

# Flexibilis molekulák és molekulakomplexek vizsgálata VCD spektroszkópiával

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, 2015

# Tartalomjegyzék

|                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Köszönetnyilvánítás</b>                                                                 | <b>3</b>  |
| <b>1. Bevezetés</b>                                                                        | <b>4</b>  |
| 1.1. Problémafelvetés, célkitűzés . . . . .                                                | 4         |
| 1.2. Alkalmazott módszerek . . . . .                                                       | 6         |
| 1.2.1. VCD spektroszkópia . . . . .                                                        | 6         |
| 1.2.2. Mátrixizolációs technika . . . . .                                                  | 8         |
| 1.2.3. MI-VCD spektroszkópia . . . . .                                                     | 10        |
| <b>2. Elméleti áttekintés, kísérleti részletek</b>                                         | <b>12</b> |
| 2.1. Elméleti áttekintés . . . . .                                                         | 12        |
| 2.1.1. VCD spektroszkópia elmélete . . . . .                                               | 12        |
| 2.1.2. VCD jelek robusztussága . . . . .                                                   | 15        |
| 2.2. Kísérleti részletek . . . . .                                                         | 16        |
| 2.2.1. VCD berendezés . . . . .                                                            | 16        |
| 2.2.2. MI berendezés . . . . .                                                             | 20        |
| 2.2.3. Kísérleti körülmények . . . . .                                                     | 23        |
| 2.2.4. Számítások háttere . . . . .                                                        | 24        |
| <b>3. A robusztusság új definíciója</b>                                                    | <b>27</b> |
| 3.1. A robusztusság új definíciójának elmélete . . . . .                                   | 27        |
| 3.2. Eredmények . . . . .                                                                  | 30        |
| <b>4. Peptidmodellek VCD jeleinek robusztussága</b>                                        | <b>32</b> |
| 4.1. Bevezetés . . . . .                                                                   | 32        |
| 4.2. Célok . . . . .                                                                       | 35        |
| 4.3. Vizsgált rendszerek . . . . .                                                         | 37        |
| 4.4. Eredmények . . . . .                                                                  | 37        |
| 4.4.1. VCD spektrumok bázisfüggése . . . . .                                               | 39        |
| 4.4.2. $\alpha$ - és $\beta$ -szerkezetek rotátorerőssége és robusztussága közti különbség | 41        |
| 4.4.3. Láncossztól való függés vizsgálata . . . . .                                        | 43        |
| 4.5. Összefoglalás . . . . .                                                               | 47        |

|                                                                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>5. Az Ac-<math>\beta^3</math>-HPro-NHMe szerkezete és VCD jeleinek robusztussága</b>                            | <b>49</b>  |
| 5.1. Bevezetés . . . . .                                                                                           | 49         |
| 5.2. Eredmények . . . . .                                                                                          | 51         |
| 5.2.1. Számítási eredmények . . . . .                                                                              | 51         |
| 5.2.2. MI-IR és MI-VCD vizsgálatok . . . . .                                                                       | 59         |
| 5.2.3. Oldatfázisú vizsgálatok . . . . .                                                                           | 63         |
| 5.3. Összefoglalás . . . . .                                                                                       | 68         |
| <b>6. A 2-klórpropionsav szerkezete és VCD jeleinek robusztussága</b>                                              | <b>69</b>  |
| 6.1. Bevezetés . . . . .                                                                                           | 69         |
| 6.2. Eredmények . . . . .                                                                                          | 71         |
| 6.2.1. Az ( <i>S</i> )-(-)-2-klórpropionsav monomer . . . . .                                                      | 71         |
| 6.2.2. Az ( <i>S</i> )-(-)-2-klórpropionsav-CHCl <sub>3</sub> komplex . . . . .                                    | 77         |
| 6.2.3. Az ( <i>S</i> )-(-)-2-klórpropionsav dimer . . . . .                                                        | 83         |
| 6.3. Összefoglalás . . . . .                                                                                       | 88         |
| <b>7. Összefoglalás, konklúzió</b>                                                                                 | <b>91</b>  |
| <b>8. Summary</b>                                                                                                  | <b>92</b>  |
| <b>A. Az <math>\alpha</math>-, illetve <math>\beta</math>-ForAANHMe számított fizikai paraméterei táblázatosan</b> | <b>93</b>  |
| <b>Irodalomjegyzék</b>                                                                                             | <b>107</b> |

# Köszönetnyilvánítás

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

Külön köszönetet szeretnék mondani továbbá Dr. Magyarfalvi Gábornak és Dr. Vass Elemérnek munkám során nyújtott gyakorlati és elméleti segítségükért, hasznos tanácsaikért.

Nem utolsó sorban köszönettel tartozom feleségemnek, Fülöp Edinának, illetve szüleimnek, testvéremnek és nem utolsó sorban barátaimnak türelmükért és kitartásukért, a nehéz helyzetekben nyújtott segítségükért.

# 1. fejezet

## Bevezetés

### 1.1. Problémafelvetés, célkitűzés

A legtöbb, számunkra biológiai szempontból érdekes anyag királis, azaz – legegyszerűbb esetben – két, egymással tükörképi viszonyban levő (enantiomer) formában létezhet. Ezek a változatok az élő szervezetekre egymástól eltérő hatással bírnak, ami már régóta jól ismert (l. Contergan eset). Ezért fontos, hogy rendelkezésünkre álljanak olyan módszerek, amelyek segítségével sikerrel meg tudjuk határozni a királis vegyületek abszolút konfigurációját. Sokáig mindössze egyetlen technikát ismertek, amely képes volt erre: a röntgensugarak anomális szórásán alapuló mérést [1]. 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 oxigénatomot vagy annál magasabb rendszámú elemet kell tartalmaznia. A mágneses magrezonancia (nuclear magnetic resonance, NMR) spektroszkópiában királis shift reagensek<sup>1</sup> 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, valamint nem szükséges különféle királis reagensek felhasználása sem. A módszer rokona az elektronikus CD spektroszkópiának (electronic circular dichroism, ECD), összehasonlításukat az 1.2.1. fejezetben ismertetem. 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

---

<sup>1</sup>A királis shift reagensek olyan királis vegyületek, amelyek a vizsgált anyag enantiomereivel reagálva diasztereomer vegyületeket hoznak létre, így azoknak az egyes funkciós csoportjaihoz tartozó NMR jeleinek kémiai eltolódása eltérővé válik.

tükörképei egymásnak, a másiktól. Ugyanakkor a módszer alkalmas optikailag aktív vegyületek szerkezetvizsgálatára is, hiszen a jelek nagyságát és előjelét minden esetben többé-kevésbé befolyásolja a molekula felépítése és geometriája. A kiértékelés ebben az esetben is a számított, valamint a kísérleti úton mért spektrumok összevetésével történik. A VCD spektroszkópia a klasszikus szerkezetmeghatározó módszerekkel – mint amilyen a Fourier-transzformációs infravörös (Fourier-transform infrared, FT-IR) spektroszkópia – szemben is előnyökkel bír (bővebben l. 1.2.1. fejezet).

Merev molekulákra<sup>2</sup> a VCD mára egy jól bevált módszerre 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-faktorokból<sup>3</sup> számított relatív gyakoriságukkal ( $\frac{p_i}{\sum p_i}$ ) súlyozott spektrumainak összegével kell számolni. Azonban – mivel ezekben a molekulákban egy vagy több koordináta mentén az energia csak kis mértékben változik – az egyes molekulák konformációja jelentősen eltérhet az egyensúlyi geometriától. Ezért merev társaikhoz képest jóval nagyobb gondot jelentenek azok az ún. nem robusztus rezgési módjaik, amelyek az energiaminimum közelében előjelet válthatnak. Ráadásul egy flexibilis molekulának általában sokkal több rezgési módja nem robusztus, így egy adott szerkezetű molekulának a számított és a kísérleti úton kapott spektruma nem feltétlenül egyezik meg, megnehezítve a helyes asszignációt. Szükséges tehát, hogy kifejllesszünk egy módszert, amelynek segítségével előre meg tudjuk határozni, melyek azok a rezgési módok, 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 rezgési módjaik, amelyekre a számított előjelek nem tekinthetők megbízhatónak. Ezeken a modellvegyületeken tesztelhető, hogy a kifejlesztett módszer milyen eredményességgel jelzi előre ezeket a módokat, 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. például 4. vagy 6.2.3. fejezet), illetve komplexei (l. 6.2.2. fejezet). A kísérleti úton is vizsgált vegyületek abszolút konfigurációja ismert

<sup>2</sup>Érdemes megjegyezni, hogy a kifejezés nem teljesen helyénvaló, hiszen egy merev molekuláknak nem lennének rezgései. Ebben az esetben a „félmerev” kifejezés helyesebb lenne, azaz, hogy – ellentétben a flexibilis molekulákkal – a konformerei közötti gát elég magas ahhoz, hogy azok ne tudjanak egymásba alakulni. Ennek ellenére gyakran előfordul előbbi használata az utóbbi szinonímájaként: l. például Bunker és Jensen monográfiáit [2, 3], továbbá a VCD szakirodalomban is elterjedt az utóbbi értelemben vett használata, l. például [4–6].

<sup>3</sup>Egy részecske különböző energiaállapotai betöltöttségének arányát azok Boltzmann-faktorai ( $p_i$ ) adják meg adott hőmérsékleten ( $T$ , K-ben).  $p_i = \exp(-\Delta G_T^\circ/RT)$ , ahol  $\Delta G_T^\circ$  az adott állapot relatív szabadentalpiája a legalacsonyabbéhoz képest adott hőmérsékleten (kJ mol<sup>-1</sup>-ban) és  $R$  az egyetemes gázállandó (8,314 J mol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>). Esetünkben a különböző energiájú állapotok a molekula különböző konformereit jelentik.

volt, ami támpontot nyújtott a számítások eredményei helyességének ellenőrzésében is, azonban kutatásom a szerkezetmeghatározásra összpontosult.

Doktori munkám során különböző optikailag aktív biomolekulák szerkezetvizsgálatát végeztem el VCD spektroszkópia segítségével, amelyet egyéb spektroszkópai módszerek (többek között 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 és tesztelése, 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.

Vizsgálataim tárgyául az alábbi molekulák szolgáltak:

1. N-formil-N'-metilezett aminosavak mono-, di- és trimerek (4. fejezet),
2. az N-acetil-N'-metil- $\beta^3$ -homo-prolinamid (Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe) konformerek (5. fejezet)
3. és a 2-klórpropionsav monomerek, dimerek és  $\text{CHCl}_3$  komplexek (6. fejezet)

melynek során azok szerkezetét meghatároztam, illetve a számított VCD jelek robusztusságát tanulmányoztam.

## 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 – ilyen például egy enantiomerpár két tagja – a jobbra és balra cirkulárisan polarizált fényt (l. 2.2.1. fejezet) eltérő mértékben nyelik el. A legelső kísérletek az elektromágneses spektrum ultraibolya-látható (ultraviolet-visible, 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 számos előnnyel bír az alternatív módszerekkel szemben. Ilyen például az, hogy az ECD spektroszkópiához hasonlóan ugyanúgy rendelkezik előjellel a kapott spektrum, ez viszont többletinformációt 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 számíthatók, mivel azokhoz a molekula elektron-alapállapotának ismerete elegendő. 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 érzékenységeinek 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], amit 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). A VCD és ROA spektroszkópiát összefoglalóan rezgési optikai aktivitásnak (vibrational optical activity, VOA) is nevezik. A ROA elméletét 1971-ben fektették le [17], amit 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 tovább 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, hogy a vizsgálandó anyag molekuláit egymástól elkülönítve, külső kölcsönhatásoktól, valamint az esetlegesen lezajló nemkívánatos mellékreakcióktól védve vizsgáljuk. Tehát az egyes, izolált specieszek szerkezeti tulajdonságairól nyerhetünk információt, amelyek jól összevethetők a kvantummechanikai számításokkal is. Az ötlet Pimentel nevéhez fűződik, aki 1954-ben először alkalmazta a módszert [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 jelek 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, ami a gázfázisú spektrumokhoz képest jelent egyszerűsödést.

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: például (para-)H<sub>2</sub> vagy N<sub>2</sub>. 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) áteresztik az elektromágneses sugárzást. E tulajdonságuknak köszönhetően párhuzamosan több módszerrel is vizsgálhatjuk mátrixba zárt vegyületünket. Ha célunk a mátrix és a vizsgált speciesz közötti reakció tanulmányozása, mátrixként reaktív anyagot is felhasználhatunk (például metán, hidrogén, ammónia).

A mátrixizolációs technika alkalmazásakor általában figyelembe kell vennünk néhány hatást, amelyeket összefoglaló néven mátrixhatásként (‘matrix effect’) említenek. Az első, miszerint a kismértékű mátrix-speciesz kölcsönhatás miatt a szabad molekulához, azaz a gázfázisban észlelthez képest minden esetben bizonyos mértékű eltolódás észlelhető (aránya 0,005 körül van) [22, 23, 298. o.], és amit mátrixeltolódásnak (‘matrix shift’) neveznek. Ezen kívül a kapott spektrumot bonyolíthatja (és az esetek nagy

részeiben bonyolítja is) az üregfelhasadás ('site-splitting') is, amely a vizsgált speciesz spektrumvonalainak felhasadását jelenti. Ezt az okozza, hogy a vizsgált anyag molekulái a mátrix különböző méretű és alakú üregeiben találhatók meg, aminek következménye a rezgési sávok felhasadása. Harmadik az üreghatás ('cage effect'), amelyet leggyakrabban mátrixban végzett (*in situ*) fotokémiai reakcióknál figyelhetünk meg. A gázfázisú reakciókkal ellentétben a bomlástermékek a merev mátrixba zárva nem tudnak eltávolodni egymástól, így az egymás mellett elhelyezkedő reaktív termékek tovább reagálhatnak egymással.

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 – azon túl, hogy számos tartományban el is nyeli a fényt – komplexeket képezhet a vizsgált anyagunkkal, és a megjelenő sávok megnehezítik a spektrum értelmezését. A nedvesség távol tartásának másik feltétele az elegendően nagy vákuum megléte ( $< 10^{-7}$  mbar). Az MI technika számos spektroszkópiai módszerrel kapcsolható, ezek közül leginkább használtak az UV-VIS, az IR, a VCD és az elektronspin-rezonancia (electron spin resonance, ESR) spektroszkópiák. Ekkor – megkülönböztetésül az egyéb technikáktól – a használt spektroszkópiai módszer neve elé tesszük a mátrixizolációs (vagy röviden MI-) előtagot: például MI-IR, MI-VCD spektroszkópia.

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<sup>4</sup> 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<sup>-1</sup> körüli legyen. Kellően kis konformációs gátak esetén hőkezelést követően új konformereloszlás alakul ki, ami nyomon követhető a spektrumvonalak intenzitásának változásával, 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 reaktív specieszek az inert mátrixban stabilak: amíg lehetővé nem tesszük a diffúziót, addig szabadon tanulmányozhatók. (3) Molekulakomplexek előállítása, illetve ezek szerkezetvizsgálata. A mérés során a két összetevőt együtt választják le, majd hőkezeléssel (l. 6. fejezet) elérhetjük a komplexek

---

<sup>4</sup>Az effúzió egy gáznak az azt tartalmazó edényből, részecskéinek közepes szabad úthosszánál kisebb méretű lyukon történő kiáramlását jelenti. Sebessége (azaz, hogy hány részecske halad át adott időegység alatt) fordítva arányos az adott részecske molekuláris tömegének négyzetgyökével (Graham-féle effúziós törvény). Effúziós mintabeeresztéshez a gyakorlatban leggyakrabban Knudsen-cellát használnak.

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<sup>5</sup> kb. 2/3-áig felmelegítve lehetővé válik a kis és közepes méretű molekulák diffúziója, majd azt követően a komplexek keletkezése.

Az MI technikát biomolekulák építőelemeinek (nukleotid bázisok és aminosavak) vizsgálatára is alkalmazták már. Aminosavak vizsgálatát túlnyomórészt MI-IR technikával valósítják meg: az első ilyen tanulmány Grenie és munkatársai nevéhez fűződik, amelyet glicinnel végeztek el 1970-ben [25]. Később más aminosavakat is vizsgáltak: leucint [26], prolint [27, 28] alanint [29], valint [30], szerint [31, 32], tirozint [33], fenilalanint [34], triptofánt [35] és ciszteint [36]. Ezzel majdnem egyidőben kezdtek el különböző peptidmodellek szerkezetének felderítését is [37, 38]. Kutatócsoportunk többek között különböző  $\alpha$ -, illetve  $\beta$ -peptidek és -peptidmodellek (N-acetil-N'-metil-glicinamid [Ac-Gly-NHMe] [39], glicin [40, 41], alanin [42] és cisztein konformerek [43], illetve N-acetil-N'-metil- $\beta^3$ -homo-glicinamid és -alaninamid [Ac- $\beta^3$ -Gly-NHMe és Ac- $\beta^3$ -HAla-NHMe] [44]), továbbá a 2-klórpropionsav [45] MI-IR vizsgálatát végezte el az elmúlt években.

A munkám során használt mátrixizolációs berendezés részegységeinek ismertetése a 2.2.2. fejezetben olvasható, illetve részletesebb leírása a Magyar Kémiai Folyóiratban már korábban megjelent [46].

### 1.2.3. MI-VCD spektroszkópia

A VCD spektroszkópiát és a mátrixizolációs technikát először 1986-ban kapcsolták össze [5, 47], ennek során az  $\alpha$ -pinént vizsgálták Ar, illetve N<sub>2</sub> mátrixban. Az MI-VCD legnagyobb előnye a folyadékfázisú mérésekkel szemben a jelszélesség csökkenése. Ez a VCD spektroszkópiában különösen fontos, mivel a spektrum sávjai előjelesek. Így ha a két átfedő sáv jele ellentétes de jelerősségük hasonló nagyságú, kioltják 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

<sup>5</sup>A gyakorlatban azt a hőmérsékletet tekinthetjük „szublimáció megindulási hőmérsékletnek”, ahol a mátrix anyagvesztése a vizsgálat időtartama alatt már jelentős. Argon használata esetén 45 K hőmérsékleten néhány perc alatt elpárolog a mátrix, így kb. 30 K-ig lehet azt „biztonságosan” hőkezelti. Cradock és Hinchcliffe monográfiájában [24] az olvadáspont 0,3 és 0,5-szöröse közötti hőmérséklettartományt (ami argon esetén 25-42 K-t jelent) ajánlja hőkezelésre. Ekkor a nyomás – készüléktől is függően –  $10^{-5}$ – $10^{-3}$  mbarig mehet fel.

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 [48]),  $\alpha$ -peptidmodellek (N-acetil-N'-metil-L-alaninamid [Ac-L-Ala-NHMe] [39], N-acetil-L-prolinamid [Ac-L-Pro-NH<sub>2</sub>] [49]) és vizes komplexeik (Ac-L-Ala-NHMe–H<sub>2</sub>O komplex [50]),  $\beta$ -peptidmodellek (a bevezetőben már említett Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe [51], l. 5. fejezet), illetve karbonsavszármazékok (2-klórpropionsav [52], l. 6. fejezet) MI-VCD 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 nevéhez fűződik [53], aki 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):

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

ahol  $\Im$  az imaginárius részt jelöli,  $a$  és  $b$  a rezgési alap és gerjesztett állapot,  $\hat{\boldsymbol{\mu}}_e$  és  $\hat{\boldsymbol{\mu}}_m$  az elektromos és mágneses dipólusmomentum-operátorok, amelyek az alábbi módon fejezhetők ki:

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

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

$q_k$ ,  $\mathbf{r}_k$  és  $\mathbf{p}_k$  a  $k$ . részecske töltését, hely- és impulzusvektorát jelenti, mind az elektronokra, mind a magokra. A kifejezések atomi egységben vannak. A Rosenfeld-formulából levezethető a VCD spektrumok néhány sajátossága: mivel  $\hat{\boldsymbol{\mu}}_e$  és  $\hat{\boldsymbol{\mu}}_m$  a reflexióra (síkra tükrözésre) és az időtükrözésre (idő irányának megfordítására) nézve eltérő szimmetriával – páros ( $g$ ), illetve páratlan ( $u$ ) – rendelkeznek, így szorzatuk ( $R_{ab}$ ) is páratlan lesz azokra nézve. Ebből következik, hogy az enantiomerek VCD spektruma egymásnak tükörképe lesz. Ez azt is jelenti, hogy szimmetrikus molekulákra a rotátorerősség szükségképpen zérus.

Belátható továbbá, hogy a rezgési módok rotátorerősségeinek összege zérus:

$$\sum_{\nu} R_{0,\nu} = \Im \{ \langle 0 | \hat{\boldsymbol{\mu}}_e | \nu \rangle \langle \nu | \hat{\boldsymbol{\mu}}_m | 0 \rangle \} = \Im \{ \langle 0 | \hat{\boldsymbol{\mu}}_e \hat{\boldsymbol{\mu}}_m | 0 \rangle - \langle 0 | \hat{\boldsymbol{\mu}}_e | 0 \rangle \langle 0 | \hat{\boldsymbol{\mu}}_m | 0 \rangle \} = 0 \quad (2.4)$$

A rotátorerősség értelmezhető úgy is, mint az elektromos és mágneses átmeneti dipólus-momentum-vektorok skalárszorzata:

$$R_{ab} = |\boldsymbol{\mu}_e(a \rightarrow b)| |\boldsymbol{\mu}_m(b \rightarrow a)| \cos \xi, \quad (2.5)$$

ahol  $\xi$  a két vektor által bezárt szög. Azaz  $R_{ab}$  nagysága nem csak a két vektor nagyságától, hanem az általuk bezárt szögtől is függ. Ha ez közel  $90^\circ$ , 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.

Az ECD spektrumok számításához elegendő az elektronok átmeneti dipólusmomentum-operátorokhoz való hozzájárulásának ismerete, a magoké elhanyagolható. Nem ez a helyzet azonban a VCD spektrumok esetén, amelyekhez a rotátorerősség számításához minden tag ismerete szükséges. 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, amelyre vonatkozó számítási módszer kidolgozása a Born–Oppenheimer (BO) és a harmonikus közelítés keretein belül egészen az 1980-as évek közepéig váratott magára.

$\boldsymbol{\mu}_e$  számításánál néhány elhanyagolást kell bevezetnünk: ilyen a BO közelítés, amely szerint a molekula hullámfüggvénye ( $\phi$ ) az elektronok ( $\varphi_e$ ), valamint a magok ( $\varphi_n$ ) hullámfüggvényének szorzata. Ennek eredményeként értelmezhető a potenciálfelület és a dipólfelület fogalma, amelyeket harmonikusan közelítünk: a felületek minimumának közelében kvadratikussá, illetve lineáris összefüggést feltételezünk. Más szóval a rezgések harmonikus közelítésének eredménye, hogy az egyes rezgési átmenetek elektromos és mágneses átmeneti dipólusmomentuma becsülhető a dipólusmomentum normálkoordináták szerinti sorfejtésével annak első tagjáig. Ekkor a molekula elektromos dipólusmomentumainak normálkoordináták ( $Q_i$ ) szerinti deriváltjait vesszük egyensúlyi helyzetben ( $Q = 0$ ). A magok és az elektronok hozzájárulása különválasztható, utóbbiak hozzájárulása a legtöbb kvantumkémiai programcsomag segítségével, számos elméleti módszerrel – Hartree–Fock (HF), sűrűségfunktional-elmélet (density functional theory, DFT), perturbációs módszerek (például MP2), coupled cluster (például CCSD), stb. – számíthatók, mivel az erőállandók (így a normálrezgések és a harmonikus rezgési frekvenciák) számításához szükségesek.

A mágneses átmeneti dipólusmomentum másképpen viselkedik, mint az elektromos tag. Az operátor egyszerre tisztán imaginárius (azaz nincs valós része, mivel alakja az impulzusoperátorhoz hasonlóan  $-i\hbar\frac{\partial}{\partial x}$ ), ugyanakkor hermitikusnak is kell lennie (mert fizikai mennyiséget ír le), ebből következik, hogy valós sajátfüggvények – mint a nemdegenerált szinglet állapotok – esetén csak 0 sajátértékei lehetnek [8, 54]. Ez a magkonfiguráció megváltozásával sem változik, így az elektronoknak elvileg nincs hozzájárulásuk a mágneses átmeneti dipólusmomentumhoz. 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 dipólusmomentum számításához olyan modell szükséges, amelyben a BO közelítés ezen hiányosságát kiküszöböljük. Az első ilyen a Nafie és Freedman vibronikus csatolás elmélete (vibronic coupling theory, VCT, [55]) volt. A legfontosabb lépés a VCD spektrumok számítása szempontjából Stephens nevéhez kötődik, aki a mágneses mező perturbációs módszert (magnetic field perturbation, MFP, [54, 56]) alkotta meg, amelyet a mai napig használnak. Kezdetben HF [57] elméleti szinten számítottak rotátorerősségeket, de ezek nem szolgáltatottak jó eredményeket. Ezt követte néhány MP2 [58], illetve MCSCF [59] számítás, amely növelte ugyan a pontosságot, de ez a számítási igény jelentős növekedésével járt. A DFT módszer használata [60] hozta el az áttörést, amely elegendően pontos 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 [61]. A harmonikus közelítés miatt továbbá nehézkes az eredő mágneses momentummal rendelkező molekulák kezelése. Ilyenek a gyökök, illetve átmeneti fémkomplexek, utóbbiaknál gyakran szokatlanul nagy rotátorerősségeket kaphatunk [62].

A mágneses átmeneti dipólusmomentum nagyon fontos tulajdonsága, hogy nem mértékinvariáns: ha a koordináta-rendszerünk középpontját áthelyezzük,  $\mu_m$  nagysága és iránya is változhat. Ebből következik, hogy  $\mu_e$ -vel bezárt szöge (azaz  $\xi$ , l. 2.5 egyenlet) sem független a koordináta-rendszer megválasztásától: mindig tudunk olyan középpontot választani, ahol  $\xi \approx 90^\circ$  lesz. Azonban skalárszorzatuk – a rotátorerősség – mértékinvariáns, valós érték.  $\mu_m$ -nek az origó helyétől való függését a mértékinvariáns atompályák (gauge independent atomic orbitals, GIAOs [63, 64]) használatával tudjuk kiküszöbölni. A legtöbb kvantumkémiai programcsomag, amelyben a VCD rotátorerősségek számítása elérhető – mint amilyenek a munkám során használt Gaussian [65] és PQS (parallel quantum solutions) [66] szoftverek is –, mértékinvariáns atompályákat használ a számítások során.

A VCD spektroszkópia elméletéről – így az elektromos és mágneses átmeneti dipólusmomentumok számításáról – bővebben kutatócsoportunk korábban megjelent

összefoglaló munkájában lehet olvasni [8].

### 2.1.2. VCD jelek robusztussága

Ahogy arról szó volt a korábbiakban, 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 ekkor a számított előjelek ellentétesre változhatnak [48, 52, 67], valamint a kísérleti úton mért előjelek is megváltozhatnak.

Nem minden VCD jel mutatja ezt a sajátosságot, bizonyos VCD sávok előjelei nem érzékenyek a külső körülmények megváltozására. Mások viszont előjelet válthatnak a legkisebb perturbációra is – például kölcsönhatás az oldószermolekulával [68] –, vagy a számítási módszerben – például egy másik módszer vagy bázis használata (l. 4.4.1. fejezet) –, így nagy óvatossággal kell elvégeznünk az asszignálást. Érdemes emiatt tehát valamilyen elv szerint csoportosítani a VCD jeleket.

Egy ilyen rendező elv a robusztusság elmélete, amely a VCD előjeleket robusztusokra, illetve nem robusztusokra osztja fel aszerint, hogy azok mennyire érzékenyek a külső körülmények megváltozására. Ezt a módszert eredetileg Nicu és munkatársai vezették be [69]. Definíciójuk szerint a robusztusság a két átmeneti dipólusmomentum-vektor által bezárt szög ( $\xi$ , l. 2.5 egyenlet). Ha ez  $90^\circ$  körül van – például kicsit több annál – akkor a legkisebb perturbáció hatására megváltozik – például kicsit kevesebb lesz, mint  $90^\circ$  – így a rotátorerősség előjelet vált (l. 2.5 egyenlet). Ezzel ellentétben, ha nagymértékben eltér  $90^\circ$ -tól (legalább  $30^\circ$ -kal) akkor a perturbáció hatására sem lesz akkora a változása, hogy a rotátorerősség előjelet váltson.

