 34 (1995) 471.
- [134] A. Müller, C. Vogt, N. Sewald, *Synthesis* (1998) 837.

- [135] M. G. Paterlini, T. B. Freedman, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 5576.
- [136] F. Eker, X. Cao, R. S.-S. L. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 14330.
- [137] V. P. Gupta, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 32 (1992) 239.
- [138] V. Baumruk, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 6939.
- [139] T. B. Freedman, L. A. Nafie, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 37 (1995) 265.
- [140] B. Lal, L. A. Nafie, *Biopolymers* 21 (1982) 2161.
- [141] S. M. Decatur, J. Antonio, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 11914.
- [142] J. Torres, A. Kukul, J. M. Goodman, I. T. Arkin, *Biopolymers* 59 (2001) 396.
- [143] R. A. G. D. Silva, J. Kubelka, S. M. Decatur, P. Bour, T. A. Keiderling, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97 (2000) 8318.
- [144] S. Mizushima, T. Shimanouchi, M. Tsuboi, T. Sugita, K. Kurosaki, N. Mataga, R. Souda, *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 4639.
- [145] M. Tsuboi, T. Shimanouchi, S. Mizushima, *J. Am. Chem. Soc.* 81 (1959) 1406.
- [146] M. Avignon, P. V. Huong, J. Lascombe, M. Marraud, J. Neel, *Biopolymers* 8 (1969) 69.
- [147] V. Madison, J. Schellman, *Biopolymers* 9 (1970) 65.
- [148] V. Madison, J. Schellman, *Biopolymers* 9 (1970) 511.
- [149] E. R. Stimson, S. S. Zimmerman, H. A. Scheraga, *Macromolecules* 10 (1977) 1049.
- [150] Y. Koyama, H. Uchida, S. Oyama, T. Iwaki, K. Harada, *Biopolymers* 16 (1977) 1795.
- [151] V. Madison, K. D. Kopple, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 4855.
- [152] G. Liang, C. J. Rito, S. H. Gellman, *Biopolymers* 32 (1992) 293.
- [153] T. A. Martinek, G. K. Tóth, E. Vass, M. Hollósi, F. Fülöp, *Angew. Chem.* 41 (2002) 1718.
- [154] F. Schumann, A. Müller, M. Kokschi, G. Müller, N. Sewald, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 12009.
- [155] M. Malešević, Z. Majer, E. Vass, T. Huber, U. Strijowski, M. Hollósi, N. Sewald, *Int. J. Pept. Res. Ther.* 12 (2006) 165.
- [156] A. Klamt, G. Schüürmann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1993) 799.
- [157] K. Shin-ya, H. Sugeta, S. Shin, Y. Hamada, Y. Katsumoto, K. Ohno, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 8598.
- [158] E. Vass, E. F. M. Hollósi, F. Fülöp, *Chirality* 18 (2006) 733.
- [159] T. B. Freedman, X. Cao, R. K. Dukor, L. A. Nafie, *Chirality* 15 (2003) 743.
- [160] J. He, P. L. Polavarapu, *J. Chem. Theor. Comput.* 1 (2005) 506.
- [161] T. Kuppens, W. Herrebout, B. V. der Veken, P. Bultinck, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 10191.
- [162] T. Buffeteau, D. Cavagnat, A. Bouchet, T. Brotin, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 1045.
- [163] M. Urbanova, V. Setnicka, F. J. Devlin, P. J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 6700.
- [164] J. Sadlej, J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, M. H. Jamroz, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 101.
- [165] M. Losada, H. Tran, Y. Xu, *J. Chem. Phys.* 128 (2008) 014508.

- [166] M. Losada, Y. Xu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 3127.
- [167] E. Debie, L. Jaspers, P. Bultinck, W. Herrebout, B. van der Veken, *Chem. Phys. Lett.* 450 (2008) 426.
- [168] J. Sadlej, J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1478.
- [169] S. Lopes, A. V. Domanskaya, R. Fausto, M. Rasanen, L. Khriachtchev, *J. Chem. Phys.* 133 (2010) 144507.
- [170] M. Gantenberg, M. Halupka, W. Sander, *Chem.-Eur. J.* 6 (2000) 1865.
- [171] W. Sander, M. Gantenberg, *Spectrochim. Acta, Part A* 62 (2005) 902.
- [172] F. Madeja, P. Markwick, M. Havenith, K. Nauta, R. E. Miller, *J. Chem. Phys.* 116 (2002) 2870.
- [173] F. Madeja, M. Havenith, K. Nauta, R. E. Miller, J. Chocholousova, P. Hobza, *J. Chem. Phys.* 120 (2004) 10554.
- [174] C. Emmeluth, M. A. Suhm, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5 (2003) 3094.
- [175] G. Bzásó, S. Góbi, G. Tarczay, *J. Phys. Chem. A* 116 (2012) 4823.
- [176] G. Bzásó, S. Góbi, G. Magyarfalvi, G. Zügner, A. Demeter, T. Turányi, S. Dóbbé, G. Tarczay, *Magyar Kémiai Folyóirat, Kémiai közlemények* 118 (2012) 65.
- [177] G. Yang, Y. Xu, *J. Chem. Phys.* 130 (2009) 164506.
- [178] V. P. Nicu, M. Heshmat, E. J. Baerends, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 8811.