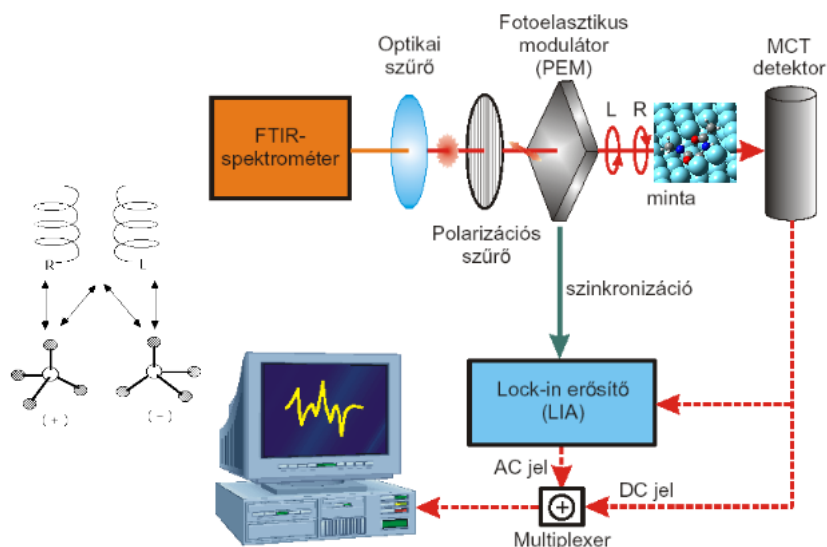
Azaz a számított VCD sávokat kétfelé lehetne osztani, aszerint, hogy előjelei érzékenyek-e a perturbációra, avagy sem. Amennyiben egy VCD rezgési mód előjelet vált, ha a molekulageometria kissé megváltozik – például más bázison optimalizáltuk molekulánkat, vagy oldószermodeellt használunk –, akkor nem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

Korábban már esett szó arról (illetve később a 3. fejezetben részletesebben is tárgyalom), hogy a két átmeneti dipólusmomentum-vektor által bezárt szög koordinátarendszer-függő. Így – ahogy azt célkitűzéseim között is megemlítettem – egyik feladatom a robusztusságot jellemző új, elméletileg helyesebb mennyiség bevezetése és tesztelése volt.



## 2.2. Kísérleti részletek

### 2.2.1. VCD berendezés

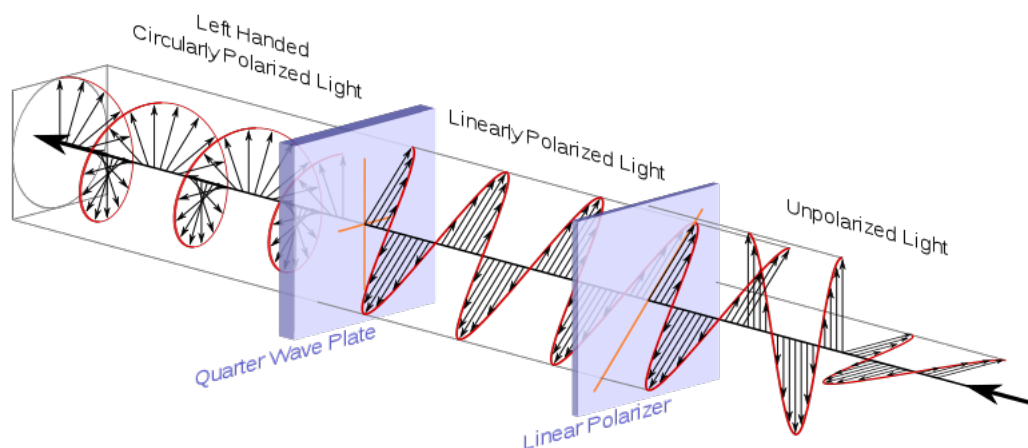


2.1. ábra. A VCD spektrométer felépítése

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

A fényt tekinthetjük úgy, mint transzverzális elektromágneses hullámot: rezgései – két (egymásra merőleges elektromos, illetve mágneses) komponensből áll – merőlegesek a terjedési irányára. Egy ilyen hullámcsoportban általában az egyes hullámok más síkban és más fázisban végzik el rezgéseiket (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, ezt a síkot polarizációs síknak nevezzük. Ezenkívül a hullám lehet elliptikusan (illetve ennek speciális eseteként körkülárisan) polarizált, amikor az elektromos térerő vektora nem egy egyenes mentén rezeg, hanem egy ellipszis (illetve egy kör) mentén forog körbe-körbe. Attól függően, hogy az óramutató járásának megfelelően, avagy azzal ellentétesen mozog, beszélhetünk jobbra, illetve balra elliptikusan vagy körkülárisan polarizált fényről.

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



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

elliptikus 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, kettőtörés, reflexió, optikai rácsok reflexió-transzmissziója, illetve fényszórás.

Ezek közül az első négyet röviden összefoglalva: (1) a dikroizmus jelensége, azaz a fény anizotróp módon történő elnyelése. Klasszikus példa erre a turmalin kristály. (2) A kettőtörést először Erasmus Bartholinus dán professzor írta le, amikor egy izlandi pát kristályon átnézve észrevette, hogy a tárgyaknak kettős képét látja. Az általa észrevett jelenség során a polarizálatlan fény egy anizotróp közegbe jut, és két, egymásra merőleges (a kristály optikai tengelyével párhuzamos, illetve arra merőleges) lineárisan polarizált komponensre válik szét. Amennyiben a bejövő fény nem merőleges a közeg határára, az optikai tengelyre merőleges komponens a Snellius–Descartes törvényt követi (ordinárius sugárnak nevezik), az optikai tengellyel párhuzamos ezzel szemben eltérően viselkedik (extraordinárius sugár), így szétválnak. 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 például Nicol, Ahrens, Glan–Foucault, Glan–Thompson. A kettőtörés jelenségén alapulnak az ún. polaroidszűrők is, amikor valamilyen polimerre kettőtörő 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 polarizált 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:

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

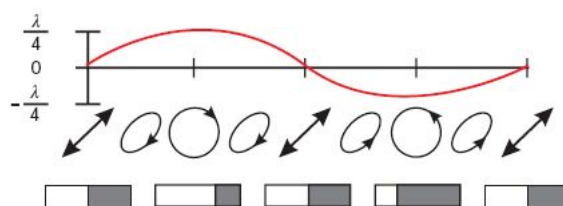
ahol  $\alpha$  a beesési,  $\beta$  a diffrakciós szög,  $a$  a rácsállandó,  $m$  pedig a diffrakció rendje (amely egész számú értéket vehet fel). Amennyiben  $\frac{\lambda}{a} + \sin \alpha > 1$ , úgy a diffrakció jelensége nem lép fel, hanem a rács polarizátorként viselkedik: a sugár visszaverődik, illetve áthalad, féligáteresztő tükörként viselkedve. Az áthaladó sugárzás polarizált lesz, a polarizációs 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 fény elektromos vektorát két, egymásra kölcsönösen merőleges komponensre (ordinárius, illetve extraordinárius) bontják fel, amelyek között fáziskülönbséget hoz létre. A két komponens arányát a beeső fény polarizációs síkja és a kristály optikai tengelye által bezárt szög ( $\alpha$ ) határozza meg:  $E_o/E_e = \tan \alpha$ .  $E_o$  az elektromos vektor ordinárius,  $E_e$  pedig az extraordinárius komponensét jelöli, amelyek közti fáziskülönbségnek köszönhetően jön létre az elliptikusan polarizált (illetve ha a fáziskülönbség  $\pi/4$ , akkor cirkulárisan polarizált) fény. Két fizikai jelenséget használnak fel a retarderek: a kettőtörést, illetve a teljes visszaverődést. 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,  $\Delta n$  a törésmutatók különbsége.

Kettőtörést előállíthatunk például optikailag izotróp közegre (például egy köbös kristályra) történő mechanikai erő kifejtésével is, ezek az ún. fotoelasztikus modulátorok (photoelastic modulator, 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.



**2.3. ábra.** A PEM által előállított polarizált fény változása az idővel. Forrás: [http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/CD\\_PEM.html](http://www.chemistry.nmsu.edu/Instrumentation/CD_PEM.html)

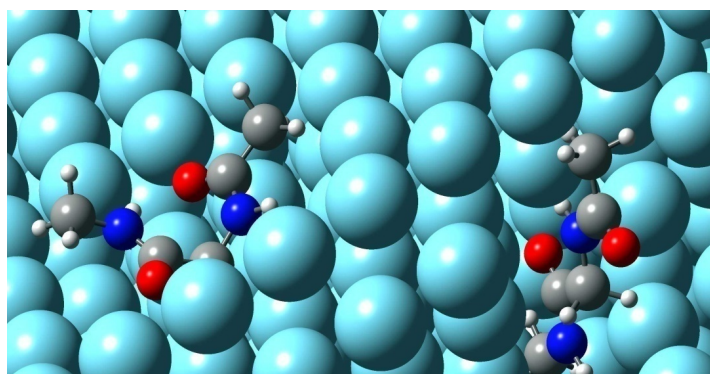
Általában a VCD mérés során a lineáris polarizátor után egy PEM-et teszünk, ahol  $\alpha = 45^\circ$ . Az optikailag izotróp elem – leggyakrabban egy ZnSe egykristály – a piezoelektromos motor frekvenciájának megfelelően periodikusan összenyomódik, majd relaxál eredeti állapotába. Ennek során kettőtörésűvé válik, azaz a fő- és melléktengelye mentén eltérő lesz a törésmutatója, így a rajta keresztül áthaladó fény terjedési sebessége különböző lesz e két egymásra merőleges síkban. A terjedési sebességek közti eltérés (azaz a jelentkező fáziskülönbség) a mechanikai hatás erősségétől függ (amely a piezoelektromos motorokra kapcsolt feszültséggel arányos). A polarizációs szűrő síkjának és a modulátor tengelyének egymáshoz viszonyított  $45^\circ$ -os elrendezéséből adódóan a belépő lineárisan polarizált fény ordinárius és extraordinárius komponense 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  $\lambda$  hullámhosszra pontosan  $\lambda/4$  legyen, aminek eredménye a 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 előről (l. 2.3. ábra). A hullámhosszfüggés miatt a polarizált fény csak egyetlen hullámhosszon lesz tisztán cirkulárisan polarizált. A PEM egység működésének részletes, valamint a spektroszkópia gyakorlati kérdéseiről bővebb leírás Schrader monográfiájában található [23, 543-544. o.].

A szinkron erősítő (lock-in amplifier, LIA) a PEM-mel szinkronizált, 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 (amely általában egy FT-IR spektrométer) 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 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 hullámszám-tartományra vagyunk kíváncsiak.

### 2.2.2. MI berendezés



**2.4. ábra.** *Sematikus ábra egy nemesgáz mátrixba zárt modellpeptidről. A kép nem méretarányos, csak illusztráció.*

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, ezeket mátrixizolációs mérésekre először 1967-ben használták [70, 6. o.]. A rendszer egyik fontos egysége a kompresszor, amely általában héliumot nyom össze kb. 20 atm nyomáson, majd továbbít egy másik egységbe, a mérőfejbe ('cold head', 'refrigerator unit'). A kompresszió során keletkezett hőt víz- vagy léghűtés segítségével vonjuk ki a rendszerből (egy kompresszor kb. kétévente szorul felülvizsgálatra, He- és szűrőcserére). A mérőfejben a He gáz egy dugattyú segítségével áthalad a hőcserélőn, két fokozatban kitágul, illetve lehűl, majd visszakerül a kompresszorba. Egy kétkörös kriosztát a hidegponton (más néven hidegujjon, amely a mérőfej végén található) 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: ennél egy kétkörös rendszer után a Joule–Thomson effektust használják ki, ahol a He további expanziója során egészen 4 K-ig hűl le.

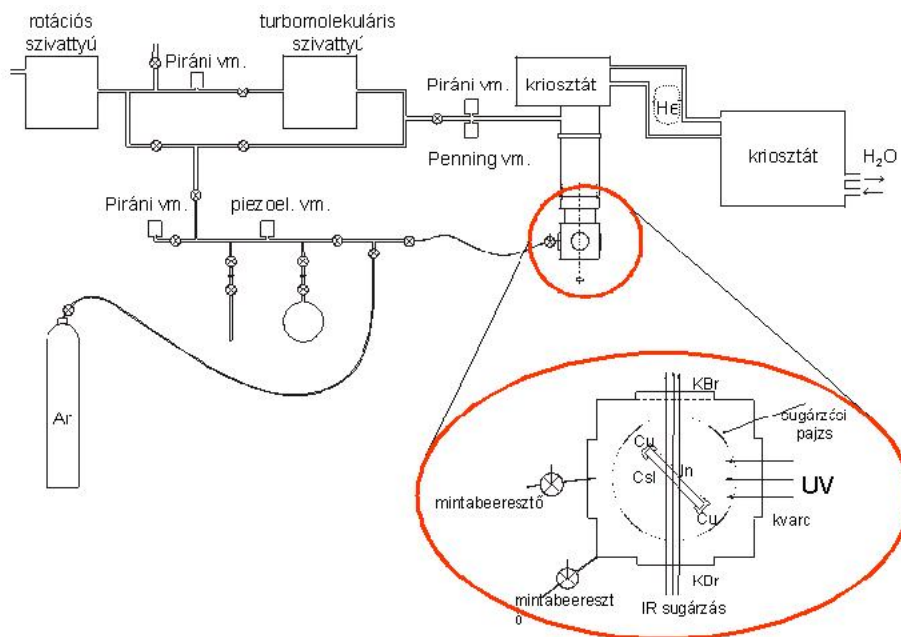
Másik fontos részegység a nagyvákuum-rendszer, amelynek kettős feladata van: a hőszigetelés, illetve annak megakadályozása, hogy a hűtött részekre a levegő nedvességtartalma kifagyjon. Ehhez  $10^{-4}$  mbar, vagy még ennél is alacsonyabb nyomás szükséges, amelyet diffúziós vagy turbomolekuláris szivattyú 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, ami a spektrum minőségét lerontja. További követelmény, hogy a hidegponthőmérséklete 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, ami 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.

A hidegpontra erősített hűtött felületként – amelyre a mátrix leválasztása történik – valamilyen alkáli-halogenid (például  $\text{BaF}_2$  vagy  $\text{CsI}$ ) ablak vagy polírozott reflexiós felület használható. A  $\text{CsI}$  – amellett, 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 karcosodik, tehát nagyon körültekintően kell eljárni a használata során.

A munkám során használt MI berendezés a laboratóriumunkban jelenleg üzemelő három közül 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 találni.) Felépítése a következő: a berendezés lelke egy kétfokozatú, zártkörös, vízhűtéses CTI Cryogenics 22 típusú He-kriosztát, amellyel 8–9 K hőmérsékletet lehet elérni, azaz  $\text{Ne}$  és  $\text{H}_2$  kivételével minden egyéb mátrixképző anyag alkalmazható. (A gyakorlatban leginkább argonnal, ritkábban kriptonnal végeztem a kísérleteket.) A kriosztát hidegujjához indium tömítéssel keresztül erősíthető a leválasztásra használt felület (kísérlettől függően  $\text{BaF}_2$  vagy  $\text{CsI}$  ablakokat használtam). A hidegujjat egy, a kriosztát első köréhez szerelt, kb. 70 K hőmérsékletű, a fényutak irányában megfelelő kivágásokkal ellátott alumínium hőpajzs veszi körül. A hidegponthőmérsékletét 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.



**2.5. ábra.** A mátrixizolációs berendezés vázlatos rajza

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 áramlásszabályozón keresztül történik. A tipikus beeresztési sebesség  $1\text{--}3 \text{ mmol h}^{-1}$ , ami – mintától és kísérlettől függően – 2–20 órás mátrixleválasztási időt eredményez. Kevésbé illékony szilárd minták vizsgálatához egy kb.  $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$ -ig fűthető Knudsen-effúziós mintabeeresztő használható. Ebben az esetben az argon áramlási sebességét a szokásos  $1\text{--}3 \text{ mmol h}^{-1}$  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, amit 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. Ezeknél a méréseknél a mátrixablak  $45^{\circ}$ -os szöget zár be az IR fénnyel, illetve a mintabeeresztés iránya a fényútra merőleges, így a



leválasztást folyamatosan lehet követni, l. a 2.5 ábrán látható elrendezést. 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 BaF<sub>2</sub> ablakot. Ennél az elrendezésnél a leválasztás és a mérés szakaszosan történik. 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 [46].

A mátrixizolációs technika gyakorlatáról többet az Andrews és Moskovits által írt monográfiában lehet olvasni [70].

## 2.2.3. Kísérleti körülmények

### 2.2.3.1. Mintaelőkészítés

Az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe előállítását Arndt-Eistert szintézissel Boc- $\alpha$ -L-Pro-OH-ból (Bachem termék) az együttműködő kollégák végezték el. A szintézis, a kapott termék tisztításának és analízisének részleteit l. korábbi munkánkban [51]. Az (*S*)-(-)- és (*R*)-(+)-2-klórpropionsavat (Aldrich, > 99%) oldatfázisú mérésekhez további tisztítás nélkül használtam, mátrixizolációs mérések előtt – az illékony szennyezők eltávolítása végett – vákuumbepárlással tisztítottam.

A mátrixizolációs kísérletek során az Ac- $\beta^3$ -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- $\beta^3$ -HPro-NHMe esetén 345, a 2-klórpropionsav esetén 273 K volt, ez a lehető leggyorsabb beeresztési sebességet tette lehetővé anélkül, hogy a minta dimereket képezzen, és jelek a spektrumban láthatóvá váljanak. A beeresztés során az elpárolgott minta az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe esetén Ar (Messer, 99,9997%), illetve Kr (Messer, 99,998%) mátrixalkotó gázzal, a 2-klórpropionsav esetén Ar, illetve Ar:CHCl<sub>3</sub> keverékkel együtt fagyott ki egy 8 K hőmérsékletű BaF<sub>2</sub> vagy CsI ablakra (a 2-klórpropionsav esetén csak az utóbbira). A gázáram 0,07 mmol min<sup>-1</sup>, a leválasztás ideje 5–7 óra volt, ekkor a legnagyobb elnyelésnél  $A \approx 0,7$ –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- $\beta^3$ -HPro-NHMe esetén csak utóbbival) az 1200–1900  $\text{cm}^{-1}$ , illetve a 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  spektrális tartományban vettem fel, higany-kadmium-tellurid (mercury-cadmium-telluride, MCT), illetve deuterio-triglicin-szulfát (deuterio-triglycine-sulfate, DTGS) detektort használva, 2, illetve 1  $\text{cm}^{-1}$  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 minden esetben 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  $\text{cm}^{-1}$  tartományban vettem fel 2  $\text{cm}^{-1}$ -es felbontással (7 óra, 13783 scan, a 2-klórpropionsav esetén 6 óra, 11817 scan). Az oldatfázisú mérések során Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe trideutero-acetonitriles (ACN- $d_3$ ), hexadeutero-dimetil-szulfoxidos (DMSO- $d_6$ ) és diklór-metános oldatát vettük fel 10  $\text{mg dm}^{-3}$  koncentrációban, 0,207 mm-es BaF<sub>2</sub> küvettában. A 2-klórpropionsav esetén annak CHCl<sub>3</sub>, illetve CCl<sub>4</sub> oldatát vettem fel, 0,2, illetve 1,0  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációban, 1 mm-es CaF<sub>2</sub>, illetve 0,2 mm-es BaF<sub>2</sub> küvettában. A mérések az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe esetén 7, a 2-klórpropionsav esetén 6 órán keresztül zajlottak, 4  $\text{cm}^{-1}$ -es felbontással (24524, illetve 21022 scan). A kapott spektrumot az oldószer spektrumával korrigáltam.

### 2.2.4. Számítások háttére

#### 2.2.4.1. A geometria optimalizálása

Az  $\alpha$ - és  $\beta$ -gerinckonformációjú peptidmodellek (N-formil-N'-metil-aminosav amidszármazéka, röviden ForAANHMe, ahol AA az aminosavat jelöli, ez lehet Asn, Asp, Cys, Val) előzetes geometriai optimalizálását a Gaussian programcsomag [65] segítségével végeztem el. A számítások az egyes peptidmodellek energiaminimumainak (konformereinek) megkeresésével kezdődtek, és B3LYP/6-31G\* (Becke-féle három paraméteres B3 kicserélődési [71], Lee-Yang-Parr 3LYP korrelációs funkcionálja [72], a Pople-féle 6-31G\* bázison [73]) elméleti szinten zajlottak. Ennek során a kezdeti geometria egy tetszőlegesen felvett  $\alpha$ - ( $\varphi = -60^\circ$ ,  $\psi = -40^\circ$ ), illetve  $\beta$ -szerkezetű peptidmodell volt ( $\varphi = 180^\circ$ ,  $\psi = 180^\circ$ ), amelyek geometriájának optimalizálását az oldalláncé követte (az aminosavak legfontosabb torziós szögeinek jelölései a 4.1. ábrán láthatók). Ekkor a peptidmodell  $\varphi$  és  $\psi$  torziós szögeit változtatlanul hagytam, míg az oldallánc  $\chi_1$  és  $\chi_2$  (illetve  $\chi_3$  a ForAspNHMe és ForAsnNHMe molekuláknál) torziós szögeit egyenként 30 fokos szöggel elforgattam. Az így kapott konformerek energiáit

kiszámítottam, amelyeket a torziós szögek függvényében ábrázolva egy 3 dimenziós potenciális energia felületet kaptam. Ennek a minimumpontjaihoz tartozó szerkezetek teljes (azaz a  $\varphi$  és  $\psi$  torziós szögeit is figyelembe vevő) geometriai optimalizálásával kaptam meg az egyes konformereket.

Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe geometriai optimalizálását Gaussian programcsomaggal, néhány kémiai intuíció alapján kiválasztott kezdeti szerkezettel hajtottam végre. A legalacsonyabb energiájú konformerből kiindulva, a peptid  $\psi$  és  $\mu$  torziós szögeit (a molekula sematikus ábráját l. 5. fejezetben, 5.1. ábra) 60°-os közökkel változtattam. Az így kapott konformerek energiáját kiszámítva, és azokat a torziós szögek függvényében ábrázolva egy 3 dimenziós potenciálisenergia-felületet kaptam, amelynek a minimumai jó kiindulási geometriáknak bizonyultak a legalacsonyabb energiájú konformerek meghatározásához. Ezt az N-terminális amidcsoportjának *transz* ( $\omega = 180^\circ$ ), a *cisz* ( $\omega = 0^\circ$ ) állású és a gyűrű két pucker-pár [74] („le”:  $\chi_1 > 0^\circ$ , illetve „fel”:  $\chi_1 < 0^\circ$ )<sup>6</sup> mindegyik kombinációjára elvégeztem (azaz *transz*-le, *transz*-fel, *cisz*-le és *cisz*-fel). Érdemes megjegyezni, hogy  $\varphi$  torziós szögek egyik konformernél sem térnek el egymástól jelentősen, nagyságukat a pirrolidingyűrű alapvetően meghatározza. 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\* elméleti szinten, majd az így kapott szerkezeteket magasabb, B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten optimalizáltam.

A klórpropionsav monomer konformációs sajátosságai feltérképezése céljából a Cl-C-C=O torziós szöget változtattam 20°-onként, mind a *cisz*, mind a *transz* karbonsavra. Az alkalmazott elméleti szint B3LYP/6-31G\* volt. Az így kapott szerkezetek energiáit kiszámítva és a torziós szög függvényében ábrázolva egy potenciálisenergia-görbét kaptam, amelynek minimumpontjait (mint kezdeti geometriákat) további geometriai optimalizálásnak vettem alá nagyobb B3LYP/6-31++G\*\*, illetve aug-cc-pVTZ elméleti szinteken is. Ekkor az IR és VCD frekvenciák számítását is elvégeztem. A dimerek és komplexek geometriai optimalizálása 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 MP2/6-31++G\*\* elméleti szinten kapott eredményekkel is.

<sup>6</sup>A prolinban található pirrolidingyűrű nem teljesen merev, az azt alkotó C $\beta$  és C $\gamma$  szénatomok a gyűrű másik három atomja által alkotott síkjából kilépnek, azaz a gyűrű „redőződik” (‘ring puckering’). Ennél a molekulánál kétféle módosulatot különböztethetünk meg a  $\chi_1$  torziós szög segítségével aszerint, hogy az pozitív vagy negatív értéket vesz fel (előbbinél C $\beta$  és C $\gamma$  a gyűrű síkja felett és alatt, utóbbinál fordítva helyezkednek el). A két konformer különböző energiájú és általában egy alacsony átalakulási gáton keresztül alakulhatnak át egymásba.

#### 2.2.4.2. Számított spektrumok, konformereloszlás, átmeneti állapotok

A geometriai optimalizálás eredményéül kapott konformerek rezgési frekvenciáit, IR jelerősségeit, rotátorerősségeit és ezek robusztusságait, továbbá termodinamikai tulajdonságait 298 K hőmérsékleten, a PQS szoftver [66] segítségével határoztam meg. A számítások ForAANHMe molekulákra szintén B3LYP/6-31G\* elméleti szinten történtek, a ForValNHMe esetén B3LYP/6-31++G\*\* és B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinteken is megismételtem. A kísérleti eredményekkel való jobb egyezés érdekében a frekvenciák skálázását SQM erőtér [75] segítségével végeztem el, 6-31G\* bázison Baker és munkatársai [76], míg 6-31++G\*\* és aug-cc-pVTZ bázison Fábri és munkatársai által meghatározott skálafaktorokat használva [22]. A spektrumok szimulációjához a (már skálázott) rezgési frekvenciáknál a számított rotátorerősségekre  $3\text{ cm}^{-1}$  félértékszélességű Lorentz-görbéket illesztettem. A kapott VCD jelek megbízhatóságát a kutatócsoportunk által definiált robusztussággal (1. 3. fejezet [77]) becsültem.

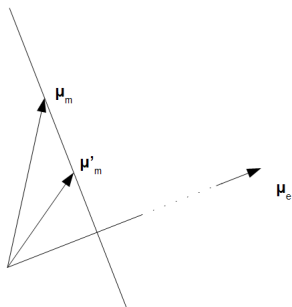
Annak érdekében, hogy a Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe konformerek eloszlását becsülni tudjam, a mátrixizolációs kísérlet beeresztési, valamint az oldószeres mérés hőmérsékletén (340, illetve 298 K) PQS-ben B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten számítottam a konformerek Gibbs-féle szabadentalpiáit, illetve ezek alapján a Boltzmann-faktorokat. Az IR és VCD spektrumok számításához szükséges harmonikus rezgési frekvenciákat, IR jelerősségeket és VCD rotátorerősségeket B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten 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\*\* elméleti szinten polarizálhatókontinuum-modell (integral equation formalism polarizable continuum model, IEF-PCM) [78] segítségével is. Az oldószeres (ACN, DMSO, DCM) paraméterei a Gaussian programban található alapértelmezett értékek voltak. A kapott rezgési frekvenciákat egy egységes 0,99-es faktorral skáláztam, a spektrum szimulációjához a skálázott rezgési frekvenciákra  $10\text{ cm}^{-1}$  félértékszélességű Lorentz-görbéket illesztettem. A konformerek közti átalakulási gát magasságát a Gaussian programcsomagba implementált STQN (synchronous transit-guided quasi-Newton) [79, 80] módszer segítségével határoztam meg B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten.

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

## 3. fejezet

# A robusztusság új definíciója

### 3.1. A robusztusság új definíciójának elmélete

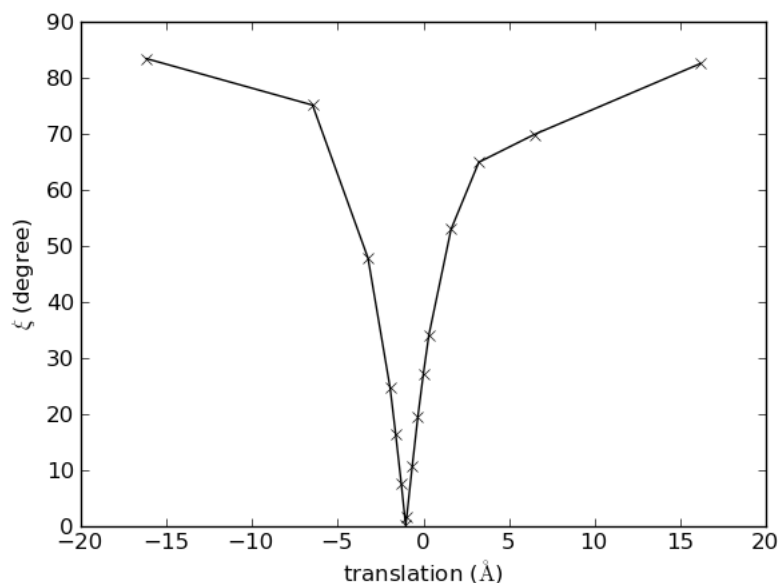


**3.1. ábra.** A mágnesesnek az elektromos átmeneti dipólusmomentum-vektorra eső vetülete.

Korábban már szó esett arról, hogy a mágneses átmeneti dipólusmomentum-vektor nem mértékinvariáns, így az elektromos átmeneti dipólusmomentum-vektorral bezárt szöge ( $\xi_k$ ) 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 dipólusmomentum irányultsága nagymértékben változhat, Stephens munkája alapján [56]  $\mathbf{Y}$  vektorral való 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 koordinátarendszert, amelyben  $\xi_k \approx 90^\circ$  lesz, amennyiben az adott rezgést végző funkciós csoportot elegendően messze helyeztük el az origótól. Ezt a mértékfüggést a rotátorerősségek kiszámításához használt GIAO molekulapályák használata sem szünteti meg.



**3.2. ábra.** Az (R)-metil-oxirán  $\nu_{23}$  rezgési módjának elektromos és mágneses átmeneti dipólus-momentumai által bezárt szög ( $\xi$ , °-ban) változása a molekula tömegközéppontjának a koordináta-rendszer origójához képest történő eltolása esetén (translation, Å-ben).

Könnyen belátható továbbá, hogy ugyanabban a molekulában található két olyan azonos funkciós csoportot vizsgálva, amelyek a molekulában térben távol helyezkednek el, hogy az egymásnak megfeleltethető rezgéseik rotátorerőssége azonos kémiai környezetben azonos, de a két dipólusmomentum-vektor által bezárt szög – mivel nem mértékinvariánsak – nem lesz az. Ez a különbség kizárólag abból ered, hogy a koordináta-rendszer középpontjától a két azonos csoport eltérő távolságra található, így  $\xi_k$  (l. 2.5. egyenlet) a robusztusság becslésére nem alkalmas [77]. 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 a  $\nu_{23}$  rezgési módja esetén  $\mu_e$  és  $\mu_m$  által bezárt szög változását mutatja be a molekula tömegközéppontjának origótól való távolságának függvényében (az elmozdulás iránya a két átmeneti momentumra merőleges volt,  $R = 27 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>).

A robusztusság eredeti definíciójából is levonható a következtetés, miszerint nagy rotátorerősségű rezgési módok is előjelet válthatnak, amennyiben nem robusztusak. Ennek oka általában az, hogy  $\mu_m$  kicsi így a számítási nehézségek miatt nagysága és iránya bizonytalan, illetve függ a koordináta-rendszer megválasztásától is. Továbbá az elektromos taghoz képest a legtöbb esetben néhány nagyságrenddel kisebb, így az arra eső vetületének ( $|\mu_{m,k}| \cos \xi_k$ , l. 2.5. egyenlet) nagysága és iránya 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  $\mu_e$  elegendően nagy, a rotátorerősség nagy lesz – de ellenkező előjellel. A két vektor által bezárt szög ad

bizonyos információt arról, hogy adott rezgési mód esetén számíthatunk-e az előjel megváltozására, de a koordináta-rendszer középpontjától való függése miatt mégsem alkalmazható a robusztusság becslésére. Ugyanis amennyiben  $\xi_k \approx 90^\circ$ , annak azt kellene jelentenie, hogy  $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k \approx 0$ , azaz az adott rezgési mód nem robusztus. Azonban ezt az eredményt ( $\xi_k \approx 90^\circ$ ) pusztán azáltal is megkapjuk, ha az adott rezgési módot kellően távol helyezzük el koordináta-rendszerünk középpontjától (l. 3.2. ábrát). Így – mint azt a későbbiekben látni fogjuk –, az esetek egy részében mégis robusztus lesz az adott rezgési mód ilyen esetekben. Másik probléma, hogy  $\xi_k$  nagymértékben eltérhet  $90^\circ$ -tól (ilyen lehet az az eset, amikor az adott rezgési módot az origó közelében helyezzük el), attól még lehet az a rezgési mód nem robusztus, azaz  $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k \approx 0$  (amennyiben  $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}|$  kicsi értéket vesz fel).

Ennek kiküszöbölésére érdemes a robusztusságnak egy olyan, új definícióját bevezetni, amely mértékinvariáns. Ilyen lehetne egy  $k$ . rezgési mód mágneses átmeneti dipólusmomentum-vektorának az elektromosra eső vetülete:  $|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k$

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

az egyenlőséget úgy kaptuk meg, hogy a bal oldalon található tagot bővítettük  $\frac{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|}{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|}$ -val, és az így kapott középső tag számlálójába 2.5 egyenletet, nevezőjébe pedig  $|\boldsymbol{\mu}_{e,k}| = \sqrt{D_k}$  kifejezést helyettesítettük be.

Kutatócsoportunk a robusztusságot ( $\zeta_k$ ) ennek a vetületnek és az elektromos átmeneti dipólusmomentum-vektornak a hányadosaként definiálta [77], amely így Kuhn aszimmetria faktorával mutat hasonlóságot [81]:

$$\zeta_k = \frac{|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| \cos \xi_k}{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|} = \frac{|\boldsymbol{\mu}_{m,k}| |\boldsymbol{\mu}_{e,k}| \cos \xi_k}{|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|^2} = \frac{R_k}{D_k} \quad (3.3)$$

az egyenlet az előzőhöz hasonlóan vezethető le ( $|\boldsymbol{\mu}_{e,k}|^2 = D_k$  a dipólerősség). Mivel  $\boldsymbol{\mu}_m$  nagyságát a harmonikus közelítés miatt nem tudjuk elég pontosan meghatározni, a robusztusságot a rotátorerősség és a dipólerősség arányával becsülhetjük, ezért használjuk 3.3 egyenletet a robusztusság becslésére. 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.  $\boldsymbol{\mu}_e$  nagysága az esetek többségében néhány nagyságrenddel nagyobb a mágnesesnél, így a perturbációk annak irányát nem nagyon változtatják meg. Ezzel szemben  $\boldsymbol{\mu}_m$  nagysága és iránya is nagymértékben változhat perturbációk hatására, így annak  $\boldsymbol{\mu}_e$ -re eső vetülete is, tehát ez utóbbi határozza meg egy adott rezgési mód robusztusságát. Így ha ez nulla közeli érték, akkor külső körülmények hatására nagy valószínűséggel iránya is

megfordul, azaz a rotátorerősség előjelet vált.<sup>7</sup> A robusztusság e definíciójánál is megadható egy küszöbérték, amely felett egy adott rezgési mód robusztusnak tekinthető, esetünkben  $|\zeta_k| > 10$  ppm. Ha egy molekulának több konformere van, érdemes a számított értékek számtani közepét ( $\bar{\zeta}_k$ ) és standard deviációjukat ( $s_k$ ) is figyelembe venni, azaz

$$|\bar{\zeta}_k \pm s_k| > 10 \quad (3.4)$$

mivel így van egy becslésünk az adott elméleti szinten a rotátorerősségek molekulageometriától való függésére is. Ezt alátámasztja De Gussemék munkája is, ahol a robusztusság alkalmazhatóságát egy flexibilis molekulán vizsgálták és azt találták, hogy a legtöbb rezgési mód robusztussága geometriától függően nagy változatosságot mutat, a legtöbb esetben a konformerek egy részére az adott mód nem robusztus [82]. Végző következtetésük az volt, hogy ha egy molekulának sok konformere van, és a többség adott rezgési módja robusztus, akkor az a mód összességében robusztusnak tekinthető.

## 3.2. Eredmények

A robusztusság koncepciójának egyik első eredménye az (*R*)-(+)-pulegon ((*R*)-2-izopropilidén-5-metil-ciklohexanon) kloroformos oldata [68] VCD spektrumának magyarázata volt [83]. Ebben a molekula C=O nyújtási rezgésének rotátorerősségei számítása nehézségekbe ütközött, mivel különböző számítási módszerek használatával eltérő eredményeket kaptak a rezgési mód nem robusztus volta miatt. Ezt pulegon monomerek, illetve CDCl<sub>3</sub> komplexeire PQS-sel történt számításokkal alátámasztottam: OLYP/TZP elméleti szinten  $\zeta_k = 1,8$  ppm, azaz az adott rezgési mód két átmeneti dipólusmomentum-vektor egymásra eső vetülete kicsi, ami azt jelenti, hogy akár már kis perturbáció esetén ellenkező irányt vehet fel, azaz a rotátorerősség előjelet vált. A többi rezgési mód 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, amit a kísérleti eredmények is alátámasztottak.

Ez általánosságban elmondható a későbbi fejezetekben részletesen bemutatott vizsgálatokról is (ForAANHMe l. 4. fejezet, Ac-β<sup>3</sup>-HPro-NHMe l. 5. fejezet, 2-klórpropionsav l. 6. fejezet), amelyek során az általunk bevezetett definíció segítségével tanulmányoztam a molekulák rezgési módjainak robusztusságát. Ennek során kiderült, hogy azoknak a rezgési módoknak az előjele, amelyek robusztusak, jó

<sup>7</sup>Érdemes megjegyezni, hogy robusztusság definíciójából adódóan  $\mu_m$ -nek  $\mu_e$ -re eső vetületének kicsiny volta – azaz ha a vizsgált jelünk egy nem robusztus rezgési mód – nem feltétlenül jelenti, hogy a rotátorerősség is kicsi, amennyiben  $|\mu_e|$  elegendően nagy.

egyezést mutatnak a kísérleti úton kapottakkal, ezeket figyelembe véve a számított és a kísérleti spektrum nagyfokú hasonlóságot mutat. Ezzel szemben azoknak a rezgési módoknak – 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 átmenetek előjeleiben bízhatunk meg – nagymértékben segíti a VCD spektrumok asszignálását. A két – elektromos és mágneses – átmeneti dipólusmomentum-vektor által bezárt szög nem mértékinvariáns, így a robusztusság becslésére nem alkalmas. Ezzel ellentétben a mágneses átmeneti dipólusmomentum-vektor elektromosra eső vetülete pontosan becsülhető, mértékinvariáns, így jól becsüli egy adott rezgési mód robusztusságát. Amennyiben ez az érték 10 ppm alatt van, úgy az adott rezgési módról nagy valószínűséggel kijelenthető, hogy nem robusztus, így az asszignálás során előjelét nem, illetve csak nagy körültekintéssel szabad figyelembe venni. Általánosságban elmondható, hogy a rezgési módok legnagyobb része a molekula többségében robusztus.



## 4. fejezet

# Peptidmodellek VCD jeleinek robosztussága

### 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 kvantumkémiai számítások egészíthetnek ki. A szerkezetmeghatározás általában összetett folyamat, 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 funkcióiról 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. A peptidek vizsgálatához gyakran

a gázfázisú lézerspektroszkópiai módszereket hívják segítségül, amelyekhez kromofór csoportok (mint amilyen az N-terminálist védő benziloxikarbonil-csoport) használata szükséges vagy, hogy a molekula aromás oldallánccal rendelkező aminosavat tartalmazzon (fenilalanin, tirozin, triptofán)<sup>8</sup>. Oldatfázisú UV spektroszkópia használata esetén a rossz felbontás miatt az elnyelések általában széles sávként jelentkeznek, ami megakadályozza, hogy a konformerek jelei egymástól megkülönböztethetők legyenek. Ezzel szemben az IR (illetve Raman) spektroszkópia használatával a felsorolt problémák nagy részét kiküszöbölhetjük: nincs szükség aromás oldalláncra vagy kromofór csoportot tartalmazó védőcsoportra, és a spektrumban általában megtalálhatók a különböző konformerek jelei. Kis peptidek vagy peptidmodellek térszerkezetének meghatározására jól bevált módszer, amelyet leggyakrabban az amid-I és -II sávok vizsgálatával végeznek el [84–86]. 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 (Fourier self-deconvolution, FSD) is [84, 87]. A legnagyobb fellépő probléma, hogy a különböző másodlagos szerkezetekhez köthető frekvenciák nem egyediek, és nagymértékben változhatnak eltérő oldalláncok vagy oldószer használata esetén [88–90], így bizonyos szórást mutatnak. Továbbá ezek a módszerek feltételezik, hogy az amid-I dipólerősségek azonosak, ami a gyakorlatban nem állja meg a helyét [88, 91]. A felbontás növelhető mátrixizolációs technika (l. 1.2.2. fejezet) vagy valamelyik VOA módszer (l. 1.2.1. fejezet) alkalmazásával.

A VCD spektroszkópiát már kezdetektől fogva használták aminosavak, peptidek és fehérjék konformációs sajátságainak feltérképezésére [92–98]. Az ECD spektroszkópia gyakorlatához hasonlóan a VCD esetében is a spektrumokból empirikus megfigyelések alapján lehetett következtetni a nagyobb peptidek szerkezetére. Régóta ismert [99–101], hogy az  $\alpha$ -hélixek esetén az amid-I sáv jellegzetes pozitív couplet (egy pozitív és egy negatív jel az alacsonyabb frekvenciák felől nézve), amelynél a pozitív jel gyengébb és a negatív erősebb. Az amid-II sáv erős negatív jelet ad. Ezzel szemben  $\beta$ -redők vizsgálatakor az amid-I sáv negatív couplet [100, 102], az erősebb negatív mellett egy nagyon gyenge pozitív jelet kapunk. A  $\beta$ -redők VCD spektrumában az amid-II széles, gyenge negatív sávként jelenik meg [103]. Értelmezésüket azonban általában megnehezíti, hogy a másodlagos szerkezetük sokkal változatosabb: az egyes láncok hossza, a különböző láncok közti kölcsönhatások, továbbá a különböző kanyarok ('turn') és hurkok ('loop') jelenléte mind erősen befolyásolja a kísérletileg kapott eredményeket.

---

<sup>8</sup>Legalábbis a leggyakrabban használt lézerindukált fluoreszcencia (laser-induced fluorescence, LIF) vagy a rezonanciával erősített multifoton ionizálás (resonance-enhanced multiphoton ionisation, REMPI) módszerek esetén.

Egyéb másodlagos szerkezettel rendelkező polipeptidek VCD spektruma is jellegzetes sávokat mutat, a  $3_{10}$ -hélix amid-I sávja – az  $\alpha$ -hélixhez hasonlóan – pozitív couplet, azonban annál sokkal gyengébb jelet ad [104–106], továbbá Pro-II hélixek spektruma is jellegzetes szerkezettel rendelkezik: az amid-I sáv a  $\beta$ -redőkéhez hasonlatosan egy negatív couplet, de jelei annál erősebbek [90, 100–102, 107]. Vizsgáltak  $\beta$ - [108] és  $\gamma$ -kanyart [109] tartalmazó peptideket is. Különböző másodlagos szerkezettel rendelkező peptidek VCD spektrumáról Keiderling csoportja [86, 103, 110], Schweitzer-Stenner [111] és kutatócsoportunk [8] is írt összefoglaló jellegű munkákat, ennél kevésbé általános Vass és munkatársainak összefoglalója [112], amely a  $\beta$ - és  $\gamma$ -kanyart tartalmazó peptidek szerkezetvizsgálatára összpontosít. Az utóbbi munkákban leírt eredmények közül érdemes kiemelni, hogy a VCD spektroszkópia képes a különböző típusú (I, II és III-as típusú)  $\beta$ -kanyarok megkülönböztetésére is. Mivel a peptid részegységeinek VCD jelét csak közvetlen környezetük határozza meg, elméletileg a különböző  $\beta$ - és  $\gamma$ -kanyarok is karakterisztikus jellel rendelkeznek, néhány munka elég jó egyezést talált az *ab initio* módszerek segítségével számoltakkal [113].

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 már említett MFP (l. 2.1.1. fejezet) módszer alkalmazása tette lehetővé nem túl nagy molekulákra. Kezdetben kisebb modellrendszereket használtak, mint olyan dipeptideket, amelyek  $\varphi$  és  $\psi$  torziós szögei az  $\alpha$ -, Pro-II és  $3_{10}$ -hélix,  $\beta$ -redő másodlagos szerkezetű polipeptidekével egyezett meg [114]. Később, a számítási kapacitás növekedtével hosszabb peptidláncok, oligopeptidek [115], illetve különböző oldószerek azokra gyakorolt hatásának *ab initio* számítása is lehetővé vált [116, 117]. Később vizsgálták a lánc csavarodásának ('twist') hatását  $\beta$ -redők spektrumára [118], az  $\alpha$ - és a  $3_{10}$ -hélix spektruma közti különbségeket [119–121], illetve a  $\beta$ - [122] és  $\gamma$ -kanyarok [123] VCD spektrumát is. Utóbbiakról elmondható, hogy az amid-II sávok vizsgálatával a különböző geometriával rendelkező kanyarok megkülönböztethetők [124].

Ezeknél is nagyobb tagszámú oligopeptidek spektruma a Bouř és munkatársai által kidolgozott (Transfer of Molecular Property Tensors) módszer [125, 126] segítségével szimulálható [127–132]. A VCD spektrumok szimulálására alternatív megoldások a Choi és munkatársai által kifejlesztett GF módszere (generalized fragmentation method) [133–135], illetve Schweitzer-Stenner „exciton csatolási elmélete” (Excitonic Coupling Theory), amelynek segítségével paralel és antiparalel  $\beta$ -redők IR és VCD spektrumát hasonlította össze [136].

Mind a kísérleti, mind a számított eredmények egyik nagyon fontos eredménye annak megállapítása, hogy a néhány aminosavból álló oligopeptidek annak másodlagos szerkezetétől függő karakterisztikus jelei erőteljesen függnak a peptidlánc hosszától.

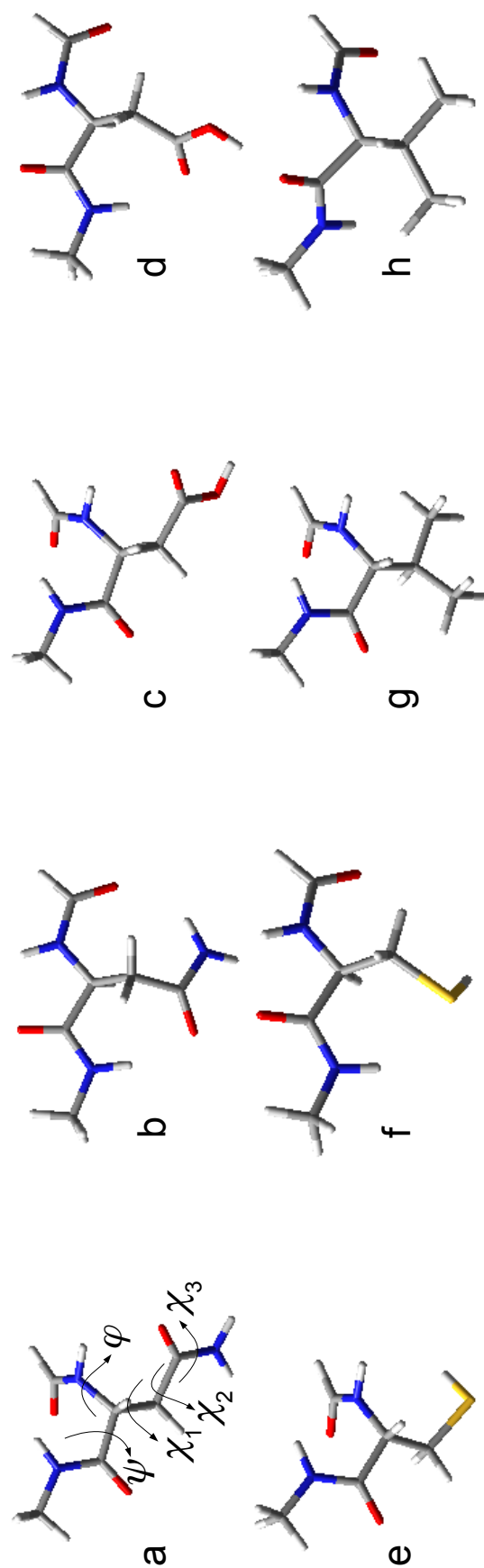
Másik fontos eredmény, hogy a  $\beta$ -redő másodlagos szerkezettel rendelkező oligopeptidekre történt számítások azt mutatják, hogy a számított spektrumok – összevetve a kísérleti eredményekkel – sokkal rosszabb egyezést mutatnak, mint a különböző hélixek esetén. Ennek egyik lehetséges oka az ilyen típusú oligopeptidek – már említett – azon tulajdonsága, hogy a szerkezetük kevésbé jól definiált: a láncok hossza, az egyes láncok közti kölcsönhatás, kanyarok és hurkok jelenléte, a lánc csavarodásának mértéke jelentősen eltérhet [118, 136]. Másik magyarázat, hogy a VCD jelek nem robusztusak, és rendkívül érzékenyek a körülményekben bekövetkező legkisebb változásra is. Ebben a fejezetben ez utóbbinak a jelentőségét tanulmányozom.

## 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 számítások segítségével.

A munka során céлом egyrészt annak kiderítése volt, hogy észlelhetők-e az  $\alpha$  és  $\beta$  szerkezetek VCD spektrumára jellemző coupletek, másrészt peptidmodellek VCD jeleinek különböző körülményektől való függésének vizsgálata volt. Ezek az alábbiak voltak: (i) számítások elméleti szinttől való függése: észlelhető-e szisztematikus eltérés a számítások eredményében (rotátorerősség, robusztusság) a számításhoz használt elméleti szint változtatásával? (ii) A gerinckonformáció rezgési VCD jelének oldallánc konformációjától való függése. Kimutatható-e valamilyen trend és ha igen, milyen jellegű? (iii) Léteznek-e robusztus rezgési módok, ezeket befolyásolja-e az oldallánc és ha igen, hogyan? (iv) A peptidmodell oligomerjeinek vizsgálata: növekszik-e a robusztusság a lánc hossz növelésével? Utóbbi vizsgálat elvégzését az az eredmény indokolja, miszerint védett aminosavak vizsgálatánál az volt a tapasztalat, hogy – különösen a  $\beta$ -modellpeptidek esetén – a kapott VCD jelek nem robusztusak [39]. 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?

Az ebben a fejezetben vizsgált molekulánál nem alkalmaztam oldószermodellt, így a számított eredmények összevethetők az MI-VCD spektroszkópia (l. 1.2.3. fejezet) segítségével kapottakkal. Néhány peptidmodellt kutatócsoportunk is vizsgált ezzel a módszerrel [39, 49, 50], illetve  $\beta$ -peptidmodellek szerkezetét is vizsgáltuk (l. 5. fejezet, [44, 51]), ez utóbbinál oldószermodell hatását is vizsgáltuk. Az itt ismertetett eredményeket – a témában nemrégiben elért újabbakkal együtt – egy nemrégiben megjelent publikációban bővebben is ismertettük [137].



**4.1.1. ábra.** A legacsonyabb energiájú konformerek geometriái B3LYP/6-31G\* elméleti szinten: (a)  $\alpha$ -ForAspNHMe, (b)  $\beta$ -ForAspNHMe, (c)  $\alpha$ -ForAspNHMe, (d)  $\beta$ -ForAspNHMe, (e)  $\alpha$ -ForCysNHMe, (f)  $\beta$ -ForCysNHMe, (g)  $\alpha$ -ForCysNHMe, (h)  $\beta$ -ForCysNHMe, (i)  $\alpha$ -ForValNHMe, (j)  $\beta$ -ForValNHMe, (k)  $\alpha$ -ForValNHMe, (l)  $\beta$ -ForValNHMe.

### 4.3. Vizsgált rendszerek

A munka során négy különböző  $\alpha$  és  $\beta$  szerkezetű aminosavszármazék, az N-formil-N'-metil-valinamid (ForValNHMe), az N-formil-N'-metil-ciszteinamid (ForCysNHMe), az N-formil-N'-metil-aszparaginsavamid (ForAspNHMe) és az N-formil-N'-metil-aszparaginamid (ForAsnNHMe) geometriai optimalizálását, IR és VCD spektrumának számítását végeztem el. Kiválasztásukat az alábbi szempontok alapján végeztem el: (i) a ForValNHMe a legegyszerűbb oldallánccal rendelkező modellpeptid, amelynek több konformere van. Ezen kívül csak diszperziós kölcsönhatások vannak és a molekula kicsiny, emiatt könnyen számítható. (ii) A ForCysNHMe molekulában erős diszperziós kölcsönhatások, illetve a kén nehézatomból származó kölcsönhatások is figyelhetők meg. (iii) A ForAspNHMe peptidmodell nagy dipólusmomentummal rendelkezik, és lehetséges intramolekuláris H-híd kialakulása, (iv) a ForAsnNHMe 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 függelék A.1. táblázatában foglaltam össze.

Amint az a táblázatból is látható, a ForValNHMe peptidmodellnek 3  $\alpha$  és 3  $\beta$  konformere van, ugyanez a ForCysNHMe esetén 6/7, a ForAspNHMe molekulára 8/7 és a ForAsnNHMe-re 3/2. A felsorolt konformerekből csak azokat érdemes vizsgálni, amelyek szabadentalpiája kellően alacsony ahhoz ( $\Delta G < 10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), hogy relatív gyakorisága 1–2%-nál nagyobb legyen, így számított VCD jeleik nagysága nem hanyagolható el. A továbbiakban csak ezekkel foglalkozom. Néhány peptidmodellnél – mint amilyen a ForValNHMe, illetve a ForAsnNHMe – ez minden konformerre teljesül, ezzel ellentétben a ForAspNHMe esetén mind az  $\alpha$ , mind a  $\beta$  szerkezetnél csupán egyetlen konformer energiája elég alacsony ehhez. A ForCysNHMe esetén mindkét szerkezetre több (de nem az összes) konformer nagyobb előfordulási arányát várjuk előzetesen.

A valinszármazéknál – mind az  $\alpha$ , mind a  $\beta$  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. Mivel ez a legkisebb molekula a vizsgáltak közül, a számítások ebben az esetben futnak le leggyorsabban, így a további,

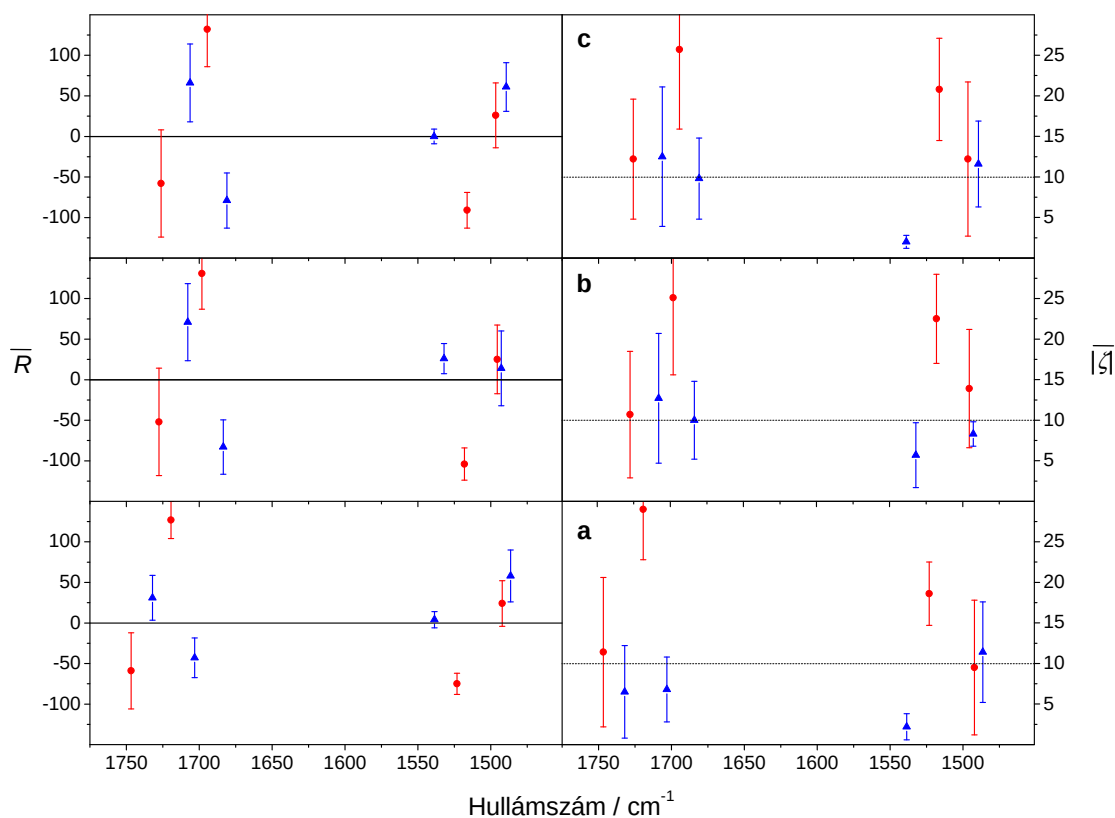
nagyobb számítási kapacitást igénylő vizsgálatait (azaz a VCD jelek alkalmazott elméleti szinttől, tagszám növekedésétől való függése) erre a molekulára végeztem el.

**4.1. táblázat.** *A ForAANHMe konformerek geometriai paramétereinek fokban és relatív Gibbs-energiái ( $\Delta G_{298K}^o$ , kJ mol<sup>-1</sup>-ban) B3LYP/6-31G\* elméleti szinten*

| konformerek            | $\varphi$ | $\psi$ | $\xi_1$ | $\xi_2$ | $\xi_3$ | $\Delta G_{298K}^o$ |
|------------------------|-----------|--------|---------|---------|---------|---------------------|
| ForValNHMe- $\alpha_1$ | -62,0     | -39,8  | 38,0    | 177,2   | -       | 0,0                 |
| ForValNHMe- $\alpha_2$ | -50,7     | -37,6  | -63,3   | -173,9  | -       | 1,0                 |
| ForValNHMe- $\alpha_3$ | -50,2     | -41,5  | 159,3   | -172,5  | -       | 6,3                 |
| ForValNHMe- $\beta_1$  | -129,2    | 134,4  | -179,5  | -179,8  | -       | 0,0                 |
| ForValNHMe- $\beta_2$  | -134,3    | 160,6  | -65,1   | -175,2  | -       | 1,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_3$  | -154,2    | 152,9  | 64,1    | -173,7  | -       | 0,4                 |
| ForAsnNHMe- $\alpha_1$ | -63,7     | -31,9  | 64,5    | 175,7   | -178,3  | 0,0                 |
| ForAsnNHMe- $\alpha_2$ | -64,1     | -35,8  | 147,0   | 90,0    | -170,1  | 9,2                 |
| ForAsnNHMe- $\alpha_3$ | -49,5     | -48,2  | -52,3   | -87,8   | 166,3   | 16,1                |
| ForAsnNHMe- $\beta_1$  | -168,7    | -174,5 | -137,7  | 93,0    | -167,8  | 0,0                 |
| ForAsnNHMe- $\beta_2$  | 165,8     | -138,8 | 63,3    | -99,1   | 175,1   | 14,0                |
| ForAspNHMe- $\alpha_1$ | -65,1     | -30,0  | 64,5    | 178,0   | 179,9   | 0,0                 |
| ForAspNHMe- $\alpha_2$ | -66,7     | -27,7  | 63,9    | 14,8    | 177,6   | 9,5                 |
| ForAspNHMe- $\alpha_3$ | -66,4     | -32,0  | 157,3   | 150,2   | 178,9   | 9,9                 |
| ForAspNHMe- $\alpha_4$ | -67,5     | -28,1  | 147,9   | 61,9    | -0,7    | 10,0                |
| ForAspNHMe- $\alpha_5$ | -65,7     | -31,1  | 166,8   | -37,9   | -179,8  | 17,0                |
| ForAspNHMe- $\alpha_6$ | -65,5     | -30,3  | 64,5    | 178,8   | -0,6    | 19,2                |
| ForAspNHMe- $\alpha_7$ | -48,4     | -50,7  | -58,2   | -74,9   | 11,1    | 21,2                |
| ForAspNHMe- $\alpha_8$ | -56,5     | -33,8  | -45,1   | -96,1   | 175,7   | 28,7                |
| ForAspNHMe- $\beta_1$  | -165,1    | 167,7  | -161,7  | 173,2   | -179,2  | 0,0                 |
| ForAspNHMe- $\beta_2$  | -171,3    | -177,5 | -129,4  | 75,3    | 4,1     | 11,6                |
| ForAspNHMe- $\beta_3$  | -165,2    | 163,1  | -173,1  | 31,8    | 175,0   | 14,5                |
| ForAspNHMe- $\beta_4$  | -165,2    | 159,8  | 70,3    | -78,7   | 177,6   | 17,7                |
| ForAspNHMe- $\beta_5$  | -159,5    | -177,5 | 66,2    | -171,7  | -179,6  | 18,0                |
| ForAspNHMe- $\beta_6$  | -164,6    | 151,4  | 61,2    | 104,7   | -176,8  | 20,5                |
| ForAspNHMe- $\beta_7$  | -151,5    | 152,7  | -160,3  | -55,0   | 1,6     | 49,0                |
| ForCysNHMe- $\alpha_1$ | -69,2     | -23,6  | 62,5    | -79,7   | -       | 0,0                 |
| ForCysNHMe- $\alpha_2$ | -66,3     | -27,9  | 61,8    | 76,4    | -       | 0,6                 |
| ForCysNHMe- $\alpha_3$ | -67,9     | -27,1  | 60,2    | 166,1   | -       | 2,2                 |
| ForCysNHMe- $\alpha_4$ | -62,2     | -37,5  | 157,0   | 66,4    | -       | 3,3                 |
| ForCysNHMe- $\alpha_5$ | -60,6     | -39,6  | 163,3   | -117,0  | -       | 14,1                |
| ForCysNHMe- $\alpha_6$ | -41,7     | -50,7  | -55,9   | -62,0   | -       | 15,2                |
| ForCysNHMe- $\beta_1$  | -161,6    | 172,6  | -163,5  | 73,4    | -       | 0,0                 |
| ForCysNHMe- $\beta_2$  | -160,8    | 157,2  | -172,2  | -84,8   | -       | 4,2                 |
| ForCysNHMe- $\beta_3$  | -162,3    | 159,8  | 57,4    | 62,7    | -       | 6,3                 |
| ForCysNHMe- $\beta_4$  | -157,1    | 174,6  | 65,9    | -62,4   | -       | 7,6                 |
| ForCysNHMe- $\beta_5$  | -113,9    | 144,4  | -66,3   | 55,9    | -       | 10,1                |
| ForCysNHMe- $\beta_6$  | -162,8    | 165,1  | 65,3    | -168,1  | -       | 13,1                |
| ForCysNHMe- $\beta_7$  | -130,6    | 145,3  | -65,8   | 177,7   | -       | 16,9                |

#### 4.4.1. VCD spektrumok bázisfüggése

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



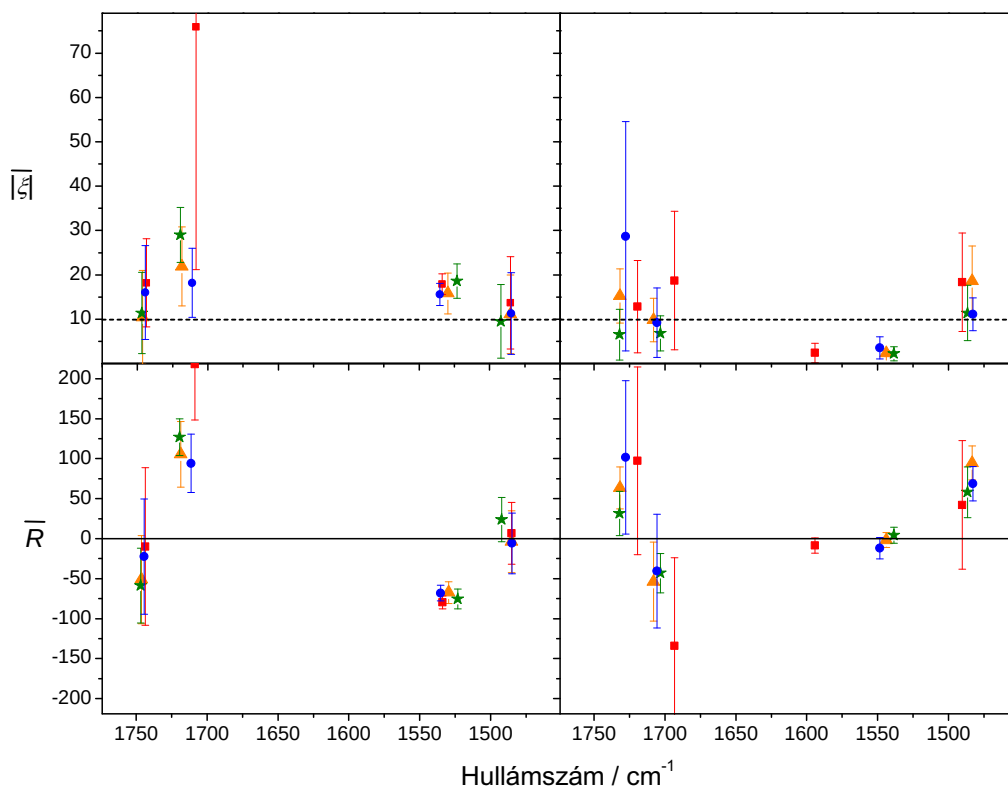
**4.2. ábra.** Az  $\alpha$ - (piros kör) és  $\beta$ -ForValNHMe (kék háromszög) konformerek amid-I és amid-II rezgések rotátorerősségeinek és robusztusságai abszolút értékének számtani közepe, illetve standard deviációja 6-31G\* (**a**, alul), 6-31++G\*\* (**b**, középen) és aug-cc-pVTZ (**c**, felül) bázisokon.

Összehasonlítva a három különböző nagyságú bázison számoltakat, általánosságban elmondható, hogy az  $\alpha$ -ForValNHMe amid-I rezgéseinél nincs nagy eltérés az eredmények között (az egyetlen kivételt az  $\alpha_3$  módosulat jelenti, amelynél a legkisebb,



6-31G\* bázison számított előjel ellentétes a többi bázison számítottakhoz képest). Az N-terminális rezgések rotátorerősségei  $\alpha_2$  és  $\alpha_3$  konformerek esetén nem túl nagyok, jelek nem is robusztusak. A C-terminális rezgések rotátorerősségei nagyobbak, és ezek a jelek már az összes vizsgált elméleti szinten robusztusnak tekinthetők, illetve nincsenek jelentős eltérések a számítások között.

Hasonló a helyzet az amid-II rezgéseknél is: a C-terminális rotátorerősségei megegyeznek, a jelek robusztusak. Ezzel szemben az N-terminális jele két konformer esetén ( $\alpha_1$  és  $\alpha_3$ ) egyik alkalmazott bázison sem nevezhető robusztusnak, bár a számított előjelek egyetlen esetben sem térnek el egymástól.



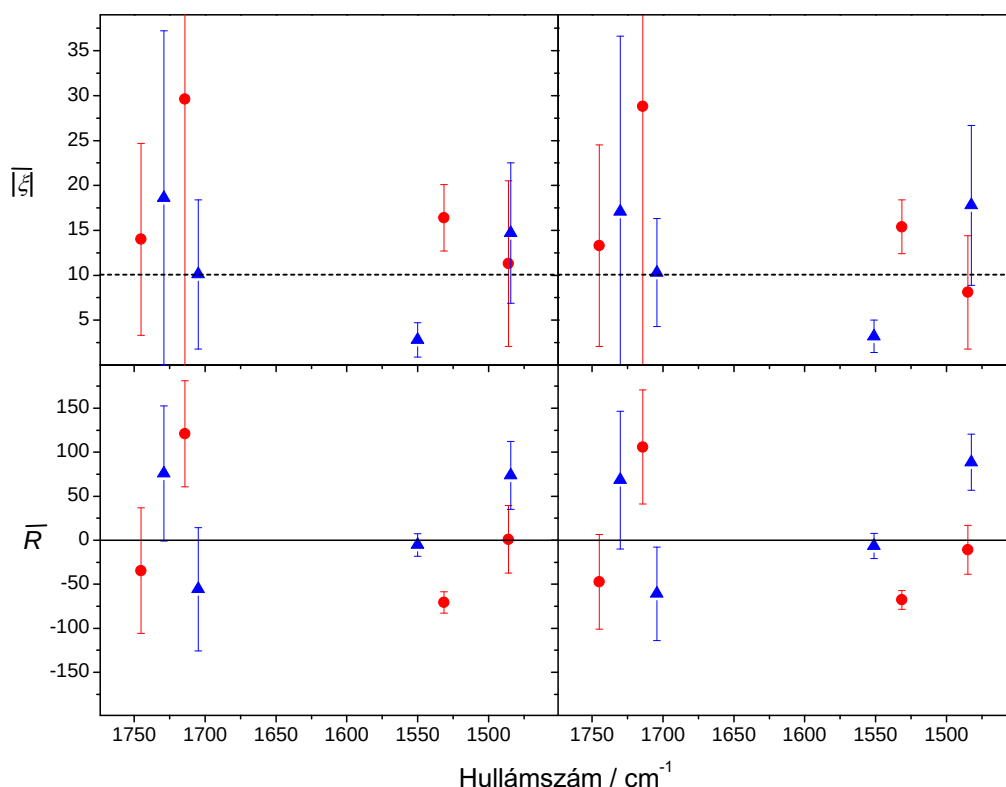
**4.3. ábra.** A vizsgált peptidmodellek B3LYP/6-31G\* elméleti szinten számított rotátorerősségeinek és robusztusságai abszolút értékének számtani közepe, valamint ezek standard deviációja a különböző konformerek esetén. Bal oldalon az  $\alpha$ -, jobb oldalon a  $\beta$ -peptidek láthatók. Piros négyzet: ForAsnNHMe, kék kör: ForAspNHMe, narancssárga háromszög: ForCysNHMe, zöld csillag: ForValNHMe.

A  $\beta$ -ForValNHMe amid-I rezgéseire hasonló megállapításokat lehet tenni, azzal a különbséggel, hogy a rotátorerősségek (és robusztusságok) általában csökkentek az  $\alpha$ -peptidmodelléhez képest. A jelek robusztusságának csökkenése az amid-II rezgéseknél is tetten érhető, olyannyira, hogy – az  $\alpha$ -változattal ellentétben – már a C-terminális jele

sem robusztus. Sőt, a  $\beta_3$  konformer amid-II rezgéseinek számított előjelei B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten ellentétes az egyéb esetekben számítottakkal.

Összefoglalva elmondható, hogy eltérő bázisok alkalmazásakor hasonló eredményeket kapunk, azonban a nagyobb bázisok – jóval nagyobb számítási igényük miatt – bonyolultabb rendszerekre már nemigen alkalmazhatók. Emiatt a továbbiakban a nagyobb tagszámú modellpeptidekre a 6-31G\* bázist használtam.

#### 4.4.2. $\alpha$ - és $\beta$ -szerkezetek rotátorerőssége és robusztussága közti különbség



**4.4. ábra.** Az  $\alpha$ - (piros kör) és  $\beta$ -peptidmodellek (kék háromszög) B3LYP/6-31G\* elméleti szinten számított rotátorerősségeinek és robusztusságai abszolút értékének számtani közepe, valamint ezek standard deviációja. Bal oldalon az összeset, jobb oldalon a legalacsonyabb energiájú konformereket vettem figyelembe.

A különböző  $\alpha$ - és  $\beta$ -peptidmodellek frekvenciáját, IR jelerősségét, rotátorerősségét és robusztusságát B3LYP/6-31G\* elméleti szinten 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 számtani közepét ( $\bar{R}$  és  $\bar{\zeta}_k$ ), valamint ezek standard deviációját vettem és ezeket ábrázoltam (l. 4.3. ábra). Az összes számított eredmény táblázatosan is megtalálható a függelékben (l. A.1., A.2. és A.3. táblázatokat).

Az  $\alpha$ -peptidek esetén általánosságban elmondható, hogy a legnagyobb intenzitású VCD jele a peptidmodell C-terminális amid-I és amid-II rezgésének van, továbbá ezek azok a rezgési módok, amelyeknél az oldallánc típusától függetlenül a rotátorerősség ugyanazzal az előjellel rendelkezik és robusztus (ez utóbbi alól egyetlen kivételt az  $\alpha_6$ -ForAspNHMe jelenti, amelynek robusztussága 3,1 ppm). Az N-terminális rezgések  $\bar{R}$  és  $\bar{\zeta}_k$  értékeinek nagysága (illetve előjele) nagymértékben függ az oldallánctól és annak konformációjától, azaz egy adott peptidmodell különböző konformereinél is ellenkező előjelet tapasztalhatunk (kivéve  $\alpha$ -ForValNHMe N-terminális amid-I rezgését).

A  $\beta$ -szerkezeteknél általánosságban igaz, hogy egyik amidrezgés sem robusztus, és itt is érvényes az a megállapítás, hogy  $\bar{R}$  és  $\bar{\zeta}_k$  nagysága nagymértékben függ az oldallánctól, illetve annak konformációjától. Ennek következményeként a különböző peptideknél egy adott rezgési módra különböző előjelű rotátorerősségeket kapunk, már az egyes konformerek rotátorerősségei is nagymértékben el fognak térni egymástól.

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

**4.2. táblázat.** *A  $\beta$ -For(Val)<sub>2</sub>NHMe konformerek geometriai paraméterei fokban és relatív Gibbs-energiái ( $\Delta G_{298K}^o$ , kJ mol<sup>-1</sup>-ban) B3LYP/6-31G\* elméleti szinten.*

| konformerek              | $\varphi_{N-term}$ | $\psi_{N-term}$ | $\chi_{1,N-term}$ | $\varphi_{C-term}$ | $\psi_{C-term}$ | $\chi_{1,C-term}$ | $\Delta G_{298K}^o$ |
|--------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|--------------------|-----------------|-------------------|---------------------|
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | -130,4             | 134,6           | 179,6             | -130,0             | 134,4           | 179,7             | 1,9                 |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | -134,1             | 159,6           | -65,9             | -132,4             | 161,5           | -65,2             | 1,8                 |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | -155,0             | 156,1           | 66,2              | -152,2             | 154,9           | 64,5              | 0,0                 |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | -131,6             | 138,0           | -176,4            | -132,1             | 162,1           | -64,7             | 3,5                 |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | -134,0             | 159,4           | -65,8             | -130,2             | 136,7           | 179,6             | 1,7                 |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | -130,7             | 136,6           | 180,0             | -153,1             | 153,7           | 64,2              | 1,6                 |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | -155,1             | 156,1           | 67,0              | -126,0             | 136,3           | 179,1             | 1,7                 |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | -134,2             | 160,8           | -65,6             | -154,0             | 154,1           | 64,4              | 1,8                 |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | -154,5             | 154,4           | 66,7              | -132,2             | 160,8           | -65,2             | 1,6                 |

A két ábra összevetésével kitűnik, hogy a számított rotátorerősségek és robusztusságok az  $\alpha$ -aminosav származékok esetén legtöbbször csökkentek. Ez a csökkenés azonban nem jelentős mértékű, így a robusztus rezgések robusztusak, a nem robusztus rezgések nem robusztusak maradnak. Azaz hasonló eredményeket kapunk, mint amikor az összes konformert vesszük figyelembe. A  $\beta$ -peptidmodellek esetén a változás még kisebb: gyakorlatilag nem változnak, ha csak a legalacsonyabb energiájú konformereket vesszük figyelembe. Két kivételt jelent a  $\beta$ -ForAsnNHMe és a

$\beta$ -ForAspNHMe, mivel ezeknek csak egyetlen konformerük marad, és azoknak több rezgése is robusztusnak tekinthető. Ezekről eltekintve azonban általában igaz, hogy a nem robusztus rezgések nem robusztusak maradnak a  $\beta$ -származékok esetén is. Összehasonlítva az  $\alpha$ -modellvegyületekkel megerősítést nyer az a már korábban tett megállapításunk, hogy  $\beta$ -szerkezetek robusztusságai abszolút értékekben kisebbek, a vizsgált rezgési módok általánosságban kevésbé tekinthetők robusztusnak. Összességében elmondható, hogy hasonló eredményeket kapunk, ha az összes, illetve ha csak a legalacsonyabb energiájú konformerek robusztusságát vizsgáljuk.

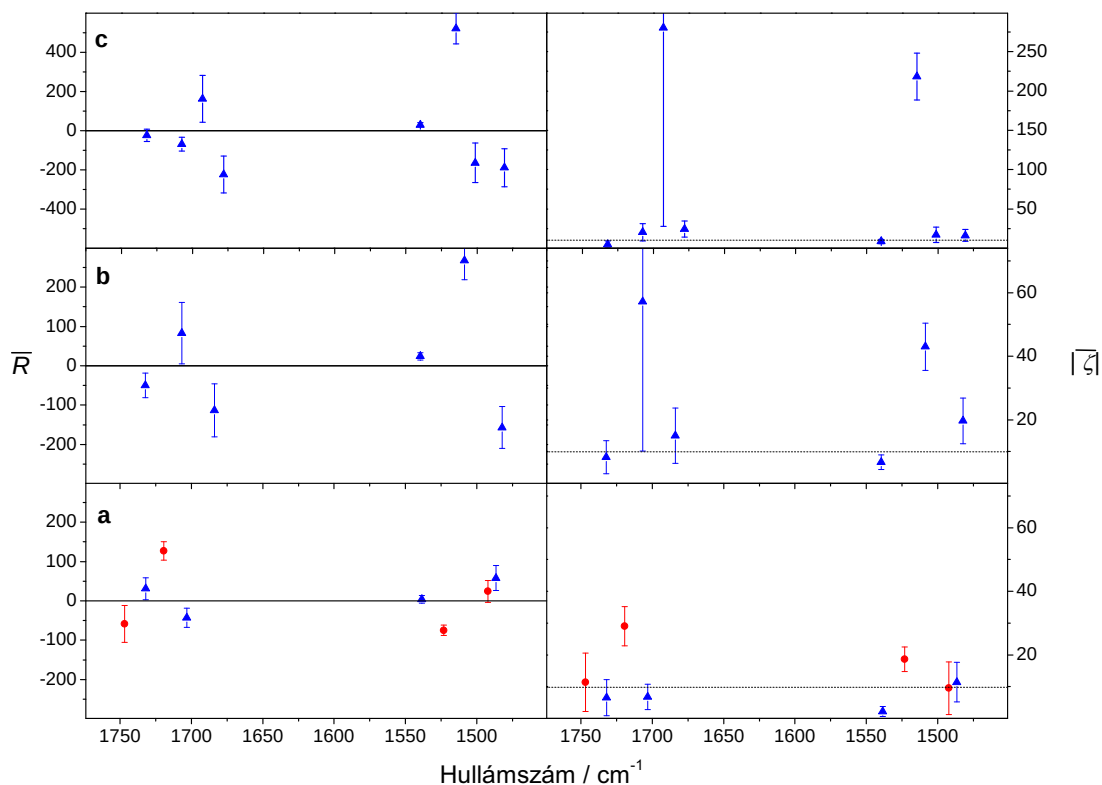
#### 4.4.3. Lánchossztól való függés vizsgálata

Abból a célból, hogy megállapítsam, milyen hatással van a számított spektrumra a peptidmodell lánc nagysága, a  $\beta$ -ForValNHMe mellett  $\beta$ -For(Val) $_n$ NHMe (ahol  $n = 2$ , illetve 3) molekulákat is tanulmányoztam. Az  $\alpha$ -peptidmodell hasonló vizsgálatát, továbbá ezek eredményeinek összevetését a  $\beta$ -szerkezetekével a már említett – nemrégiben megjelent – cikkünkben ismertettük [137]. 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 történt. Mivel a ForValNHMe peptidmodellnek három lehetséges konformere van, ezért  $n = 2$  esetén összesen  $3^2=9$ ,  $n = 3$ -nál ez a szám  $3^3=27$ . Ezeknek a hosszabb láncoknak a geometriáit, illetve relatív szabadentalpiáit a 4.2. és a 4.3. táblázatban foglaltam össze. A 4.5. ábrán az egy, két és három Val egységet tartalmazó peptidmodellek robusztusságai láthatók, a függelékben ezek összes számított rezgési frekvenciája, IR jel intenzitása, rotátorerőssége és robusztussága megtalálható (1. függelék A.2., A.3. táblázat az  $\alpha$  és  $\beta$ -ForValNHMe-re, A.4. és A.5. táblázat  $n = 2$ , illetve 3 esetén).

Az ábrából kitűnik, hogy – a  $\beta$ -ForValNHMe-re kapottakkal összevetve – az N-terminális számított rotátorerősségei előjelet váltanak a hosszabb láncokban. Ez nem meglepő, lévén  $\beta$ -ForValNHMe esetén nem robusztus jelekről van szó. A robusztusságokat összehasonlítva nincs jelentős eltérés, ezek kissé növekvő tendenciát mutatnak a lánchossz növekedésével. Ennek ellenére  $n = 2$  esetén mindössze az N-terminális amid-II rezgés nevezhető robusztusnak,  $n = 3$ -nál a C- és N-terminális amid-II rezgések.

A láncközi amidcsoportok VCD jelei már két Val egységet tartalmazó lánc esetén nagyobb rotátorerősséggel és a robusztussággal rendelkeznek (a terminális amidcsoportokhoz képest). Így – míg  $n = 1$  esetén nem mondhatjuk ki egyik vizsgált rezgési módra sem, hogy robusztus lenne – mind  $n = 2$ , mind  $n = 3$  esetén a lánc közepén levő amidcsoport(ok) rezgése már robusztus az amid-I és amid-II rezgésekre egyaránt (legalábbis a vizsgált bázison). Megfigyelhető továbbá, hogy utóbbinál a láncközi két-két amid-I és amid-II rezgés rotátorerőssége egymással ellentétes előjelű,

abszolút értékükben nagyobb, mint  $n = 2$ -nél kaptak, és általában robusztusabbak is. Várható tehát, hogy a láncossz növekedésével – ahogy a terminális csoportok rezgése egyre kevésbé jelentősek és a láncközi csoportok rezgése fontosabbá válik – a robusztus amid-I és amid-II rezgések száma nő. A rotátorerősség és a robusztusság növekedésének oka a lánc közepén található peptidcsoportok rezgéseinek csatolása.



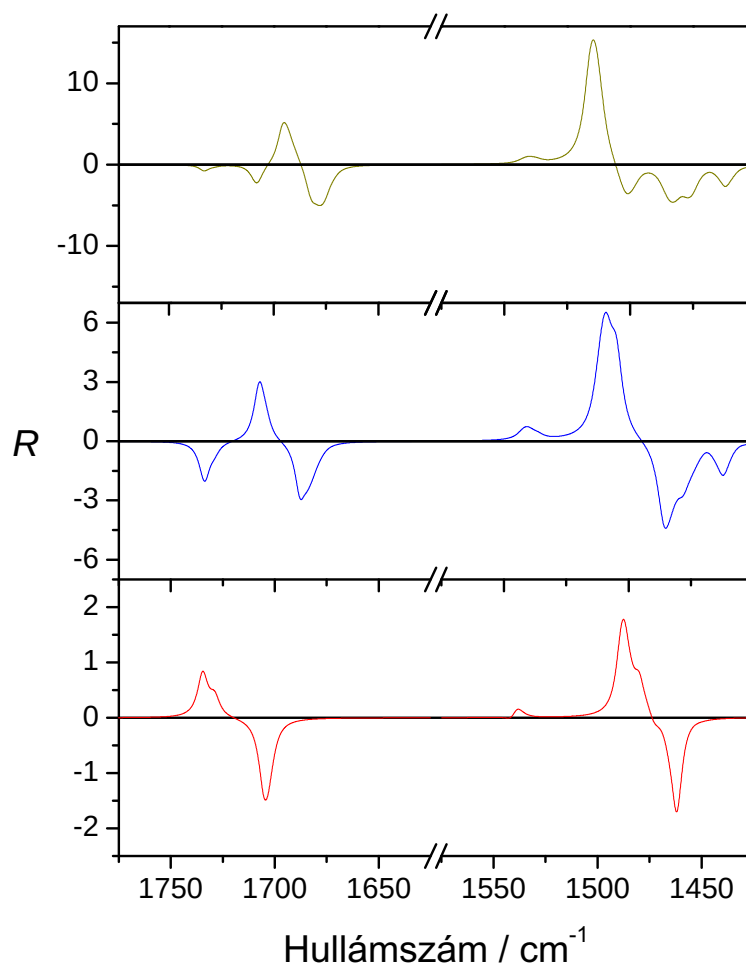
**4.5. ábra.** Az  $\alpha$ - (piros kör) és  $\beta$ -For(Val) $_n$ NHMe (kék háromszög) rotátorerősségének (bal oszlop) és robusztussága abszolút értékének (jobb oszlop) láncossztól ( $n$ -től) való függése B3LYP/6-31G\* elméleti szinten:  $n=1$  (a, alul),  $n=2$  (b, középen) és  $n=3$  (c, felül) esetén. Figyeljük meg, az alsó két sornál a skálázás eltér a legfelső sorétól!

A három Val egységet tartalmazó láncban mind az amid-I, mind az amid-II láncközi rezgésekre igaz, hogy a szomszédos peptidcsoportok rezgése erősen csatolnak egymással. Előbbi esetén, ha a két csoport rezgése szimmetrikus (azaz azonos fázisban rezegnek) – amely a magasabb frekvenciájú a két rezgés közül –, akkor az IR jel kisebb, a rotátorerősség nagy pozitív értéket vesz fel. A másik esetben a két csoport rezgése antiszimmetrikus (azaz ellentétes fázisban rezegnek), az IR intenzitás nagy és a rotátorerősség nagy negatív értékű lesz. Ez egyébként megfigyelhető 2-klórpropionsav dimerek karbonil rezgéseinél is, l. 6.2.3. fejezetet. Az amid-II rezgésnél a magasabb frekvenciájú a két láncközi csoport antiszimmetrikus rezgése, ekkor az IR jel kisebb, a

**4.3. táblázat.** A  $\beta$ -For( $\text{Val}$ )<sub>3</sub>NHMe konformerek geometriai paramétereit fokban és relatív Gibbs-energiát ( $\Delta G_{298K}^0$ , kJ mol<sup>-1</sup>-ban) B3LYP/6-31G\* elméleti szinten.

| konformerek               | $\varphi_{N-term}$ | $\psi_{N-term}$ | $\chi_{1,N-term}$ | $\varphi_{centr}$ | $\psi_{centr}$ | $\chi_{1,centr}$ | $\varphi_{centr}$ | $\psi_{C-term}$ | $\chi_{1,C-term}$ | $\Delta G_{298K}^0$ |
|---------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|---------------------|
| ForValNHMe- $\beta_{111}$ | -130,3             | 132,9           | 179,4             | -133,5            | 136,7          | -179,9           | -128,5            | 135,0           | 179,6             | 2,5                 |
| ForValNHMe- $\beta_{112}$ | -130,5             | 133,6           | 179,0             | -133,4            | 138,3          | -176,6           | -131,6            | 162,1           | -65,2             | 3,2                 |
| ForValNHMe- $\beta_{113}$ | -130,8             | 134,7           | 179,6             | -132,0            | 137,1          | -179,6           | -152,8            | 153,8           | 64,3              | 3,3                 |
| ForValNHMe- $\beta_{121}$ | -131,6             | 137,7           | -176,5            | -132,7            | 162,1          | -65,1            | -129,9            | 136,9           | 179,6             | 0,5                 |
| ForValNHMe- $\beta_{122}$ | -131,7             | 137,8           | -176,8            | -132,5            | 161,3          | -65,7            | -132,3            | 161,5           | -65,0             | 2,0                 |
| ForValNHMe- $\beta_{123}$ | -131,9             | 138,6           | -175,9            | -132,4            | 163,5          | -64,9            | -153,6            | 154,2           | 64,3              | 2,7                 |
| ForValNHMe- $\beta_{131}$ | -131,0             | 136,7           | 179,9             | -154,6            | 156,9          | 67,3             | -125,7            | 136,8           | 179,3             | 0,4                 |
| ForValNHMe- $\beta_{132}$ | -131,1             | 136,8           | 179,8             | -153,7            | 154,2          | 66,5             | -132,7            | 161,0           | -65,3             | 3,0                 |
| ForValNHMe- $\beta_{133}$ | -131,2             | 137,3           | -179,9            | -153,8            | 156,3          | 66,0             | -152,5            | 154,7           | 64,4              | 2,4                 |
| ForValNHMe- $\beta_{211}$ | -134,2             | 159,3           | -65,6             | -131,8            | 137,2          | 179,8            | -129,6            | 135,3           | 179,6             | 0,5                 |
| ForValNHMe- $\beta_{212}$ | -134,4             | 160,0           | -65,4             | -131,9            | 139,2          | -176,6           | -132,4            | 162,2           | -65,1             | 4,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{213}$ | -134,3             | 160,0           | -65,3             | -131,3            | 139,3          | -179,6           | -152,4            | 154,0           | 64,4              | 2,8                 |
| ForValNHMe- $\beta_{221}$ | -134,3             | 159,4           | -66,1             | -132,7            | 161,3          | -65,6            | -130,5            | 137,4           | 179,8             | 3,5                 |
| ForValNHMe- $\beta_{222}$ | -134,4             | 159,6           | -66,1             | -132,7            | 160,7          | -66,1            | -132,6            | 161,6           | -65,4             | 1,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{223}$ | -134,4             | 159,7           | -66,1             | -132,9            | 162,5          | -65,5            | -153,3            | 154,2           | 64,7              | 0,3                 |
| ForValNHMe- $\beta_{231}$ | -134,5             | 160,3           | -65,9             | -155,7            | 157,2          | 67,2             | -124,7            | 136,5           | 179,0             | 0,9                 |
| ForValNHMe- $\beta_{232}$ | -134,5             | 160,5           | -65,8             | -154,7            | 155,0          | 66,9             | -132,4            | 161,0           | -65,3             | 2,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{233}$ | -134,5             | 160,9           | -65,6             | -154,8            | 157,0          | 66,4             | -152,3            | 155,0           | 64,4              | 2,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{311}$ | -155,5             | 157,0           | 67,6              | -126,0            | 136,1          | 178,9            | -129,3            | 135,3           | 179,7             | 4,9                 |
| ForValNHMe- $\beta_{312}$ | -155,6             | 156,6           | 67,4              | -128,1            | 138,9          | -177,2           | -131,7            | 162,2           | -64,7             | 1,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{313}$ | -155,5             | 157,0           | 67,5              | -126,7            | 138,6          | 179,6            | -152,8            | 153,8           | 64,2              | 2,3                 |
| ForValNHMe- $\beta_{321}$ | -154,7             | 154,5           | 66,8              | -132,4            | 160,8          | -65,4            | -130,2            | 137,5           | 179,7             | 1,8                 |
| ForValNHMe- $\beta_{322}$ | -155,0             | 154,6           | 67,0              | -132,3            | 160,2          | -65,9            | -132,7            | 161,4           | -65,3             | 2,4                 |
| ForValNHMe- $\beta_{323}$ | -154,8             | 154,8           | 67,0              | -132,5            | 162,2          | -65,3            | -153,5            | 154,4           | 64,8              | 0,0                 |
| ForValNHMe- $\beta_{331}$ | -155,3             | 156,4           | 66,2              | -152,4            | 157,5          | 67,2             | -126,0            | 137,7           | 179,2             | 0,1                 |
| ForValNHMe- $\beta_{332}$ | -155,3             | 156,5           | 66,3              | -152,3            | 155,7          | 66,9             | -132,2            | 160,9           | -65,3             | 0,9                 |
| ForValNHMe- $\beta_{333}$ | -155,5             | 156,7           | 66,4              | -151,8            | 157,6          | 66,4             | -152,0            | 155,1           | 64,6              | 1,4                 |

rotátorerősség negatív. Az alacsonyabb frekvenciájú csatolt rezgési mód a két láncközi csoport szimmetrikus amid-II rezgése, ekkor az IR abszorpció nagy, a rotátorerősség nagy negatív érték lesz. Ezek alapján adódik a feltételezés, hogy ha a molekula láncközi peptidcsoportjainak számát tovább növeljük, azok rezgései csatolnak egymással, így 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 teljes egészében. Ilyenek az  $\alpha$ -, illetve  $\beta$ -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.



**4.6. ábra.** A  $\beta$ -ForValNHMe (piros vonal, alul), a  $\beta$ -For(Val)<sub>2</sub>NHMe (kék vonal, középen) és a  $\beta$ -For(Val)<sub>3</sub>NHMe (sárga vonal, felül) szimulált spektruma B3LYP/6-31G\* elméleti szinten. A számított frekvenciaértékek SQM módszerrel skálázottak. Az egyes konformerek által adott jelekre  $3 \text{ cm}^{-1}$  félértékszélességű Lorentz-görbéket illesztettem majd azok relatív gyakoriságával súlyoztam. Az egyes spektrumokat az összehasonlíthatóság kedvéért eltérően skáláztam.

Ezt alátámasztja a 4.6. ábra, amelyen a  $\beta$ -For(Val) $_n$ NHMe ( $n = 1 - 3$ ) szimulált VCD spektrumai láthatók. Ezeket a következőképpen állítottam elő: a számított (és már frekvenciaskálázott) VCD rotátorerősségekre Lorentz-görbékét illesztettem, majd az egyes konformerek relatív gyakoriságával súlyozva és az így kapott spektrumokat összegezve megkaptam a szimulált VCD spektrumot. Látható a terminális amidcsoportok relatív jelerősségének fokozatos csökkenése (ilyenek többek között az amid-I tartományban a legmagasabb frekvenciánál található jelek), ezzel párhuzamosan pedig a láncközi amidcsoportok jelének relatív erősödése.  $n = 2$ -nél az amid-I sávnál már kivehető a negatív couplet jelalak, bár ebben az esetben a terminális amidcsoportok jelének nagysága még összevethető ezzel. Azonban a három Val egységet tartalmazó modellpeptid esetében már a negatív couplet válik meghatározóvá. A  $\beta$ -peptidek amid-II sávjára általában jellemző széles és gyenge negatív jel is kezd kirajzolódni, viszont – ellentétben a  $\beta$ -oligopeptidek kísérleti VCD spektrumával – egy erősebb pozitív csúcs is jelen van a tartományban magasabb hullámszámoknál. Kérdés, hogy ez utóbbi tartomány a tagszám növekedésével nagyobb hasonlóságot mutat-e a kísérleti eredményekkel. A problémát az jelenti, hogy a hosszabb peptidek oldalláncai egyre többféle állást vehetnek fel (így például  $n = 4$  esetén 81 különböző konformer létezik,  $n = 5$ -re ez a szám már 243). Ezt azonban a számítási kapacitás közeljövőben várható további növekedése nagyrészt orvosolja, így a későbbiekben erre a kérdésre is választ kaphatunk majd.

## 4.5. Összefoglalás

A fejezetben a ForAANHMe általános képlettel jellemezhető (ahol AA: Asn, Asp, Cys és Val) peptidmodellek rezgési frekvenciáit, VCD rotátorerősségeit és azok robusztusságát tanulmányoztam kvantumkémiai számításokkal. Vizsgálatom tárgyát képezte a számított VCD rotátorerősségek függése a különböző perturbációktól, így az egyes aminosavak esetén azok geometriájától (az oldallánc konformációjától, valamint a peptid másodlagos szerkezetétől), az alkalmazott elméleti szinttől és a For(Val) $_n$ NHMe ( $n = 1, 2$  és  $3$ ) esetében a peptidlánc hosszától. Munkám végzésekor különös figyelmet fordítottam a jelek robusztusságára és ennek változásaira.

Vizsgálataim során kiderült, hogy ezekenek a molekuláknak a tulajdonságai – főként a rotátorerősség és a robusztusság – kevésbé függnek az alkalmazott bázis nagyságától, és nagyjából hasonló eredményeket kapunk B3LYP/6-31G\*, B3LYP/6-31++G\*\* és B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szintek használata esetén. A VCD jelek érzékenyek a molekula geometriájára, így az oldalláncok konformációja erősen befolyásolja ezeket. Ezenkívül az  $\alpha$ -, illetve  $\beta$ -peptidek rotátorerősségei és robusztusságértékei is nagy változatosságot mutatnak, és előbbiek jelei általában robusztusabbaknak mondhatók. A lánchossztól való függés vizsgálatakor kiderült, hogy annak növekedésével a számított



VCD spektrum erőteljes változást mutat és – a monomereknél tapasztalhatókkal ellentétben – fokozatosan egyre több hasonlóságot mutat a kísérleti eredményekkel, ami a láncközi amidrezgések csatolásának és VCD jelük robusztus voltának köszönhető. A kiértékelés során elegendő a legalacsonyabb energiájú konformereket figyelembe venni, mivel – azon kívül, hogy alapvetően nem térnek el azoktól az eredményektől, amelyeket az összes konformer figyelembevételével kaphatunk – csak azok VCD jelei elegendően nagyok ahhoz, hogy ne lehessen azokat elhanyagolni, továbbá nem elhanyagolható számítási időt lehet ily módon megtakarítani.

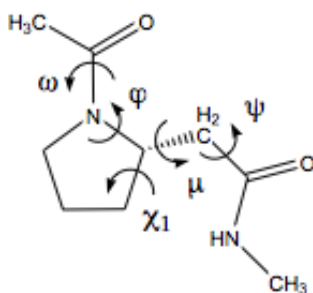
## 5. fejezet

# Az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe szerkezete és VCD jeleinek robusztussága

### 5.1. Bevezetés

Az elmúlt években nagymértékben megnőtt a  $\beta$ -aminosavakat tartalmazó peptidek szerkezeti analízise iránti érdeklődés. Ennek oka, hogy a természetben nagy számban fordulnak elő szabadon, illetve kötött állapotban fehérjékben is megtalálhatók [138]. Legnagyobb mennyiségben tengeri élőlényekben, illetve növényekben vannak jelen [139], és legtöbbször fiziológiailag aktívak. A  $\beta$ -aminosavak peptidomimetikus molekulák [140, 141], azaz – az  $\alpha$ -aminosavakat tartalmazó fehérjékhez hasonlóan – számos másodlagos szerkezettel rendelkezhetnek, mint különféle redők és hélixek [142–144], de azokkal ellentétben ellenállóak a legtöbb proteolitikus enzimmel szemben [145–147]. A királis  $\beta$ -aminosavak közül nagyobb figyelmet szentelnek a  $\beta^3$ -homo-aminosavaknak ( $\beta^3$ -H-aminosavak) [148], mivel könnyen előállíthatók enantiomertiszta formában az Arndt–Eistert-reakció segítségével [149, 150].

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



**5.1. ábra.** Az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe sematikus rajza a szerkezetét leíró torziós szögek jelölésével

mérések során a molekulát olyan környezetbe kell helyeznünk, hogy a kölcsönhatásokat minimalizáljuk. Ez megvalósítható a mátrixizolációs módszer alkalmazásával (l. 1.2.2. 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 [151, 152], amelyben a fehérje és az oldószermolekula közt hidrogén-deutérium kicserélődés zajlik le. A fehérje így megjelenő deuterált amid-I (amid-I') sávja már megfigyelhető, 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 [153]. 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 [154]. Fontos továbbá a polipeptidek mérése nemvizes közegben [155], ez azonban általában csak  $\alpha$ -hélixek esetén járható út, ugyancsak a kis oldhatóság következtében [156]. 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 [157, 158]. Kimutatták továbbá, hogy bizonyos  $\alpha$ -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” [159]. Nemesgáz mátrixban történő mérés esetén a módszer rendkívül alkalmas a peptidek, illetve fehérjék másodlagos szerkezetének meghatározására (l. 1.2.3. fejezet). Ez utóbbi fejezetben  $\alpha$ -aminosavak, illetve peptidmodellek MI-VCD spektroszkópiás vizsgálatára tértem ki, jelen fejezetben pedig a  $\beta$ -peptidmodellek szerkezetvizsgálatát ismertetem [44, 51].

Általában a diamidok a legkisebb és legegyszerűbb vegyületek, amelyek a  $\gamma$ -kanyar modellezésére alkalmasak. Ezek közül a legfontosabbak a prolin diamidszármazékok. Oldatfázisú és mátrixizolációs IR [160–168] és VCD [90, 107, 109] spektroszkópiás vizsgálatok kimutatták, hogy ilyen körülmények között a *transz*- $\gamma$  konformer a legkisebb energiájú, és az oldószer polaritásának növekedésével a *cisz* konformer relatív gyakorisága növekszik.

Mivel a  $\beta$ -aminosavak esetén a terminális szénatomok között az  $\alpha$ -aminosavakhoz képest egy további szénatom van, ezért – annak érdekében, hogy a peptidlánc szerkezetét megfelelően le tudjuk írni – egy új torziós szöget kell bevezetni, amelyet

$\mu$ -vel jelölünk. A molekula sematikus ábráját a megfelelő torziós szögek jelölésével az 5.1. ábrán tüntettem fel.

További különbség, hogy a  $\beta$ -aminosavak nem képesek 10, illetve 7 tagú gyűrűs ( $C_{10}$ , illetve  $C_7$ ) intramolekuláris hidrogénkötést kialakítani, amely az  $\alpha$ -aminosavakban a  $\beta$ -, illetve  $\gamma$ -kanyarok kialakulásának feltétele, ehelyett  $C_6$ , illetve nagyobb ( $C_8$ ,  $C_{11}$ ,  $C_{12}$ ) tagszámú gyűrűs szerkezeteket alkotnak. Az Ac- $\beta^3$ -HGly-NHMe és az Ac- $\beta^3$ -HAla-NHMe vizsgálata során a  $C_6$  volt a legnagyobb arányban előforduló szerkezet [44], de nagyobb szerkezeteknél – mint amilyenek a *cisz*-2-amino-ciklopentán-karbonsav oligomerjei – is a  $C_6$  gyűrűt észlelték [169].  $C_8$  gyűrűknél pszeudo- $\gamma$ -kanyarok ( $\psi\gamma$ -kanyar) kialakulását is tapasztalták [170]. (*S*)- $\beta^3$ -HPro, illetve (*S*)- $\alpha$ -Pro egységekből felépülő ciklikus penta-, illetve hexapeptideknél kimutatták, hogy a  $\beta^3$ -HPro egységek  $\psi\gamma$ -kanyar, illetve  $\psi\beta$ -kanyarokat képeznek [171].

Vizsgálatunk célja a HPro szerkezetének feltérképezése volt, ezen belül az, hogy a peptid képez-e  $\psi\beta$ -kanyarokat [51]. 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. Eredmények

A különböző konformerek jelölésére 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 konformációk (l. 2.2.4.1. fejezet, [74]) jelölése +, illetve – volt.

### 5.2.1. Számítási eredmények

A vákuumban, illetve oldószermodell segítségével végzett számítások eredményei alapján a magasabb energiájú pucker konformerek egy alacsony gáton keresztül átalakulnak az alacsonyabb energiájú szerkezetté. Emiatt a pucker-párokat a spektrumok szimulálása során nem számítottam külön, hanem az alacsonyabb szabadentalpiájú változatot a két konformer relatív gyakoriságának összegével vettem figyelembe (az egyes relatív gyakoriságok az 5.1. táblázatban megtalálhatók). A

feltevést, miszerint a pucker konformerek 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-párok közül csak az alacsonyabb energiájúakat kell figyelembe venni.

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

| Konformer <sup>a</sup> | $\omega$ | $\varphi$ | $\mu$ | $\psi$ | $\chi_1$ | $\Delta G_{0K}^o$ <sup>b</sup> | $\Delta G_{345K}^o$ <sup>c</sup> | $p_i / \sum p_i$ <sup>d</sup> |
|------------------------|----------|-----------|-------|--------|----------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| <b>At</b> +            | -176,4   | -54,8     | -45,5 | 105,6  | -27,9    | 0,9                            | 0,0                              | 0,374                         |
| <b>At</b> -            | -174,2   | -62,7     | -42,7 | 103,7  | 23,6     | 4,8                            | 2,7                              | 0,146                         |
| <b>Bt</b> -            | -177,3   | -72,8     | 134,8 | -68,4  | 30,6     | 0,0                            | 2,8                              | 0,142                         |
| <b>Cc</b> -            | 4,8      | -89,8     | 169,4 | 137,4  | 33,5     | 14,9                           | 3,6                              | 0,106                         |
| <b>Dt</b> -            | -170,8   | -103,2    | 73,9  | 7,1    | 37,3     | 4,2                            | 4,9                              | 0,067                         |
| <b>Bt</b> +            | -177,0   | -65,0     | 132,5 | -71,4  | -25,4    | 2,6                            | 5,9                              | 0,048                         |
| <b>Et</b> -            | -179,7   | -69,1     | -65,7 | -140,6 | 26,4     | 16,0                           | 6,2                              | 0,043                         |
| <b>Cc</b> +            | 4,2      | -73,8     | 174,9 | 141,2  | -19,7    | 17,8                           | 7,6                              | 0,026                         |
| <b>Dt</b> +            | -170,5   | -103,1    | 74,7  | 6,4    | -4,7     | 8,4                            | 9,1                              | 0,016                         |
| <b>Fc</b> -            | 4,8      | -104,1    | 70,6  | -116,8 | 36,7     | 16,5                           | 9,1                              | 0,016                         |
| <b>Gt</b> -            | -178,5   | -88,9     | 43,4  | 90,0   | 35,0     | 15,6                           | 11,4                             | 0,007                         |
| <b>Fc</b> +            | 6,0      | -104,7    | 71,1  | -116,3 | 0,6      | 21,8                           | 12,8                             | 0,004                         |
| <b>Hc</b> -            | 5,9      | -87,4     | -65,4 | 83,7   | 29,7     | 20,6                           | 12,9                             | 0,004                         |
| <b>Ic</b> -            | 4,4      | -89,0     | 168,7 | -126,8 | 33,8     | 17,9                           | 14,1                             | 0,003                         |
| <b>Hc</b> +            | 7,6      | -74,7     | -64,0 | 63,6   | -22,2    | 22,1                           | 14,4                             | 0,002                         |
| <b>Gt</b> +            | -176,9   | -89,8     | 54,6  | 80,0   | -8,3     | 21,6                           | 16,8                             | 0,001                         |
| <b>Jc</b> -            | 7,9      | -97,7     | 67,9  | 94,0   | 36,6     | 30,8                           | 19,6                             | 0,000                         |
| <b>Kc</b> -            | 4,6      | -83,9     | -63,3 | -113,3 | 31,6     | 31,6                           | 19,8                             | 0,000                         |
| <b>Jc</b> +            | 8,5      | -92,1     | 70,6  | 88,1   | -8,6     | 35,1                           | 26,8                             | 0,000                         |
| <b>Kc</b> +            | 6,6      | -65,5     | -43,3 | -98,3  | -23,7    | 32,4                           | 30,8                             | 0,000                         |

<sup>a</sup> A torziós szögeket ( $\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$ ) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat ( $\Delta G_T^o$ ) kJ mol<sup>-1</sup> egységben adtam meg.

<sup>b</sup> **Bt**- konformerhez viszonyítva 0 K-en ( $\Delta G_{0K}^o = -612.63103$  E<sub>h</sub>).

<sup>c</sup> **At**+

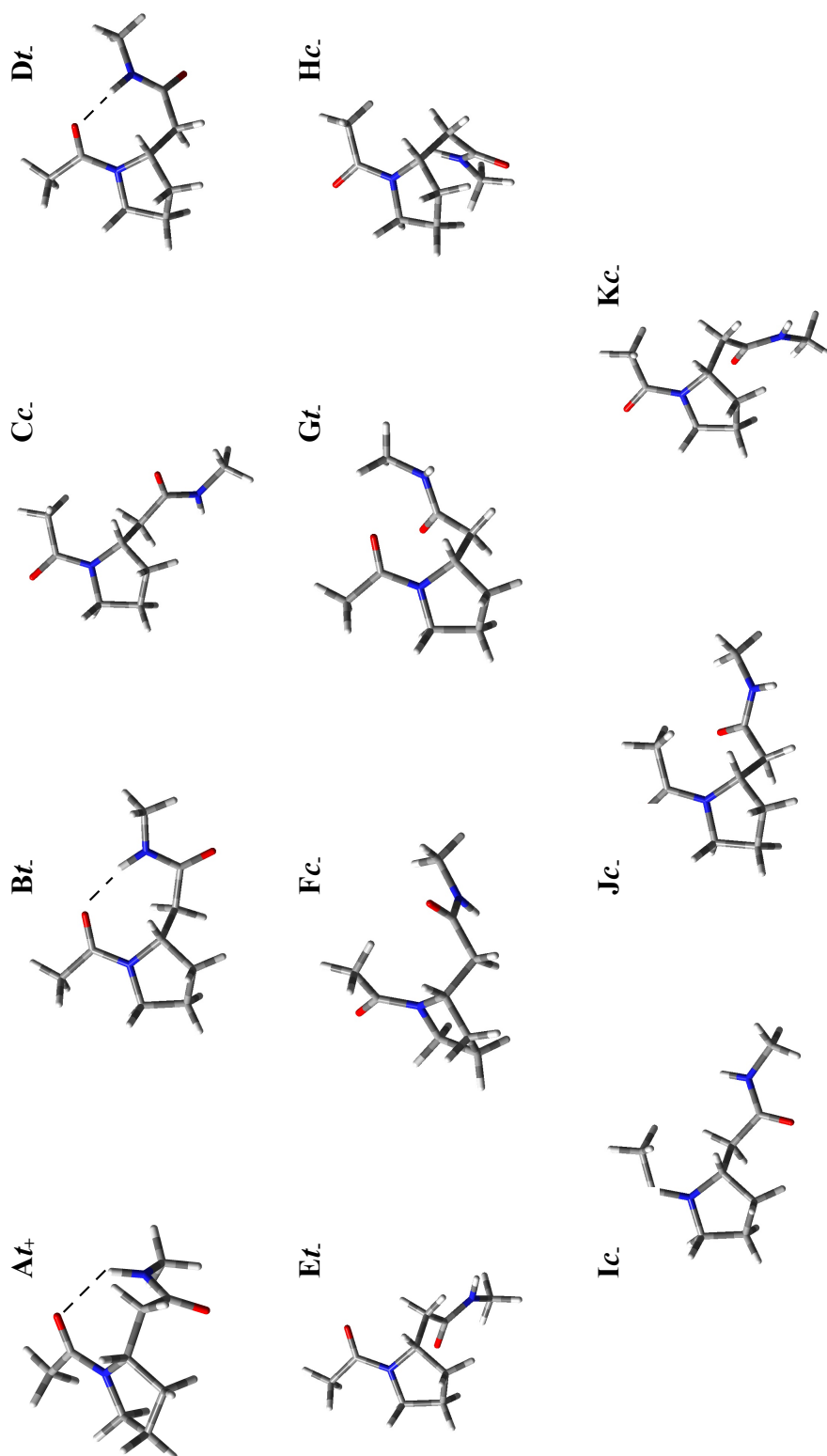
és **Dt**+, amelyek relatív gyakorisága 19, illetve 8%. A többi konformer nem tartalmaz intramolekuláris hidrogénkötést, de nagyobb entrópiatagjuk miatt relatív gyakoriságuk magasabb a vártnál. Ezek közül a legalacsonyabb szabadentalpiával **Cc**– (illetve **Cc**+) rendelkezik, relatív gyakoriságuk összesen 13%. Az eredményt érdemes összevetni az aminosav  $\alpha$ -analógjával, az  $\alpha$ -Ac-Pro-NHMe molekulával, amelynél ugyanezen a hőmérsékleten és elméleti szinten az összes *cisz* konformer együttes relatív gyakorisága nem éri el a 3%-ot [49].

**5.2. táblázat.** Az *Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe* konformerek közötti gátak magassága ( $\Delta E^\#$ ,  $\text{kJ mol}^{-1}$ -ban), *B3LYP/6-31++G\*\** elméleti szinten.

| TS                                        | $\Delta E^\#$ |              |
|-------------------------------------------|---------------|--------------|
|                                           | $\rightarrow$ | $\leftarrow$ |
| <b>At</b> + $\leftrightarrow$ <b>At</b> – | 13,9          | 10,0         |
| <b>Bt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Bt</b> + | 12,4          | 9,8          |
| <b>Cc</b> – $\leftrightarrow$ <b>Cc</b> + | 7,8           | 4,3          |
| <b>Dt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Dt</b> + | 5,9           | 1,5          |
| <b>Fc</b> – $\leftrightarrow$ <b>Fc</b> + | 5,2           | 0,2          |
| <b>Gt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Gt</b> + | 7,0           | 0,9          |
| <b>Hc</b> – $\leftrightarrow$ <b>Hc</b> + | 6,3           | 4,5          |
| <b>Jc</b> – $\leftrightarrow$ <b>Jc</b> + | 6,1           | 1,3          |
| <b>Gt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Jc</b> – | 68,5          | 55,7         |
| <b>Gt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Jc</b> – | 74,6          | 60,5         |
| <b>Et</b> – $\leftrightarrow$ <b>Kc</b> – | 77,4          | 62,5         |
| <b>At</b> – $\leftrightarrow$ <b>Hc</b> – | 81,4          | 61,7         |
| <b>At</b> – $\leftrightarrow$ <b>Hc</b> – | 74,8          | 60,8         |
| <b>Bt</b> – $\leftrightarrow$ <b>Ic</b> – | 88,0          | 71,6         |
| <b>At</b> – $\leftrightarrow$ <b>Et</b> – | 10,5          | 0,6          |
| <b>Ct</b> – $\leftrightarrow$ <b>Ic</b> – | 3,5           | 0,1          |

A többi konformer közül még az **Et**– konformernek, az **Fc**– és **Fc**+, illetve a **Gc**– és **Gc**+ pucker-párnak összesen akkorák a Boltzmann-faktorai, amelyek alapján populációjuk eléri, illetve meghaladja az 1%-ot, azaz detektálható mennyiségben lehetnek 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 hasonlítanak egymásra, azaz egymás *cisz-transz* párjainak tekinthetők. Ilyenek a **Gt** $\pm$  és **Jc** $\pm$ , illetve **Et**– és **Kc**–, amelyek egyikében sincs intramolekuláris hidrogénkötés. Olyan esetben, amikor a molekula atomjai közt van hidrogénkötés, ennek felszakadása a *cisz-transz* átmenet során a szerkezet nagyobb mértékű megváltozását eredményezi. Jó példák erre az **At** $\pm$  és **Hc** $\pm$ , illetve a **Bt**– és **Ic**– szerkezetek közötti nagyobb eltérés.



5.2. ábra. Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPPro-NHMe}$  konformerei  $\text{B3LYP/6-31++G}^{**}$  elméleti szinten.

Észrevehető, hogy a számítások szerint bizonyos szerkezeteknél csak az egyik pucker módosulat minimum a potenciális energiafelületen – ilyen az **Et**– és az **Ik**– – míg a másik nem az. Ha kiindulási geometriaként – a másik pucker módosulatból a pirrolidin gyűrű „átcsavarásával” – létrehoztam a másik módosulatot (azaz „**Et**+”, illetve „**Ik**+” szerkezeteket), akkor azok a geometriai optimalizálás során minden esetben a megfelelő legalacsonyabb szerkezetbe, azaz **At**+, illetve **Cc**+ szerkezetbe alakultak át. Az, hogy az **Et**– és az **Ik**– lokális minimum, pusztán sztérikus okokra vezethető vissza, és ennek megfelelően az átalakulás gátja a legalacsonyabb energiájú szerkezetekbe – azaz **At**–, illetve **Cc**– konformerekbe – meglehetősen kicsi: B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten 0,6, illetve 0,1 kJ mol<sup>-1</sup> (l. 5.2. táblázat, de hasonló eredményeket kaptam 6-31G\* bázison is: a megfelelő értékek 0,8, illetve 0,1 kJ mol<sup>-1</sup>). Érdemes megjegyezni, hogy az általam használtknál nagyobb bázis alkalmazása esetén ezek a gátak valószínűleg eltűnnek, azaz **Et**– és **Ik**– már nem lesz tekinthető lokális minimumnak.

**5.3. táblázat.** Az *Ac-β<sup>3</sup>-HPro-NHMe* konformerek szerkezeti paraméterei és relatív Gibbs-energiái ACN oldószerben IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten.

| Konformer <sup>a</sup> | $\omega$ | $\varphi$ | $\mu$              | $\psi$             | $\chi_1$ | $\Delta G_{298K}^o$ <sup>b</sup> | $p_i / \sum p_i$ <sup>c</sup> |
|------------------------|----------|-----------|--------------------|--------------------|----------|----------------------------------|-------------------------------|
| <b>Cc</b> –            | 3,2      | –88,1     | 171,0              | 132,7              | 34,1     | 0,0                              | 0,823                         |
| <b>Cc</b> +            | 0,1      | –70,4     | 179,6              | 127,0              | –15,8    | 6,0                              | 0,072                         |
| <b>Fc</b> –            | 3,4      | –103,1    | 68,7               | –117,3             | 37,4     | 8,3                              | 0,029                         |
| <b>Et</b> –            | –177,2   | –74,6     | –62,7              | –106,2             | 29,8     | 9,7                              | 0,016                         |
| <b>At</b> +            | –177,8   | –64,7     | –49,2              | 111,4              | –23,7    | 10,3                             | 0,013                         |
| <b>At</b> –            | –174,9   | –72,6     | –57,8              | 106,8              | 25,9     | 10,3                             | 0,013                         |
| <b>Jc</b> –            | 1,8      | –98,4     | 61,4               | 90,8               | 36,8     | 11,3                             | 0,009                         |
| <b>Bt</b> –            | –177,2   | –74,9     | 128,9              | –60,2              | 31,8     | 11,5                             | 0,008                         |
| <b>Gt</b> –            | –176,0   | –93,6     | 57,2               | 85,7               | 35,0     | 11,7                             | 0,007                         |
| <b>Fc</b> +            | 3,1      | –103,3    | 69,0               | –117,1             | 5,4      | 13,5                             | 0,003                         |
| <b>Dt</b> –            | –170,6   | –102,7    | 75,9               | –0,1               | 37,5     | 15,2                             | 0,002                         |
| <b>Bt</b> +            | –178,2   | –64,7     | 127,5              | –63,9              | –25,0    | 15,3                             | 0,002                         |
| <b>Kc</b> +            | –1,0     | –65,9     | –53,5              | –107,4             | –19,1    | 16,9                             | 0,001                         |
| <b>Gt</b> +            | –176,4   | –91,1     | 62,3               | 81,5               | –8,5     | 17,2                             | 0,001                         |
| <b>Jc</b> +            | 2,0      | –89,2     | 69,2               | 82,9               | –7,1     | 17,4                             | 0,001                         |
| <b>H’c</b> +           | 1,7      | –68,2     | –43,7 <sup>d</sup> | 136,3 <sup>d</sup> | –19,8    | 18,5                             | 0,000                         |
| <b>Kc</b> –            | 3,3      | –76,5     | –59,7              | –107,3             | 31,1     | 19,0                             | 0,000                         |
| <b>H’c</b> –           | 6,7      | –77,4     | –65,2              | 104,2 <sup>d</sup> | 28,6     | 19,0                             | 0,000                         |
| <b>Dt</b> +            | –170,3   | –102,8    | 75,1               | 1,6                | –3,6     | 20,7                             | 0,000                         |

<sup>a</sup> A torziós szögeket ( $\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$ ) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat ( $\Delta G_T^o$ ) kJ mol<sup>-1</sup> egységben adtam meg.

<sup>b</sup> **Cc**– konformerhez viszonyítva 0 K-en ( $G_{0K}^o = -612.445084$  E<sub>h</sub>).

<sup>c</sup> A relatív gyakoriságokhoz ( $p_i / \sum p_i$ ) szükséges Boltzmann-faktorokat ( $p_i$ )  $\Delta G_{345K}^o$ -ból számoltam.

<sup>d</sup> A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.



Összegezve a vákuumban történt számításokat, ezek alapján legalább négy szerkezet jelei várhatók a minta leválasztása után a mátrixban: **At**+, **Bt**–, **Cc**– és **Dt**–. Ezeken túl még az **Fc**–, illetve a **Gt**– konformerek azok, amelyek jelei elég nagyok lehetnek ahhoz, hogy azokat észlelhessük.

**5.4. táblázat.** Az *Ac-β<sup>3</sup>-HPro-NHMe* konformerek szerkezeti paraméterei és relatív Gibbs-energiái DMSO oldószerben IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával B3LYP/6-31++G\*\* elméleti szinten.

| Konformer <sup>a</sup> | $\omega$ | $\varphi$ | $\mu$              | $\psi$             | $\chi_1$ | $\Delta G_{298K}^{\circ}$ <sup>b</sup> | $p_i / \sum p_i$ <sup>c</sup> |
|------------------------|----------|-----------|--------------------|--------------------|----------|----------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Cc</b> –            | 2,9      | –87,9     | 170,6              | 133,4              | 34,1     | 0,0                                    | 0,798                         |
| <b>Cc</b> +            | 0,1      | –70,5     | 179,7              | 128,7              | –19,8    | 5,1                                    | 0,100                         |
| <b>Fc</b> –            | 3,6      | –103,2    | 69,1               | –117,8             | 37,4     | 7,8                                    | 0,034                         |
| <b>Et</b> –            | –178,3   | –73,6     | –60,9              | –105,0             | 29,9     | 10,3                                   | 0,013                         |
| <b>At</b> +            | –177,7   | –64,2     | –48,5              | 113,4              | –24,0    | 10,6                                   | 0,011                         |
| <b>Jc</b> –            | 1,6      | –98,2     | 61,7               | 90,5               | 36,8     | 11,0                                   | 0,009                         |
| <b>Gt</b> –            | –176,2   | –94,2     | 57,6               | 86,4               | 35,2     | 11,1                                   | 0,009                         |
| <b>Bt</b> –            | –177,1   | –75,1     | 128,6              | –60,3              | 31,9     | 11,8                                   | 0,007                         |
| <b>At</b> –            | –174,8   | –72,4     | –59,3              | 107,4              | 25,7     | 11,9                                   | 0,007                         |
| <b>Fc</b> +            | 3,8      | –104,6    | 68,7               | –119,9             | 6,7      | 12,9                                   | 0,004                         |
| <b>Kc</b> –            | 3,1      | –75,6     | –58,4              | –106,3             | 30,9     | 15,2                                   | 0,002                         |
| <b>Dt</b> –            | –170,6   | –102,9    | 75,7               | –0,3               | 37,6     | 15,4                                   | 0,002                         |
| <b>Bt</b> +            | –178,2   | –64,9     | 127,1              | –63,4              | –24,9    | 15,8                                   | 0,001                         |
| <b>Kc</b> +            | –1,3     | –65,6     | –53,2              | –107,6             | –19,2    | 16,2                                   | 0,001                         |
| <b>Gt</b> +            | –175,5   | –91,1     | 63,3               | 80,4               | –9,2     | 17,5                                   | 0,001                         |
| <b>Jc</b> +            | 1,6      | –89,2     | 68,7               | 83,1               | –6,8     | 17,5                                   | 0,001                         |
| <b>H’c</b> +           | 2,3      | –68,4     | –43,9 <sup>d</sup> | 137,8 <sup>d</sup> | –19,8    | 18,6                                   | 0,000                         |
| <b>H’c</b> –           | 6,5      | –77,5     | –64,2              | 105,2 <sup>d</sup> | 28,6     | 19,1                                   | 0,000                         |
| <b>Dt</b> +            | –170,3   | –102,8    | 75,3               | 1,2                | –3,6     | 20,9                                   | 0,000                         |

<sup>a</sup> A torziós szögeket ( $\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$ ) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat ( $G_T^{\circ}$ ) kJ mol<sup>–1</sup> egységben adtam meg.

<sup>b</sup> **Cc**– konformerhez viszonyítva 0 K-en ( $G_{0K}^{\circ} = -612.445229$  E<sub>h</sub>).

<sup>c</sup> A relatív gyakorisághoz ( $p_i / \sum p_i$ ) szükséges Boltzmann-faktorokat ( $p_i$ )  $\Delta G_{345K}^{\circ}$ -ból számoltam.

<sup>d</sup> A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.

Az oldószermodelles számítások eredményeit, a kapott szerkezeteket, és ezek szabadentalpia-különbségeit, illetve relatív gyakoriságukat különböző oldószerek esetén (acetonitril – ACN, dimetil-szulfoxid – DMSO és diklór-metán – DCM, l. 2.2.4.2. fejezet) az 5.3., az 5.4. és az 5.5. táblázatban foglaltam össze. 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 **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 optimalizálás során minden esetben **Cc**– szerkezetté alakult át. A másik eltérés **Hc**+ szerkezetének változása – egészen pontosan a  $\mu$  és  $\psi$  torziós szögeké – a vákuumban számítottakhoz képest: előbbi eltérése nagyjából  $20^\circ$ , utóbbié több, mint  $70^\circ$ . Emiatt – hogy a vákuumban kapott szerkezettől megkülönböztessük – az oldószermodelles számítás során kapott szerkezetre **H’c** $\pm$  jelöléssel hivatkozunk a továbbiakban.

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

| Konformer <sup>a</sup> | $\omega$ | $\varphi$ | $\mu$              | $\psi$             | $\chi_1$ | $\Delta G_{298K}^o$ <sup>b</sup> | $p_i / \sum p_i$ <sup>c</sup> |
|------------------------|----------|-----------|--------------------|--------------------|----------|----------------------------------|-------------------------------|
| <b>Cc</b> –            | 3,2      | –88,1     | 170,4              | 133,9              | 33,9     | 0,0                              | 0,751                         |
| <b>Cc</b> +            | 0,5      | –70,7     | 179,5              | 129,3              | –19,9    | 5,5                              | 0,082                         |
| <b>Fc</b> –            | 3,7      | –103,2    | 68,7               | –117,8             | 37,3     | 7,6                              | 0,035                         |
| <b>Bt</b> –            | –177,2   | –74,5     | 129,4              | –60,9              | 31,6     | 7,8                              | 0,032                         |
| <b>At</b> +            | –177,6   | –62,7     | –48,1              | 111,8              | –24,4    | 7,9                              | 0,031                         |
| <b>At</b> –            | –174,7   | –71,9     | –56,6              | 108,9              | 25,4     | 8,3                              | 0,026                         |
| <b>Et</b> –            | –178,1   | –74,5     | –63,2              | –108,5             | 30,0     | 9,8                              | 0,014                         |
| <b>Gt</b> –            | –176,6   | –93,6     | 55,2               | 85,2               | 35,0     | 11,5                             | 0,007                         |
| <b>Dt</b> –            | –170,7   | –103,1    | 75,0               | 1,6                | 37,5     | 11,6                             | 0,007                         |
| <b>Fc</b> +            | 3,6      | –103,6    | 70,3               | –117,4             | 3,9      | 13,0                             | 0,004                         |
| <b>Jc</b> –            | 3,0      | –98,9     | 62,1               | 90,2               | 36,8     | 13,3                             | 0,004                         |
| <b>Bt</b> +            | –178,2   | –64,9     | 128,0              | –64,7              | –27,9    | 14,6                             | 0,002                         |
| <b>Kc</b> –            | 4,2      | –76,5     | –58,9              | –106,0             | 31,0     | 16,8                             | 0,001                         |
| <b>Gt</b> +            | –176,6   | –91,1     | 61,0               | 81,7               | –8,4     | 16,8                             | 0,001                         |
| <b>Dt</b> +            | –170,3   | –103,0    | 75,0               | 2,0                | –3,6     | 17,1                             | 0,001                         |
| <b>Kc</b> +            | 0,1      | –66,4     | –53,9              | –108,2             | –19,1    | 17,1                             | 0,001                         |
| <b>H’c</b> –           | 6,7      | –78,0     | –65,8              | 103,2 <sup>d</sup> | 28,8     | 17,2                             | 0,001                         |
| <b>H’c</b> +           | 2,9      | –70,4     | –45,3 <sup>d</sup> | 134,2 <sup>d</sup> | –19,0    | 18,5                             | 0,000                         |
| <b>Jc</b> +            | 3,5      | –89,7     | 69,6               | 83,8               | –7,3     | 18,9                             | 0,000                         |

<sup>a</sup> A torziós szögeket ( $\omega, \varphi, \mu, \psi, \chi_1$ ) fokban, a Gibbs-féle szabadentalpiákat ( $G_T^o$ ) kJ mol<sup>–1</sup> egységben adtam meg.

<sup>b</sup> **Cc**– konformerhez viszonyítva 0 K-en ( $G_{0K}^o = -612.440744$  E<sub>h</sub>).

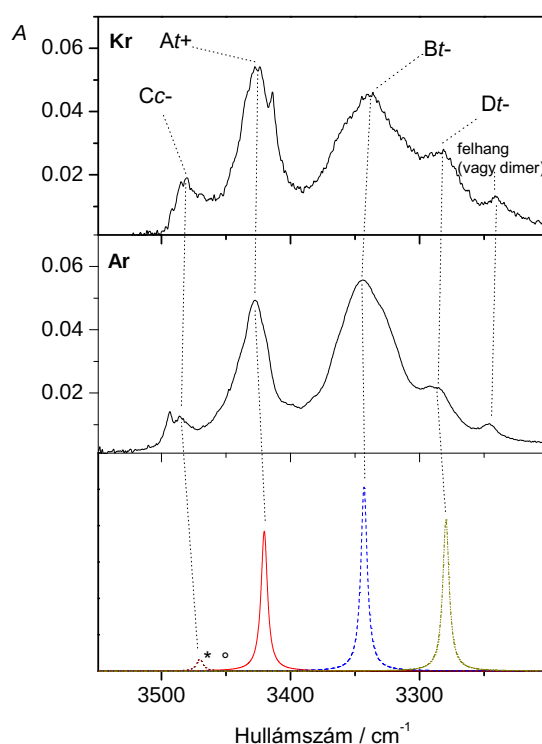
<sup>c</sup> A relatív gyakorisághoz ( $p_i / \sum p_i$ ) szükséges Boltzmann-faktorokat ( $p_i$ )  $\Delta G_{345K}^o$ -ból számoltam.

<sup>d</sup> A vákuumban számolttól jelentősen eltérő torziós szög.

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 **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 5.5. 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 (amely nagyjából 1%) található konformerek – **At** $\pm$ , **Bt** $-$ , **Et** $-$  – hasonló arányban fordulnak elő acetonnitrilben 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 oldószermodelles eredményeket, elmondható, hogy acetonnitrilben 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.



**5.3. ábra.** Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  számított IR spektruma (alul), illetve MI-IR spektruma Ar (középen) és Kr (felül) mátrixban az amid-A tartományban. A számított spektrumon a jelölések: At+ (piros vonal), Bt- (kék szaggatott vonal), Cc- (bordó pontozott vonal), Dt- (sárga kétpontvonal). Az Fc- és Gt- konformerek számított frekvenciáit csillaggal, illetve üres körrel jelöltem.

## 5.2.2. MI-IR és MI-VCD vizsgálatok

### 5.2.2.1. Amid-A tartomány

Az 5.3. ábrán az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe Ar és Kr mátrixban felvett MI-IR spektrumát, továbbá a hat legalacsonyabb energiájú konformer relatív gyakoriságukkal 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<sup>-1</sup>-nél (Ar, illetve Kr mátrixban) található csúcs a konformerek amid-A rezgéseinek egyikével sem egyeztethető össze. Ez a jel vagy hidrogénkötéses dimerek jelenlétére utal, vagy egy amid-II rezgés felhangja (valószínűleg az **At**+ konformeré). Utóbbit valószínűsíti a jel nagyságának reprodukálhatósága, hiszen a dimerek mennyisége a leválasztás körülményeinek megváltozásakor más és más lenne.

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

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

<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek kísérleti és számított spektumaiért, illetve ezek asszignációjáért l. [51] kiegészítő anyagának S2 és S3 táblázatát, valamint S1–S8 ábráit.

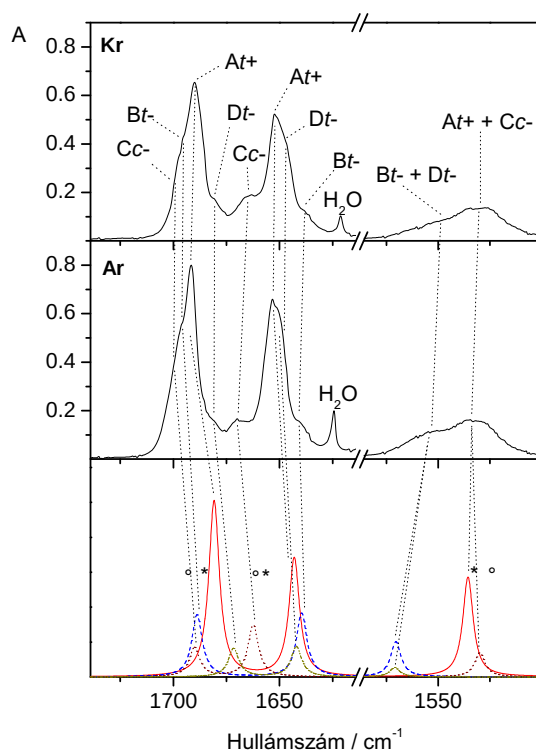
<sup>b</sup> üregfelhasadás

<sup>c</sup> váll

<sup>d</sup> széles sáv

Az 5.3. ábrán az is megfigyelhető, hogy vállak, illetve kis intenzitású csúcsok is megjelennek a tartományban 3494 és 3331  $\text{cm}^{-1}$ -nél (illetve Kr mátrixban 3414  $\text{cm}^{-1}$ -nél). Mivel ezek Ar és Kr mátrixban eltérő helyen jelennek meg, ezért valószínűbb, hogy üregfelhasadás 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 az elméleti spektrumok jó egyezést mutatnak a kísérleti eredményekkel, **Dt**– konformer számított relatív gyakorisága azonban kissé nagyobb a kísérleti úton kapott értékhez képest.



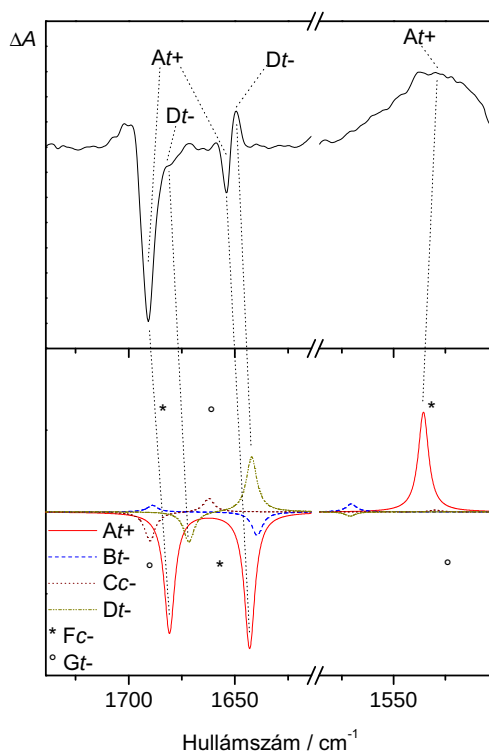
**5.4. ábra.** Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  számított IR (alul), illetve MI-IR spektruma Ar (középen) és Kr (felül) mátrixban az amid-I és -II tartományban. A számított spektrumon a következő konformereket ábrázoltam: **At**+ (piros vonal), **Bt**– (kék szaggatott vonal), **Cc**– (bordó pontozott vonal), **Dt**– (sárga kétpontvonal). Az **Fc**– és **Gt**– konformerek számított frekvenciáit csillaggal, illetve üres körrel jelöltem.

#### 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  $\text{cm}^{-1}$  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 nagyobb jel között – amelyek vállakkal rendelkeznek – egy kisebb intenzitású elnyelés is megjelenik. Előbbiek több jelle bonthatók fel, mint amennyi a legnagyobb relatív gyakoriságú konformerekhez tartozik, ami üregfelhasadás eredménye. Ezt a feltételezésünket alátámasztja az a megfigyelés is, 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 konformerektől, ezért ebben a tartományban IR vizsgálatokkal nem mutatható ki jelenlétük.



**5.5. ábra.** Az  $Ac\text{-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  számított VCD (alul), illetve MI-VCD spektruma Ar (felül) mátrixban az amid-I és -II tartományban. A számított spektrumon a következő konformereket ábrázoltam: **At**+ (piros vonal), **Bt**– (kék szaggatott vonal), **Cc**– (bordó pontozott vonal), **Dt**– (sárga kétpontvonal). Az **Fc**– és **Gt**– konformerek számított frekvenciáit csillaggal, illetve üres körrel jelöltem.

A vizsgált tartomány rotátorerősségeit és robusztusságait az 5.7. táblázatban foglaltam össze, ebből kitűnik, hogy az **At**+ mindhárom vizsgált rezgési módja intenzív és robusztus. A számított és kísérleti VCD spektrumok az 5.5. ábrán láthatók, amelyek jól egyeznek egymással, így Ar mátrixban az 1691 és 1654, illetve 1534  $\text{cm}^{-1}$ -nél

található jelek nagy bizonyossággal az **At**+ konformer jeleiként asszignálhatók, ami alátámasztja az MI-IR vizsgálatok eredményeit.

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

A VCD spektrum többi jele kisebb, előjelük és nagyságuk kevéssé reprodukálható, így asszignálásuk nem végezhető el. Ez összhangban van a számítások eredményeivel, miszerint **Bt**– és **Cc**– jelei az amid-I és -II, továbbá **Dt**– jelei az amid-II tartományban kicsik és nem robusztusak.

**5.7. táblázat.** Az *Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe* kísérleti és számított frekvenciái ( $\tilde{\nu}_{\text{kís}}$ , illetve  $\tilde{\nu}_{\text{szám}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), VCD rotátorerősségei ( $R_{\text{szám}}$ ,  $10^{-44}$  esu<sup>2</sup>  $\text{cm}^2$ -ben), továbbá a számított robusztuságok ( $\zeta_{\text{szám}}$ , ppm-ben) és az asszignált csúcsok előjelei ( $R_{\text{kís}}$ ).<sup>a</sup>

| konformer és<br>rezgési mód | $\tilde{\nu}_{\text{szám}}$ | $\tilde{\nu}_{\text{kís}}^{\text{b}}$ | $R_{\text{szám}}$ | $\zeta_{\text{szám}}^{\text{c}}$ | $R_{\text{kís}}$ |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------------------|------------------|
| <b>At</b> + $\nu_{17}$      | 1681                        | 1691                                  | -64               | -8,0                             | –                |
| <b>At</b> + $\nu_{18}$      | 1643                        | 1654                                  | -74               | -13,3                            | –                |
| <b>At</b> + $\nu_{19}$      | 1536                        | 1534 <sup>d</sup>                     | +58               | 11,6                             | +                |
| <b>At</b> – $\nu_{17}$      | 1682                        |                                       | -75               | -9,8                             |                  |
| <b>At</b> – $\nu_{18}$      | 1646                        |                                       | -81               | -14,3                            |                  |
| <b>At</b> – $\nu_{19}$      | 1534                        |                                       | +57               | 11,4                             |                  |
| <b>Bt</b> – $\nu_{17}$      | 1689                        | (1696) <sup>e</sup>                   | +10               | 1,2                              |                  |
| <b>Bt</b> – $\nu_{18}$      | 1640                        | (1640) <sup>e</sup>                   | -38               | -4,3                             |                  |
| <b>Bt</b> – $\nu_{19}$      | 1570                        | (1553) <sup>e</sup>                   | +13               | 2,6                              |                  |
| <b>Cc</b> – $\nu_{17}$      | 1690                        | (1700) <sup>e</sup>                   | -65               | -11,6                            |                  |
| <b>Cc</b> – $\nu_{18}$      | 1662                        | (1669) <sup>e</sup>                   | +32               | 3,1                              |                  |
| <b>Cc</b> – $\nu_{19}$      | 1530                        | (1634) <sup>e</sup>                   | +5                | 0,9                              |                  |
| <b>Dt</b> – $\nu_{17}$      | 1672                        | 1681                                  | -111              | -12,6                            | –                |
| <b>Dt</b> – $\nu_{18}$      | 1642                        | 1649                                  | +203              | 21,1                             | +                |
| <b>Dt</b> – $\nu_{19}$      | 1571                        | (1553) <sup>e</sup>                   | -17               | -5,5                             |                  |

<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek kísérleti és számított spektumaiért, illetve ezek asszignációjáért l. [51] kiegészítő anyagának S2 és S3 táblázatát, valamint S1–S8 ábráit.

<sup>b</sup> Ar mátrixban

<sup>c</sup> ppm-ben, a  $\approx 10$  alatti értékek nem robusztus jelnek felelnek meg

<sup>d</sup> széles sáv

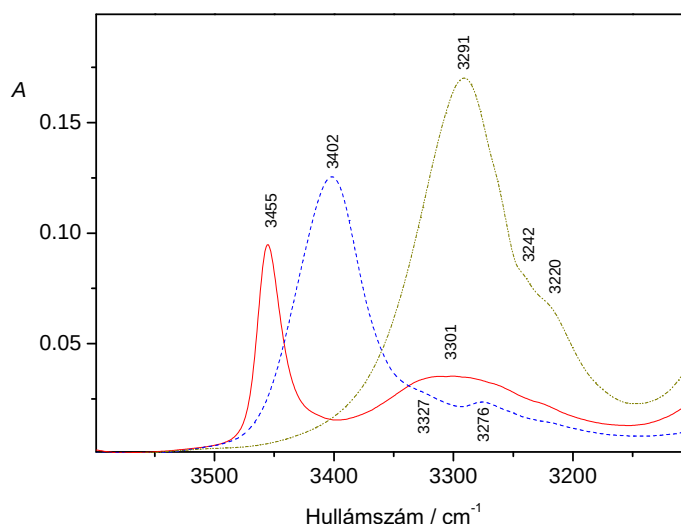
<sup>e</sup> Csak MI-IR-ben detektálható jel.

### 5.2.2.3. Egyéb rezgési tartományok

Az MI-IR és MI-VCD spektrumok többi tartománya jó egyezést mutat az **At**+, **Bt**–, **Cc**– és **Dt**– jeleit tartalmazó számított spektrummal. A legnagyobb csúcsok könnyedén asszignálhatók – mint amilyenek az **At**+ és **Bt**– konformerekhez tartozóak – de vannak egyéb, jellegzetes hullámszámoknál levő sávok, amelyek a számítások alapján kizárólag **Cc**–, illetve **Dt**– jelei lehetnek (előbbinél ilyen a 888, illetve 887, utóbbinál a 754, illetve 753  $\text{cm}^{-1}$ -nél található elnyelés is Ar, illetve Kr mátrixban). A három legalacsonyabb energiájú konformer kísérleti úton kapott relatív gyakoriságai összhangban vannak a számított eredményekkel, a kivételt **Dt**– jelenti, amelynél az elméleti érték kissé magasabb a kísérleti úton kapottnál. Ennek két oka lehet: vagy a konformer relatív gyakoriságát vagy az infravörös jeleinek nagyságát becsli felül a számítási módszer. Előbbit alátámasztja, hogy az összes, konformerre specifikus jelnél felülbecsli a számítás a kísérletileg kapott jelerősségeket. A többi, magasabb energiájú konformer jeleit egyik vizsgált tartományban sem sikerült egyértelműen azonosítani. A rezgési tartomány egyéb részeinek számított rezgési frekvenciáiért, IR intenzitásaiért és rotátorerősségeiért, illetve kísérleti IR és VCD spektrumaiért és ezek asszignációjáért l. [51] kiegészítő anyagának S2 és S3 táblázatát, valamint S1–S8 ábráit.

## 5.2.3. Oldatfázisú vizsgálatok

### 5.2.3.1. Amid-A tartomány



**5.6. ábra.** Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  IR spektruma DCM (piros vonal),  $\text{ACN-d}_3$  (kék szaggatott vonal) és  $\text{DMSO-d}_6$  (sárga kétpontvonal) oldószerben az amid-A tartományban.



Az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe DCM, ACN- $d_3$ , illetve DMSO- $d_6$  oldószerben készült IR spektrumát az 5.6. ábrán tüntettem fel. Ezekből a diklór-metán a legkevésbé poláris, azaz ennek az oldószernek a leggyengébb a kölcsönhatása a vizsgált molekulával. Ennek következményeként az amid-A tartomány ebben az esetben nagyjából hasonló helyen található, mint a mátrixizolációs módszerrel felvett IR spektrumban. Néhány nyilvánvaló különbséget azonban felfedezhetünk: legfontosabb ezek közül a **Cc**- 3455  $\text{cm}^{-1}$ -nél található csúcsa, amely sokkal nagyobb oldószerben, mint nemesgáz mátrixban. Ez összhangban van azzal a számítások során kapott eredménnyel, miszerint oldószerben az N-terminális *cisz* szerkezetek stabilizálódnak, így relatív gyakoriságuk nagymértékben megnő (l. 5.2.1. fejezet). Ezt a jelet kisebb hullámszámok felé haladva egy széles, közepes nagyságú elnyelés követi, amelynek maximuma 3301  $\text{cm}^{-1}$ -nél van. Ez legnagyobb valószínűséggel a **Bt**- konformer jele lehet, amely a második legnagyobb relatív gyakorisággal fordul elő DCM oldószerben 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, ami az N-H csoport oldószerrel történő kölcsönhatásának erősödésére utal. Ez a leglátványosabban **Cc**- jelenél figyelhető meg, amelyben nincs intramolekuláris hidrogénkötés, így a változás ennél a konformernél a legnagyobb: a sáv maximuma 3402, illetve 3291  $\text{cm}^{-1}$ -nél van oldószertől függően (-53, illetve -164  $\text{cm}^{-1}$  az eltolódás mértéke a DCM-ben mérthez képest). Ez az intramolekuláris hidrogénkötést tartalmazó *transz* konformereknél sokkal kisebb – és az elnyelések nagysága eleve kisebb – így jeleik beleolvadnak a **Cc**- sávjába, annak kisebb hullámszámú oldalán vállként megjelenve.

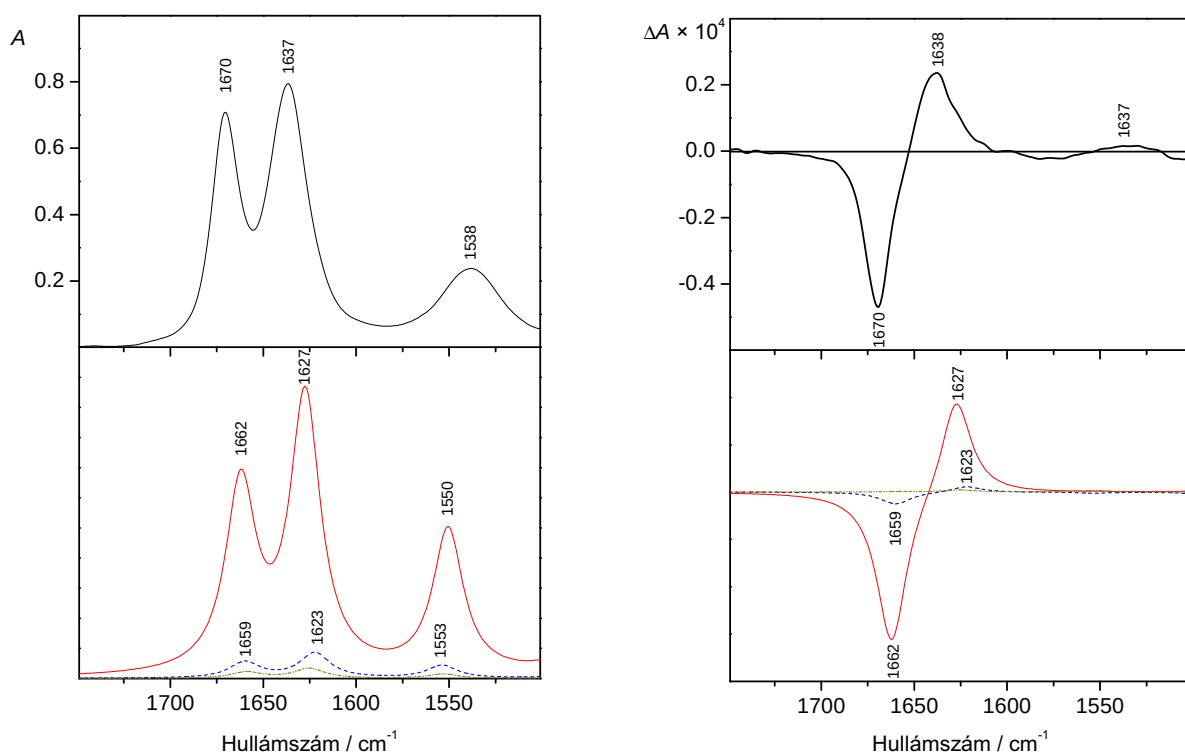
Érdemes megjegyezni, hogy az oldószermodelles spektrumszámítások nem adnak jó eredményt, mivel ez alapján a *cisz* szerkezetek (**Cc**-) amid-A rezgése alacsonyabb frekvenciájú, mint a *transz* konformereké. Ez ellentétes a kísérletileg kapott eredményekkel – és azzal, amit várunk, hiszen utóbbiakban intramolekuláris hidrogénkötések vannak, amelyek az amid-A rezgés 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- $d_3$ , DMSO- $d_6$  és DCM oldószerekben mérve. Ezeket és a legalacsonyabb energiájú konformerek különböző oldószerekre számított spektrumát összegeztem az 5.7., az 5.8. és az 5.9. ábrán.

ACN- $d_3$  oldószerben mérve 1670 és 1637  $\text{cm}^{-1}$ -nél található két csúcs, amelyek a C- és N-terminálisok amid-I rezgéseinek felelnek meg. A C-terminális amid-II rezgésének közepes nagyságú elnyelése 1538  $\text{cm}^{-1}$ -nél van. A VCD spektrumban az amid-I rezgések

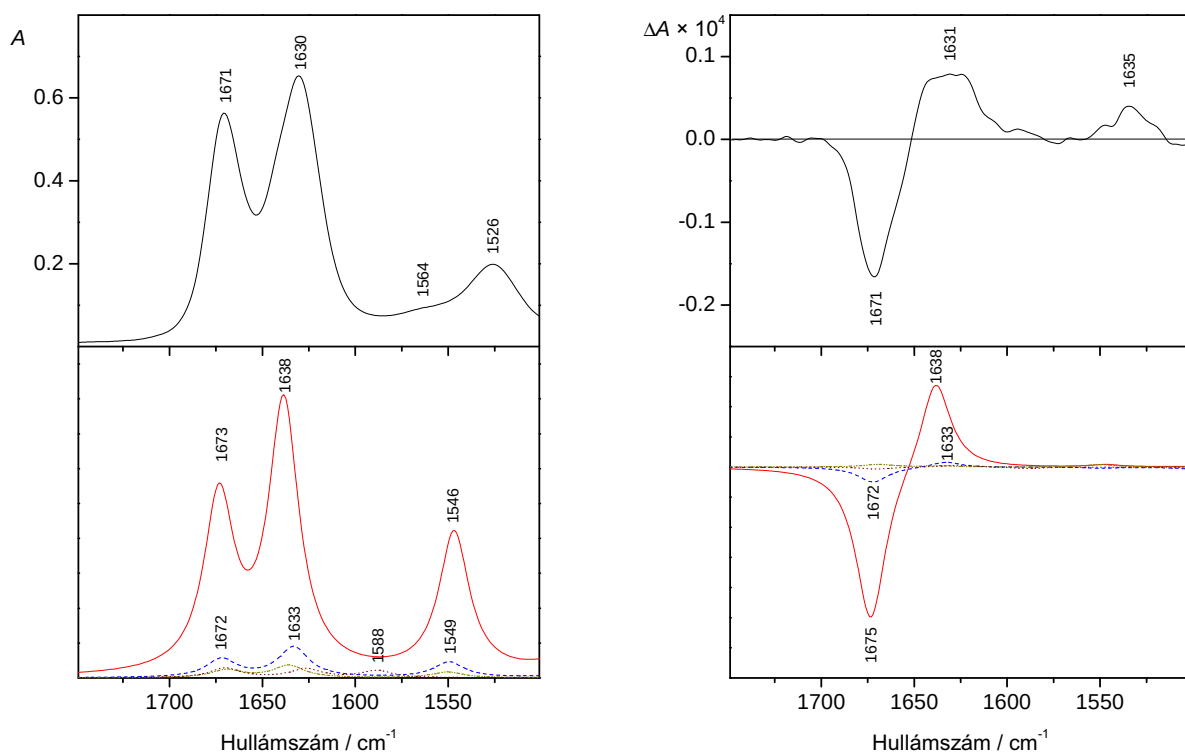
csúcsai 1670, illetve 1638  $\text{cm}^{-1}$ -nél jelennek meg, előbbi negatív, utóbbi pozitív előjelű. Felfedezhető az amid-II nagyon gyenge és széles jele is 1537  $\text{cm}^{-1}$ -nél. A legnagyobb relatív gyakoriságú (**Cc**–) konformer számított IR és VCD spektruma jó egyezést mutat – mind a frekvenciákat, mind a jelerősségeket tekintve – ezekkel a kísérleti eredményekkel. A többi konformer, amelyeknek jeleit még detektálhatnánk, túl közel vannak **Cc**– elnyeléseéhez, ezért átfednek vele. Egyetlen olyan sáv van, amelyet a számítási eredmények alapján nem tudunk értelmezni, mégpedig egy kis intenzitású pozitív sáv az amid-II tartományban. Az 1%-nál nagyobb relatív gyakoriságú 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.



**5.7. ábra.** Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  IR (bal oldal) és VCD (jobb oldal) spektruma  $\text{ACN-d}_3$  oldószerben az amid-I és -II tartományban. Alul a számított, felül a kísérleti spektrum található. A számított spektrumon a következő konformereket jelöltem: **Cc**– (piros vonal), **Cc**+ (kék szaggatott vonal) és **Fc**– (sárga kétpontvonal).

DMSO- $d_6$  oldószerben mért spektrumok hasonlóak, azzal az eltéréssel, hogy a sávok az amid-I tartományban vörös- (1664, illetve 1634  $\text{cm}^{-1}$ , azaz  $-6$ , illetve  $-4$   $\text{cm}^{-1}$ ), az

amid-II-ben kéeltolódást ( $1556\text{ cm}^{-1}$ , azaz  $+19\text{ cm}^{-1}$ ) mutatnak az acetonitrilben mértékhez képest, ami az erősebb szolvatáció eredménye. Az amid-II sáv ennek következtében annyira kiszélesedik, hogy a VCD jelek erőssége gyakorlatilag 0 lesz. A **Cc**- konformer számított IR és VCD spektruma remekül egyezik a kísérleti eredményekkel, a többi konformer jeleit viszont nem lehet azonosítani.

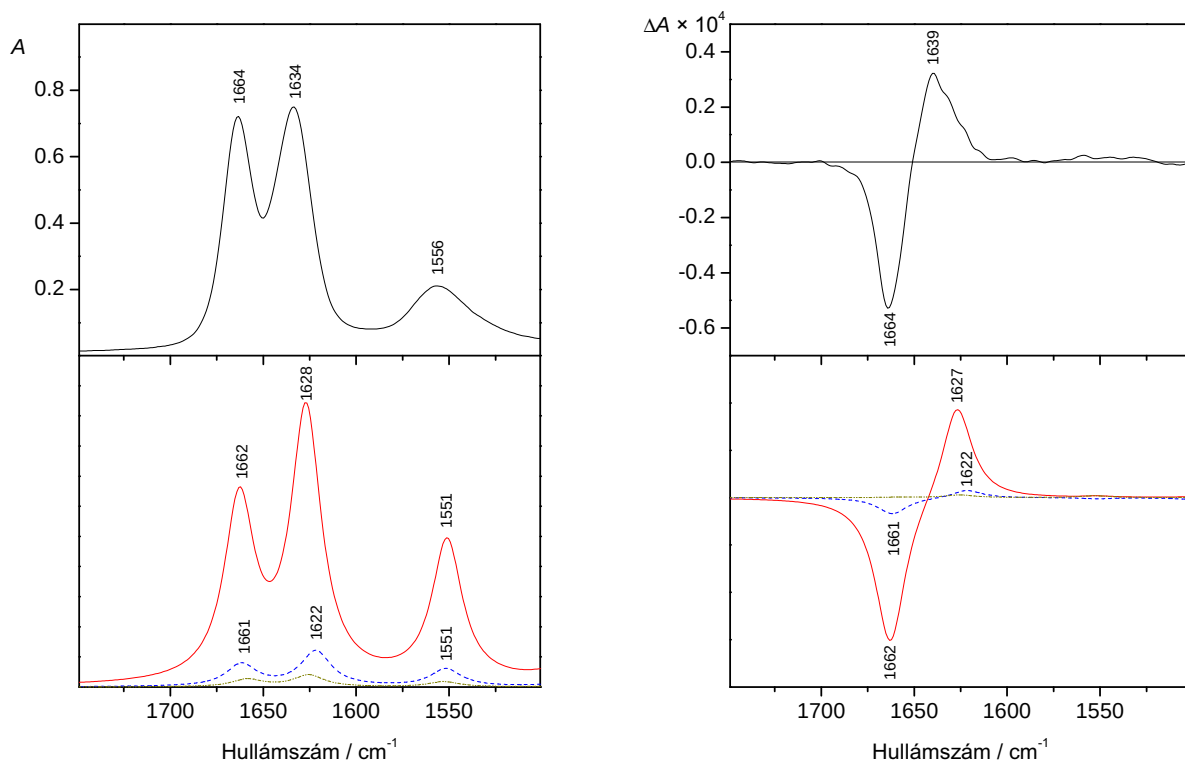


**5.8. ábra.** Az  $\text{Ac-}\beta^3\text{-HPro-NHMe}$  IR (bal oldal) és VCD spektruma (jobb oldal) DCM oldószerben az amid-I és -II tartományban. Alul a számított, felül a kísérleti spektrum található. A számított spektrumon a következő konformereket jelöltem: **Cc**- (piros vonal), **Cc**+ (kék szaggatott vonal), **Fc**- (sárga kétpontvonal) és **Bt**- (bordó pontozott vonal).

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 nagysága általában csökken, emiatt a VCD spektrumban az amid-I de főleg az amid-II jelek azonosítása nehezebb. Az IR spektrumban az  $1526\text{ cm}^{-1}$ -nél található nagy intenzitású csúcs mellett megjelenik  $1564\text{ cm}^{-1}$ -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 a tény, hogy ez az egyetlen konformer, amelynek amid-II jele ennyire elválik a többiétől (számított

frekvencia  $1588\text{ cm}^{-1}$ ), továbbá ebben legerősebb az intramolekuláris hidrogénkötés (N–H ... O=C kötéshossz  $1,97\text{ Å}$ ). Másfelől a többi oldószerben már az **At**+ jeleként (relatív gyakorisága oldószermodellel  $3,2\%$ ) asszignált  $1536\text{ cm}^{-1}$ -nél található pozitív előjelű VCD sáv a legnagyobb 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 oldószerben 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 ( $\text{DMSO-}d_6 < \text{ACN-}d_3 < \text{DCM}$ ), 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.



**5.9. ábra.** Az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe IR (bal oldal) és VCD spektruma (jobb oldal) DMSO- $d_6$  oldószerben az amid-I és -II tartományban. Alul a számított, felül a kísérleti spektrum található. A számított spektrumon a következő konformereket jelöltem: Cc– (piros vonal), Cc+ (kék szaggatott vonal) és Fc– (sárga kétpontvonal).

### 5.3. Összefoglalás

A fejezetben az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe MI-IR és -VCD, illetve oldatfázisú spektroszkópiás vizsgálatát ismertettem. A kísérleteket kiegészítették a spektrumok kvantumkémiai számításai, illetve a számított VCD jelek robusztusságának vizsgálata is. Az eredményeket összegezve kijelenthető, hogy mind nemesgáz mátrixban, mind oldatfázisban a molekulának többféle konformere fordul elő.

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  $\alpha$ -aminosavak esetén általában tapasztalható, aminek oka az egy szénatommal hosszabb peptidlánc, 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. Az oldószerhatás karbonsavak esetén is jelentős lehet: jó péla erre a következő fejezetben tárgyalt klórpropionsav molekula.

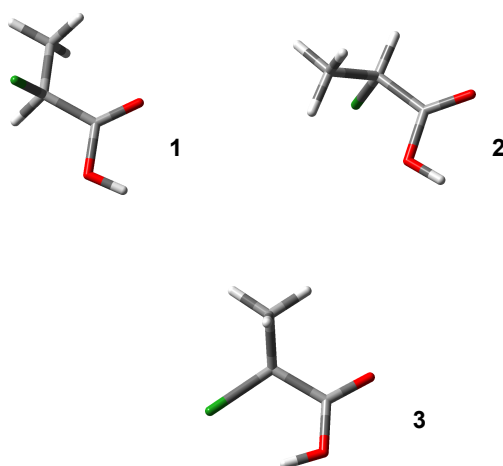
További fontos megállapítás az, hogy míg az  $\alpha$ -prolin a  $\gamma$ -kanyarok kialakításában nagy szerepet vállal, úgy a  $\beta^3$ -HPro egység kevésbé vesz részt a pszeudo- $\gamma$ -kanyar kialakításában, viszont szintetikus  $\beta$ -peptidek *cisz* szerkezetű építőegysége lehetne.

A jelek robusztusságának vizsgálata szempontjából a legfontosabb eredmény az, hogy a  $\beta^3$ -HPro egység konformációs tulajdonságainak feltérképezésekor is megerősítést nyert a következő feltételezés: amikor számítások segítségével kívánjuk a kísérletileg kapott VCD spektrumot értelmezni – főleg flexibilis molekulák esetén –, nem elég pusztán a rotátorerősségeket figyelembe venni, hanem szükséges azok robusztusságának vizsgálata is, továbbá az oldószerhatást is megfelelően figyelembe kell vennünk. Érdemes megjegyezni, hogy – bár az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe molekulánál az 5.7. táblázat alapján ez a helyzet – a számított és kísérleti VCD előjelek nem feltétlenül egyeznek meg minden esetben (ez az eset áll fenn a következő fejezetben vizsgált klórpropionsav molekulánál is).

## 6. fejezet

# A 2-klórpropionsav szerkezete és VCD jeleinek robusztussága

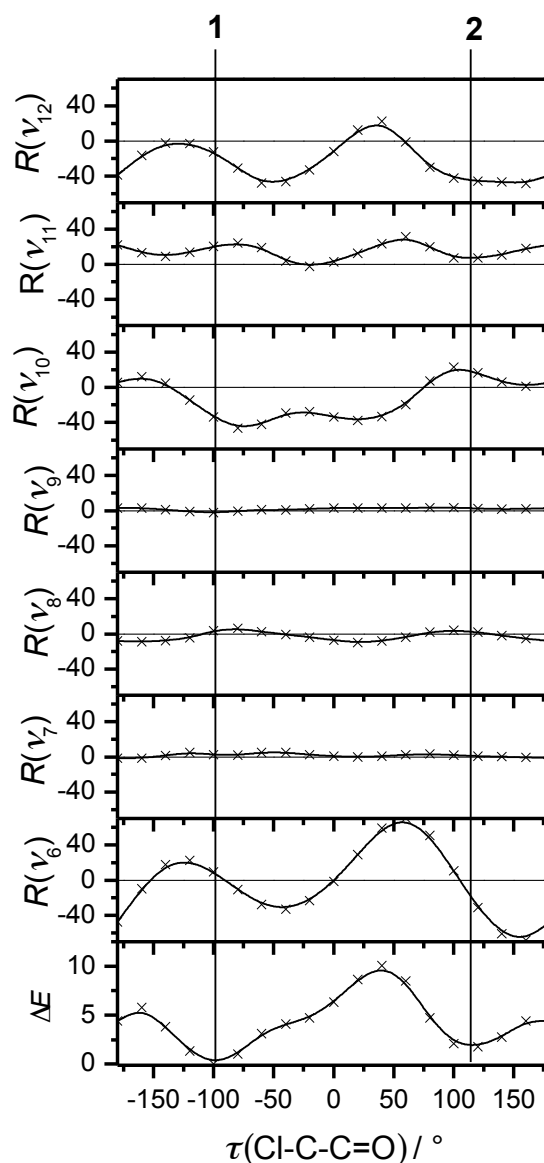
### 6.1. Bevezetés



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

Az  $\alpha$ - és  $\beta$ -peptidmodellek vizsgálatánál már beláttuk (l. 4., illetve 5. fejezet), hogy a molekula konformációja nagymértékben befolyásolja annak számított VCD spektrumát. A robusztusság tárgyalásánál is szó volt arról, hogy a konformáció mellett az oldószermolekulák jelenléte, illetve komplexek kialakulása is hasonló változást eredményez (l. 2.1.2. 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) [5, 39, 47–52], előbbi gyakran oldószermodellek használatával lehetséges. Ilyen – az oldószermolekulákat nem tartalmazó, hatásukat implicit módon figyelembe vevő – a már említett PCM (2.2.4.2. fejezet) [78] vagy conductor-like screening (COSMO) [172] 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 [173].



**6.2. ábra.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav  $\nu_6 - \nu_{12}$  rezgési módok rotátorerősségeinek változása a Cl-C-C=O diéderes szög függvényében B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten. A többi geometriai paramétert optimalizáltam. A rotátorerősségek ( $R$ )  $10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>-ben, az energiakülönbségek ( $\Delta E$ ) kJ mol<sup>-1</sup>-ban vannak megadva. A számított adatokat l. [52] kiegészítő anyagában.

A hidrogénkötést tartalmazó komplexek VCD spektrumra gyakorolt hatásának jelentőségét számos publikáció bizonyítja: 0,1–0,2 mol dm<sup>-3</sup> koncentrációjú oldatban  $\beta$ -laktámok [174], (S)-2-fenil-propionsav [175],  $\alpha$ -ariloxilpropánsav [176], tetrahydrofuran-2-karbonsav [177] és (S)-(-)-kamfánsav [178] esetén dimerek, (S)-2,2'-dimetil-bifenil-6,6'-dikarbonsav [179] 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 [180,181], metil-laktát–víz [182] és modellpeptid–víz komplexek [50] –, mind gyenge – mint amilyen a kámfor·CDCl<sub>3</sub> és az (*R*)-(+)-pulegon·CHCl<sub>3</sub> [183] – hidrogénkötéses rendszereknél kimutatható. Ezekről Sadlej és munkatársai egy összefoglaló munkát is publikáltak [184]. A fejezetben a 2-klórpropionsav molekulán mutatom be a hidrogénkötéses komplexek képződésének VCD spektrumra gyakorolt hatását [52].

## 6.2. Eredmények

### 6.2.1. Az (*S*)-(-)-2-klórpropionsav monomer

#### 6.2.1.1. Számítási eredmények

A 6.1. ábrán láthatók a geometria optimalizálása után kapott szerkezetek (az egyes monomerek, dimerek és a CHCl<sub>3</sub> komplexek, továbbá az oldószermodelles számítások során kapott szerkezetek Descartes-koordinátáit l. [52] kiegészítő anyagában). Mind B3LYP/6-31++G\*\*, mind B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten három minimum létezik, ebből kettő *transz* – amelyek csak a Cl–C–C=O torziós szögben különböznek – egy pedig *cisz* karbonsav. Előbbiek relatív aránya 298 K hőmérsékleten aug-cc-pVTZ elméleti szinten 59, illetve 35%, utóbbié 6% körül van, és ezek magasabbak, mint más karbonsavaknál (a magasabb energiájúak relatív szabadentalpiája 1,3, illetve 5,4 kJ mol<sup>-1</sup>) [185]. Ennek oka az O–H hidrogénje és a Cl atom között kialakuló gyenge H-kötés.

A 6.1. táblázatban található az (*S*)-(-)-2-klórpropionsavra a B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten számított rezgési frekvenciák, IR jelerősségek, rotátorerősségek és az egyes rezgési módok robusztusságai, a kísérlet során vizsgált spektrális tartományban (1900–1200 cm<sup>-1</sup>). Érdemes megjegyezni, hogy esetünkben – és ez általában is igaz – a karbonil nyújtási rezgés rotátorerőssége – ellentétben az IR jelével – 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 dipólusmomentummal (amely elég nagy érték, ami miatt az IR elnyelés naggyá válik) 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



**6.1. táblázat.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav monomer konformereinek IR frekvenciái ( $\tilde{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), IR intenzitásai ( $I$ ,  $\text{km mol}^{-1}$ -ben), rotátor-erősségei ( $R$ ,  $10^{-44} \text{ esu}^2 \text{ cm}^2$ -ben) és robusztusságuk ( $\zeta$ , ppm-ben) az 1200–1900  $\text{cm}^{-1}$  spektrális tartományban SQM B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten.<sup>a</sup>

| rezgési mód | konformer 1   |     |     |         | konformer 2   |     |     |         | konformer 3   |     |     |         |
|-------------|---------------|-----|-----|---------|---------------|-----|-----|---------|---------------|-----|-----|---------|
|             | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ |
| $\nu_{12}$  | 1224,5        | 21  | -11 | -16,1   | 1242,7        | 22  | -48 | -68,5   | 1226,4        | 28  | -11 | -11,5   |
| $\nu_{11}$  | 1288,5        | 4   | 19  | 163,0   | 1317,1        | 2   | 5   | 87,3    | 1292,0        | 11  | -10 | -28,2   |
| $\nu_{10}$  | 1372,8        | 46  | -35 | -25,9   | 1339,2        | 39  | 20  | 17,3    | 1330,8        | 365 | 14  | 1,2     |
| $\nu_9$     | 1389,0        | 6   | -3  | -16,8   | 1386,8        | 6   | 3   | 13,9    | 1380,8        | 16  | 6   | 12,1    |
| $\nu_8$     | 1449,7        | 9   | 5   | 20,3    | 1451,4        | 13  | 4   | 11,3    | 1454,0        | 15  | -10 | -23,8   |
| $\nu_7$     | 1453,7        | 7   | 1   | 4,3     | 1459,7        | 5   | 0   | 2,6     | 1460,5        | 3   | 0   | -3,9    |
| $\nu_6$     | 1766,1        | 288 | 8   | 1,2     | 1758,9        | 330 | -17 | -2,2    | 1776,9        | 286 | -69 | -10,7   |

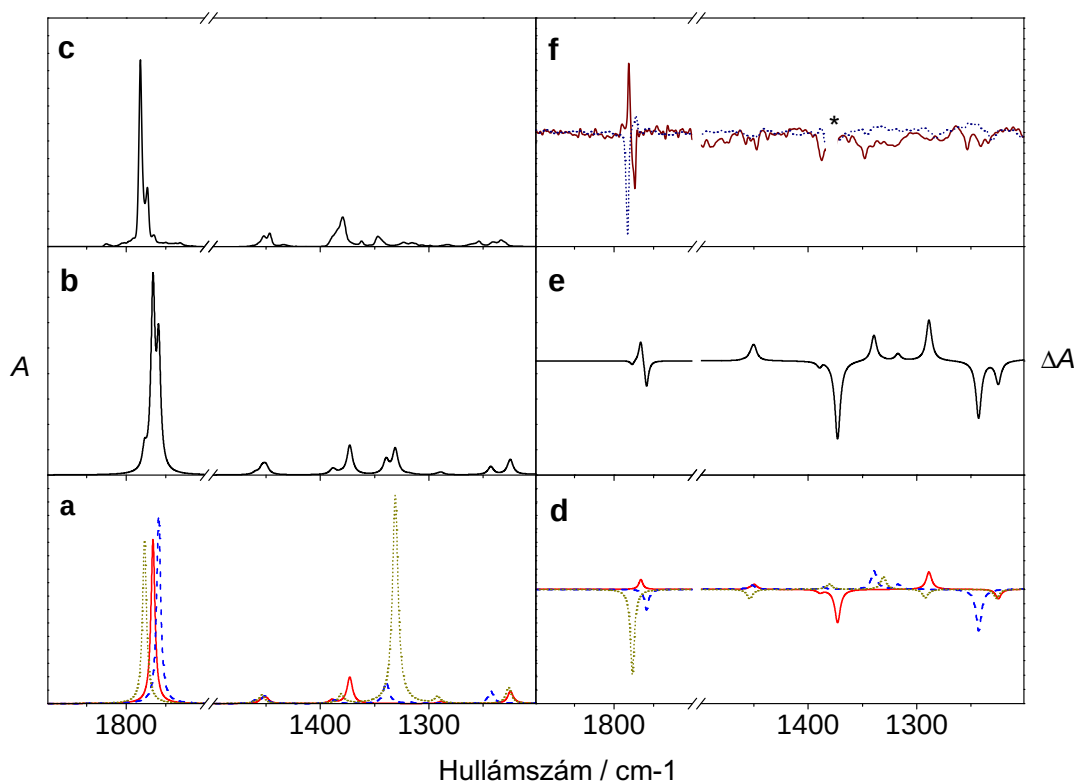
<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek kísérleti és számított spektumaiért, illetve ezek asszignációjáért l. [52] kiegészítő anyagát.

rotátorerősségek nagyfokú érzékenységet mutatnak a molekulaszervezet megváltozására (l. 4. fejezet), így ennek a torziós szögnek a változása is befolyásolja a számított VCD rotátorerősségeket. Ezt az állítást bizonyítják a 6.2. ábrán összefoglalt eredmények is, amin a számított rotátorerősség függését ábrázoltam a Cl–C–C=O torziós szögtől az 1900–1200 cm<sup>-1</sup> spektrális tartományban található rezgési módokra. A számítások során részleges geometriai optimalizálást hajtottam végre, azaz a Cl–C–C=O torziós szög fixen maradt, és csak a molekula többi részének geometriáját optimalizáltam. Az így kapott konformerek 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 nyújtási rezgésének ( $\nu_6$ ) számított VCD jelei erősen fluktuálnak, de az energiaminimumok környékén nulla közeli értékeket vesz fel. A  $\nu_7$ ,  $\nu_8$ ,  $\nu_9$  (H–C–H deformációs rezgések) – rezgési módok rotátorerőssége közel nulla minden szögre.  $\nu_{10}$ ,  $\nu_{11}$ ,  $\nu_{12}$  módok azok, amelyek számított VCD rotátorerősségek 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, ami a geometriáját megváltoztathatja – így a rotátorerősség nagyságát, de akár annak előjelét is.

#### 6.2.1.2. Monomerek IR spektruma

A 6.3. ábrán látható az (*S*)-(–)- és (*R*)-(+)–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. Ezt bizonyítja az is, hogy ha a mátrixot felmelegítjük, akkor dimerek képződnek és a hozzá tartozó jelek megnőnek, míg a monomerek jelei lecsökkennek, illetve eltűnnek (6.4. ábra). Ez történik a monomer 1782 és 1774 cm<sup>-1</sup>-nél található karbonil rezgéseivel is, amelyek a két *transz* klórpropionsav konformerhez tartoznak. A hőkezelés során egy széles elnyelési sáv jelenik meg, amelyből két csúcs emelkedik ki 1752 és 1732 cm<sup>-1</sup>-nél, ezek a klórpropionsav dimerek szimmetrikus és antiszimmetrikus karbonil nyújtási rezgései. A monomerek és dimerek karbonil rezgései közti frekvenciakülönbség jól egyezik azok számított eltéréseivel. 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 legnagyobb intenzitású jelei is megjelennek a spektrumban, azaz a C=O és az O–H nyújtási rezgés 1791 cm<sup>-1</sup>-nél és utóbbi (üregfelhasadás miatt) 3497, illetve 3491 cm<sup>-1</sup>-nél.

### 6.2.1.3. Monomerek VCD spektruma

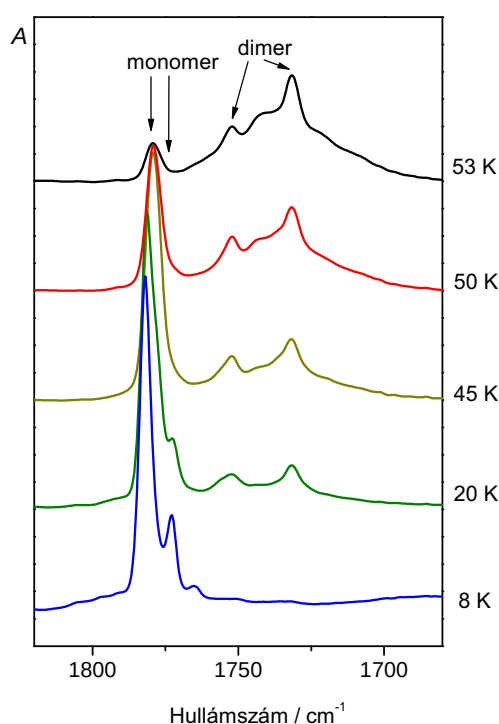


**6.3. ábra.** a) A 2-klórpropionsav monomerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) IR spektruma. 1: piros vonal, 2: kék szaggatott vonal, 3: sárga pontozott vonal. b) A konformerek relatív gyakoriságukkal súlyozott kompozit IR spektruma. c) 2-klórpropionsav IR spektruma Ar mátrixban 8 K hőmérsékleten. d) Az (S)-(-)-2-klórpropionsav konformerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) VCD spektruma. 1: piros vonal, 2: kék szaggatott vonal, 3: sárga pontozott vonal. e) A konformerek relatív gyakoriságával súlyozott kompozit VCD spektrum. f) Az (S)-(-)- (bordó vonal) és (R)-(+)-2-klórpropionsav (sötétkék pontozott vonal) kísérleti VCD spektruma Ar mátrixban 8 K hőmérsékleten. Az alapvonal nem tökéletes korrekcióként visszamaradt és törölt sávot csillaggal jelöltem.

Annak érdekében, hogy a számításokat – amelyeket az *S* enantiomerre végeztem el – a kísérleti eredményekkel össze lehessen vetni, mind az (S)-(-)-, mind az (R)-(+)-2-klórpropionsav MI-VCD spektrumát felvettem (6.3. ábra), melyek egymásnak – az elmélettel összhangban – tükörképei, bár nem tökéletesen azok. Ennek oka vagy a nem tökéletes alapvonal-korrekció, vagy optikailag szennyező anyag jelenléte a mintákban. Utóbbi feltételezést alátámasztja, hogy az *R* enantiomert tartalmazó üvegben idővel láthatóan szennyezés jelent meg, amelyet 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 jelerősségei kicsik.

Összefoglalva kijelenthető, hogy a VCD spektrum vizsgált tartományában az esetek többségében gyenge, nem robusztus jelek vannak. Ezek segítségével a vizsgált molekula szerkezete csak nagy körültekintés mellett határozható meg. Egyedül a C=O nyújtási rezgés jele nagy intenzitású, viszont a számítások alapján ez sem robusztus rezgési mód. Ezt a jelenséget nem csak a karbonsavaknál, hanem ketonoknál [83], illetve amidoknál [51] (továbbá l. 4. fejezet) is megfigyelték, oka általában az, hogy a karbonilcsoport távol van a kiralitáscentrumtól így nem csatolódik azokkal azokkal a rezgési módokkal, amelyekben annak rezgése részt vesz.



**6.4. ábra.** A C=O nyújtási tartomány ( $1675\text{--}1815\text{ cm}^{-1}$ ) MI-IR spektruma a 2-klóropionsav dimerek keletkezésekor, a mátrix hőkezelése során.

Annak ellenére, hogy a karbonil nyújtási rezgések nem számítanak robusztusnak, a számított és kísérletileg kapott előjelek megegyeznek, és a jelek erőssége is hasonló, így a két VCD spektrum jól egyezik (6.3. ábra). Az **1** konformer számított jele  $1759\text{ cm}^{-1}$ -nél, a mért  $1774\text{ cm}^{-1}$ -nél, a **2** konformeré  $1766\text{ cm}^{-1}$ -nél, illetve  $1782\text{ cm}^{-1}$ -nél található, azaz a két konformer jelei közt kísérletileg mérhető frekvenciaeltérést a számítás jól reprodukálja. Így levonható az a következtetés, miszerint a használt elméleti szint (B3LYP/aug-cc-pVTZ) kielégítően modellezi a problémát. Az  $1500\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$  közötti spektrális tartományban a kísérleti úton kapott VCD spektrumban kicsi, nehezen reprodukálható jelek vannak, amik jól magyarázhatók azzal, hogy a számított

spektrumban az ebbe a tartományba eső rezgési módok ( $\nu_7$ ,  $\nu_8$ ,  $\nu_9$ ) rotátorerőssége kicsi. Ugyanez igaz – a számításokkal ellentétben –  $\nu_{10}$ ,  $\nu_{11}$  és  $\nu_{12}$  módok rezgéseire is. Ennek oka, hogy ezek jelek kiszélesednek, így kevésbé láthatók a spektrumban. Mivel ezek a rezgések többek között a klóratomhoz köthetők ( $\nu_{12}$  a H- $\alpha$ -C-Cl, míg  $\nu_{10}$ , és  $\nu_{11}$  a C- $\alpha$ -C-H, illetve C-O-H hajlítási rezgéséhez, a PED analízist lásd [45]), ezért a kiszéledés oka lehet a Cl atom kölcsönhatása a mátrixszal, illetve izotópeffektus ( $^{35}\text{Cl}$ , illetve  $^{37}\text{Cl}$  egymástól kissé eltérő frekvenciái). További ok lehet az üregfelhasadás, illetve hogy ezeknek a rezgéseknek az IR jelének nagysága sokkal kisebb a karbonilcsoport jelenél, így ezeknek a módoknak a VCD jel/zaj viszonya rosszabb lesz. Ez utóbbin lehet javítani, ha a minta leválasztása tovább tart, így ezeknek a jeleknek is elegendően nagy lesz az IR jelerőssége. Azonban a minta hosszabb ideig tartó leválasztásakor a mátrix olyan vastaggá vált, hogy nagyfokú fényszórása miatt a VCD spektrumot nem lehetett felvenni.

**6.2. táblázat.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav monomer MI-IR és MI-VCD spektrum 1900 – 1200  $\text{cm}^{-1}$  tartományának asszignációja.<sup>a</sup>

| konformer | rezgési mód | $\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$ |                         | VCD előjel |                   |
|-----------|-------------|--------------------------------|-------------------------|------------|-------------------|
|           |             | szám.                          | kís.                    | szám.      | kís.              |
| <b>3</b>  | $\nu_6$     | 1778                           | 1791                    | –          | nem látható       |
| <b>1</b>  | $\nu_6$     | 1766                           | 1782                    | +          | +                 |
| <b>2</b>  | $\nu_6$     | 1759                           | 1773                    | –          | –                 |
| <b>2</b>  | $\nu_7$     | 1460                           | 1457                    | 0          | nem látható       |
| <b>1</b>  | $\nu_7$     | 1454                           | 1453                    | +          | -(?) <sup>c</sup> |
| <b>2</b>  | $\nu_8$     | 1451                           | 1451 <sup>b</sup>       | +          | -(?) <sup>c</sup> |
| <b>1</b>  | $\nu_8$     | 1450                           | 1447                    | +          | -(?) <sup>c</sup> |
| <b>1</b>  | $\nu_9$     | 1389                           | 1388                    | –          | –                 |
| <b>2</b>  | $\nu_9$     | 1387                           | 1385                    | +          | nem látható       |
| <b>1</b>  | $\nu_{10}$  | 1373                           | 1380                    | –          | –                 |
| <b>2</b>  | $\nu_{10}$  | 1339                           | 1348                    | +          | -(?) <sup>c</sup> |
| <b>3</b>  | $\nu_{10}$  | 1331                           | 1343                    | +          | nem látható       |
| <b>2</b>  | $\nu_{11}$  | 1317                           | 1324                    | +          | nem látható       |
| <b>1</b>  | $\nu_{11}$  | 1289                           | 1284                    | +          | +                 |
| <b>2</b>  | $\nu_{12}$  | 1243                           | 1259, 1254 <sup>d</sup> | –          | –                 |
| <b>1</b>  | $\nu_{12}$  | 1225                           | 1240, 1233 <sup>d</sup> | –          | –                 |

<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek kísérleti és számított spektumaiért, illetve ezek asszignációjáért l. [52] kiegészítő anyagát.

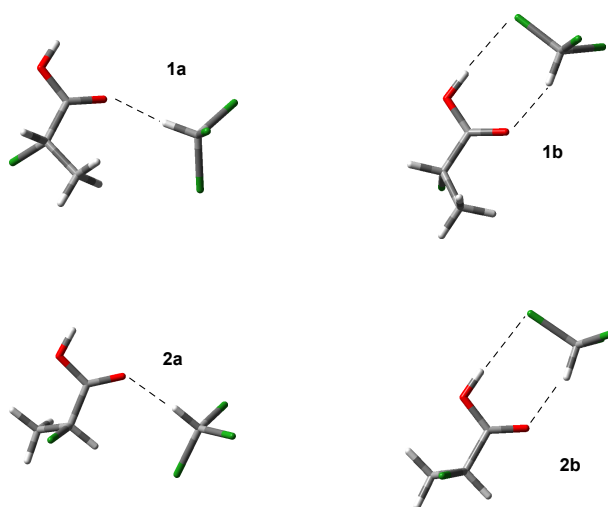
<sup>b</sup> váll

<sup>c</sup> bizonytalan

<sup>d</sup> üregfelhasadás

## 6.2.2. Az (S)-(-)-2-klórpropionsav-CHCl<sub>3</sub> komplex

### 6.2.2.1. Számítási eredmények



**6.5. ábra.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav-CHCl<sub>3</sub> komplexek konformereinek szerkezete B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten.

A 6.5. ábrán láthatók a geometria optimalizálás végeredményeként kapott komplexek. Mivel a *cisz* monomer relatív gyakorisága nem túl nagy, ezért várhatóan annak kloroformos komplexei sem jelennek meg a kísérleti spektrumban. 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 (Cl<sub>3</sub>C-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 optimalizálás során. A sűrűségfukcionál elmélet (B3LYP/aug-cc-pVTZ) és a perturbációs módszer (MP2/6-31++G\*\*) használatával kapott geometriák között nem tapasztalható lényegi különbség. A legnagyobb eltérés a C=O ... H-O távolságban 3.9 pm ( $\approx 2\%$ ) az **1a** komplexnél, de a többire ez minden esetben 1% alatt van. A H ... Cl közötti távolságában nagyjából 2-3 pm-rel tér el **2a** és **2b** komplex egymástól ( $\approx 1\%$ ). Csak néhány intermolekuláris torziós szög esetén látható nagyobb különbség: ezeknél lehet akár 50° is.

A komplexek képződése termodinamikailag kedvezményezett. A perturbációs számítással kapott eredményeket alapul véve 0 K hőmérsékleten **2b** a legstabilabb komplex, ezt követi rendre **1a**, **1b** és **2a** ( $\Delta G_{0K}^{\circ} = 0,42, 0,49$ , illetve 0,79 kJ



mol<sup>-1</sup>). Érdemes megjegyezni, hogy bár a szabadentalpia-különbségek a számítás bizonytalanságánál kisebbek, ezek valószínűleg valóban magasabb energiájú komplexek, és hőkezelés során a legalacsonyabb energiájú (azaz **2b**) komplexbe alakulnak át. Talán nem meglepő az az eredmény sem, 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 nyújtási rezgés ( $\nu_6$ ) rotátorerőssége  $8 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>, míg ugyanez  $1 \times 10^{-44}$ , illetve  $25 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup> az **1a** és **1b** komplexekre. Azonban a robusztus rezgési módok esetén is lehetséges a rotátorerősség nagyfokú változása komplexképződés során, a **2** monomer  $\nu_{12}$  rezgési módjának rotátorerőssége  $-48 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>, ugyanez **2a**, illetve **2b** komplexekre  $-76 \times 10^{-44}$ , illetve  $-60 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>. Ez alapján megállapítható, hogy a számított VCD jelerősségeket jelentősen befolyásolja a hidrogénkötésű komplexek keletkezése, még a gyenge hidrogénkötések is (mint amilyenek 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.

**6.4. táblázat.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav monomer **1** és **2** konformerének rezgési frekvenciái ( $\tilde{\nu}$ , skálázatlan, cm<sup>-1</sup>-ben), IR intenzitásai ( $I$ , km mol<sup>-1</sup>-ben) és rotátorerősségei ( $R$ , 10<sup>-44</sup> esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>-ben) B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szint IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával CHCl<sub>3</sub> oldószerre.<sup>a</sup>

| rezgési mód | konformer <b>1</b> |     |     | konformer <b>2</b> |     |     |
|-------------|--------------------|-----|-----|--------------------|-----|-----|
|             | $\tilde{\nu}$      | $I$ | $R$ | $\tilde{\nu}$      | $I$ | $R$ |
| $\nu_{12}$  | 1242,3             | 27  | -35 | 1262,7             | 29  | -49 |
| $\nu_{11}$  | 1306,6             | 14  | 30  | 1340,6             | 3   | 10  |
| $\nu_{10}$  | 1397,8             | 79  | -49 | 1361,8             | 86  | 26  |
| $\nu_9$     | 1416,6             | 8   | -2  | 1413,1             | 7   | 3   |
| $\nu_8$     | 1480,5             | 12  | 2   | 1480,7             | 18  | 3   |
| $\nu_7$     | 1484,4             | 10  | 5   | 1489,5             | 7   | -1  |
| $\nu_6$     | 1774,7             | 484 | -11 | 1764,3             | 547 | -7  |

<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek számított rezgési frekvenciáiért, IR intenzitásaiért és rotátorerősségeiért l. [52] kiegészítő anyagát.

Arra már a korábbi, kiralitás transzfert vizsgáló munkák (l. 6.1. fejezet) alapján lehetett következtetni, hogy a komplexált kloroform C–Cl, illetve C–H csoportok rezgéseinek rotátorerősségei kicsik lesznek, továbbá nem robusztusak. Azonban van néhány kivétel, ahol a számított VCD rotátorerősségek és robusztusságok aránylag nagyok (l. 6.3. táblázat): ilyen a **2b** komplex H–C–Cl hajlítási rezgése 1242,3 cm<sup>-1</sup>-nél, ahol  $R = 9 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>, illetve  $\zeta = 14,6$  ppm.

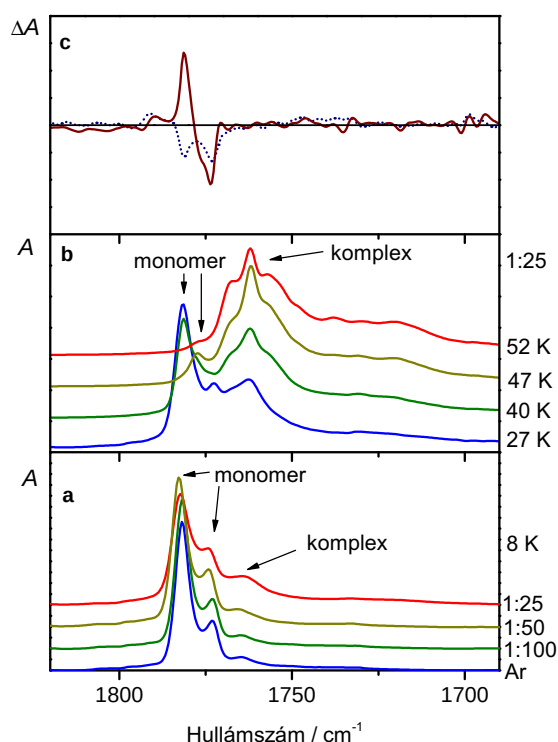
A kloroform molekulák hatását implicit módon is figyelembe vettem oldószermodell alkalmazásával, az eredményeket a 6.4. táblázatban foglaltam össze. Ezt összevetve a monomerekre kapott értékekkel (6.1. táblázat) megállapítható, hogy nem csupán a



komplexxépződés, hanem pusztán az oldószermolekulák által keltett 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 nyújtási rezgés 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  $-11 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>). Ezzel szemben a PCM modellel kapott geometria rotátorerősségét vákuumban számítva ugyanazt kapjuk, mint a teljesen vákuumban számított esetben ( $R = 8 \times 10^{-44}$  esu<sup>2</sup> cm<sup>2</sup>), tehát a molekula geometriájának megváltozása önmagában nem befolyásolja a rotátorerősség előjelét. Más rezgési módoknál 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  $\Delta r_e(\text{O–H}) > 1,4$  pm, illetve  $\Delta r_e(\text{C–O}) < -1.2$  pm, utóbbinál  $\Delta r_e(\text{C=O}) < 0,4$  pm, illetve  $\Delta \tau_e(\text{Cl–C–C=O}) < 2^\circ$ .

#### 6.2.2.2. CHCl<sub>3</sub> komplexek IR spektruma

A 2-klórpropionsav–kloroform komplexek előállításához és vizsgálatához a klórpropionsavat olyan Ar mátrixban választottam le, amely kloroformot is tartalmazott. A CHCl<sub>3</sub>:Ar aránya 1:100 és 1:25 között volt. A 6.6. ábrán látható, hogy a C=O nyújtási tartományban 1748 és 1773 cm<sup>-1</sup> között egy új sáv jelenik meg, amely a kloroformos komplexek jeleit tartalmazza. Ezt alátámasztja, hogy a sáv nagysága a kloroform arányának növekedésével nő. Az 1:25 CHCl<sub>3</sub>:Ar arányú mátrix hőkezelésével a sáv intenzitása tovább nő, maximuma 1762 cm<sup>-1</sup>-nél található, miközben a klórpropionsav monomer jele fokozatosan csökken, majd eltűnik. Ugyanígy az O–H nyújtási tartományban **1** (kísérlet: 3560 cm<sup>-1</sup>-nél, számított: 3573 cm<sup>-1</sup>-nél), illetve **2** monomer jele (kísérlet: 3566 cm<sup>-1</sup>, számított: 3578 cm<sup>-1</sup>) fokozatosan csökken hőkezelés hatására, miközben egy új csúcs jelenik meg és növekszik 3460 cm<sup>-1</sup>-nél. Kisebb hullámszámoknál a CHCl<sub>3</sub> C–Cl nyújtási rezgése (argon mátrixban 766 cm<sup>-1</sup>-nél) 5 cm<sup>-1</sup>-rel magasabb, illetve 8 cm<sup>-1</sup>-rel alacsonyabb hullámszámoknál, továbbá kisebb intenzitású csúcsok 632, 986, 1051, 1083, 1100, 1155, 1161, 1164, 1187, 1192, 1197, 1245, 1458 és 3481 cm<sup>-1</sup>-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) Az (S)-(-)-2-klórpropionsav MI-VCD spektruma 1:25  $\text{CHCl}_3\text{:Ar}$  arányú mátrixban (sötétkék pontozott vonal) és tiszta Ar mátrixban (bordó vonal) 8 K hőmérsékleten.

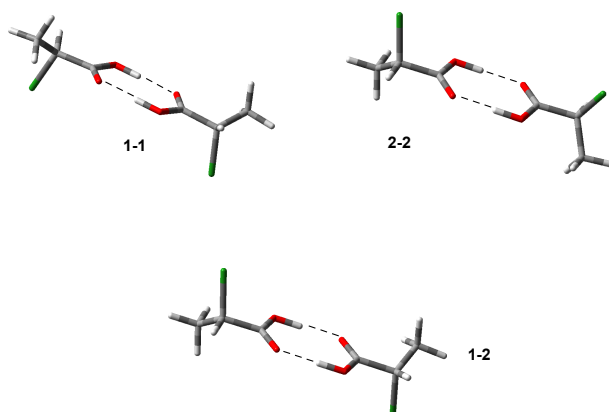
Ezeket a számított eredményekkel összevetve arra a megállapításra juthatunk, hogy az új jelek mind magyarázhatók **1b**, illetve **2b** jelenlétével a mátrixban. Az  $1762\text{ cm}^{-1}$ -nél található csúcs  $20\text{ cm}^{-1}$ -rel alacsonyabb hullámszámnál van, mint **1** monomer  $C=O$  nyújtási rezgésének jele, a számított különbség  $24\text{ cm}^{-1}$ . Nem ilyen jó az egyezés **2b** komplexnél, ahol a monomerhez képest  $11\text{ cm}^{-1}$  a kísérleti úton mért eltolódás, a számított azonban  $24\text{ cm}^{-1}$ . **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 **1b** és **2b** komplexek jelének maximuma ( $3460\text{ cm}^{-1}$ -nél)  $100$ , illetve  $106\text{ cm}^{-1}$ -rel tolódott el kisebb hullámszám felé **1**, illetve **2** monomer jelétől, ami jól egyezik a számított eredményekkel ( $113$ , illetve  $114\text{ cm}^{-1}$ ). Az **1a**, illetve **2a** komplexekre a számítások néhány  $\text{cm}^{-1}$ -es eltolódásokat jósolnak, azonban a monomer csúcsának közelében nem jelennek meg új csúcsok hőkezelés hatására. A kloroform C–Cl nyújtási rezgésre számított eltolódások ( $+5$ , illetve  $-8\text{ cm}^{-1}$ ) nem egyeznek annyira jól a mért értékekkel ( $+18$ , illetve  $-18\text{ cm}^{-1}$  **1b**, illetve **2b** komplexekre), de még ebben 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  $\text{cm}^{-1}$ -nél. Ez magyarázható kloroformos komplexek keletkezésével, ugyanis a  $\text{CHCl}_3$  mind **1b**, mind **2b** esetén a  $\text{C}=\text{O}$  és az  $\text{O}-\text{H}$  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 MI-IR kísérleti eredmények alapján nem lehet egyértelműen választani.

### 6.2.2.3. $\text{CHCl}_3$ komplexek VCD spektruma

Az (*S*)-(-)-2-klórpropionsavat 1:25, illetve 1:100  $\text{CHCl}_3$ :Ar arányú mátrixban leválasztva, 8 K hőmérsékleten mérve a kloroformos 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  $\text{C}=\text{O}$  nyújtási tartományban két negatív csúcs található 1781 és 1773  $\text{cm}^{-1}$ -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.



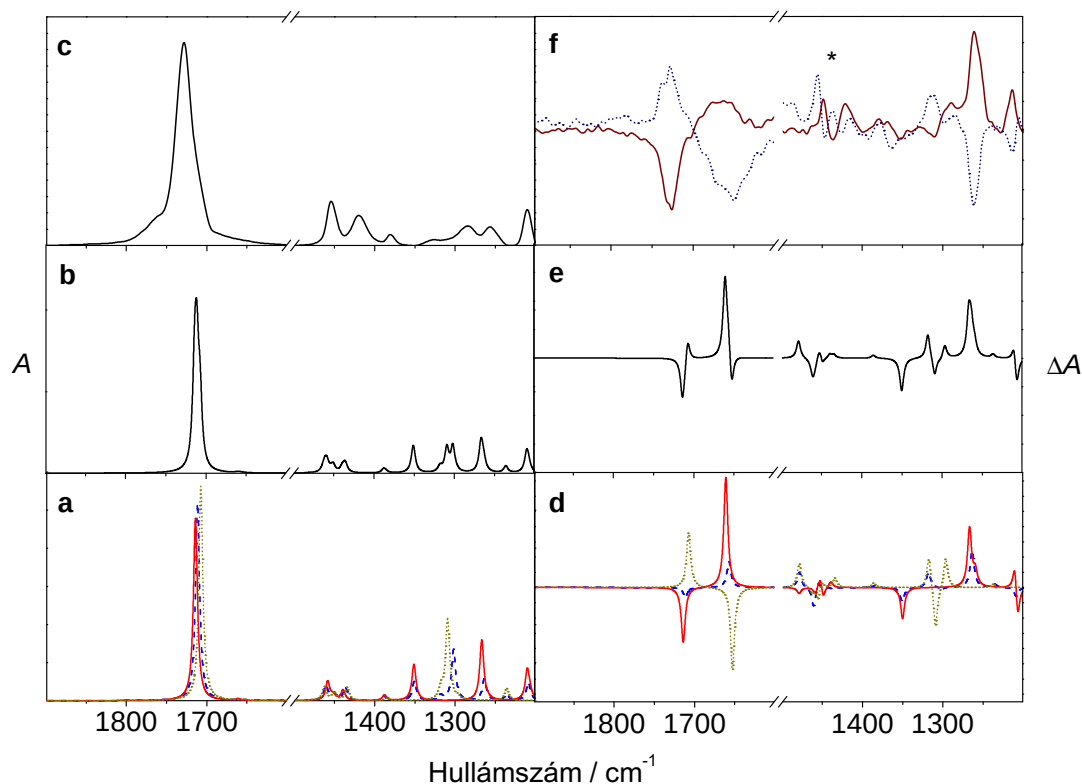
**6.7. ábra.** Az (*S*)-(-)-2-klórpropionsav dimer konformereinek szerkezete *B3LYP/aug-cc-pVTZ* elméleti szinten.

Érdemes megjegyezni, hogy – korábbi munkákkal összhangban [68] – az oldószermodellel kapott számítási eredmények kevésbé pontosak, mint az oldószermolekulát explicit módon figyelembe vevő számítások.

### 6.2.3. Az (S)-(-)-2-klórpropionsav dimer

#### 6.2.3.1. Számítási eredmények

A geometria optimalizálása során az (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 monomerek szerkezetét jelölik). Relatív arányuk 45, 38, illetve 17% 298 K hőmérsékleten. A számítások alapján a *cisz* konformer nem képez stabil dimereket.



**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 szaggatott vonal, 2-2: sárga pontozott vonal. b) A dimerek relatív gyakoriságával súlyozott kompozit IR spektrum. c) 2-klórpropionsav IR spektruma 0,1 mol dm<sup>-3</sup> koncentrációjú CCl<sub>4</sub> oldatban. d) A (S)-(-)-2-klórpropionsav dimerek súlyozatlan és skálázott számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ) VCD spektruma. 1-1: piros vonal, 1-2: kék szaggatott vonal, 2-2: sárga pontozott vonal. e) A dimerek relatív gyakoriságával súlyozott kompozit VCD spektrum. f) Az (S)-(-)- (bordó vonal) és (R)-(+)-2-klórpropionsav (sötétkék pontozott vonal) VCD spektruma 0,1 mol dm<sup>-3</sup> koncentrációjú CCl<sub>4</sub> oldatban. Az oldószerek erős elnyelése miatt jelentkező artifaktumokat csillaggal jelöltem.

**6.5. táblázat.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav dimerek rezgési frekvenciái ( $\tilde{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), IR intenzitásai ( $I$ ,  $\text{km mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei ( $R$ ,  $10^{-44} \text{esu}^2 \text{cm}^2$ -ben) és robusztusságai ( $\zeta$ , ppm-ben) SQM B3LYP/aug-cc-pVTZ elméleti szinten.<sup>a</sup>

| dimer<br>mód <sup>b</sup> | monomer<br>mód <sup>c</sup> | 1-1           |     |     |         | 1-2           |     |     |         | 2-2           |     |      |         |
|---------------------------|-----------------------------|---------------|-----|-----|---------|---------------|-----|-----|---------|---------------|-----|------|---------|
|                           |                             | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| $\nu_{28}$                | $\nu_{12}$                  | 1207,2        | 27  | -83 | -91,8   | 1209,1        | 68  | -20 | -8,9    | 1236,1        | 25  | -60  | -74,8   |
| $\nu_{27}$                | $\nu_{12}$                  | 1210,5        | 108 | 70  | 19,7    | 1235,8        | 23  | 7   | 9,7     | 1236,4        | 22  | 66   | 94,2    |
| $\nu_{26}$                | $\nu_{11}$                  | 1259,7        | 4   | 31  | 247,9   | 1263,8        | 80  | 79  | 31,5    | 1296,8        | 11  | 63   | 190,7   |
| $\nu_{25}$                | $\nu_{11}$                  | 1266,9        | 225 | 125 | 17,6    | 1301,9        | 189 | -6  | -1,1    | 1309,3        | 304 | -90  | -9,7    |
| $\nu_{24}$                | $\nu_{10}$                  | 1350,2        | 12  | -74 | -212,2  | 1317,9        | 18  | 31  | 57,0    | 1317,7        | 40  | 73   | 60,1    |
| $\nu_{23}$                | $\nu_{10}$                  | 1351,2        | 124 | 13  | 3,7     | 1350,6        | 72  | -29 | -13,5   | 1318,6        | 1   | -8   | -353,4  |
| $\nu_{22}$                | $\nu_9$                     | 1387,6        | 11  | -1  | -2,1    | 1385,1        | 5   | 4   | 26,0    | 1384,7        | 6   | -4   | -25,4   |
| $\nu_{21}$                | $\nu_9$                     | 1387,7        | 10  | 0   | 1,7     | 1387,7        | 10  | 0   | -1,6    | 1385,6        | 3   | 13   | 140,9   |
| $\nu_{20}$                | $\nu_{11} + \nu_{13}$       | 1439,1        | 38  | 12  | 10,9    | 1436,1        | 48  | -3  | 2,2     | 1434,5        | 49  | 18   | 13,2    |
| $\nu_{19}$                | $\nu_8$                     | 1449,1        | 3   | -29 | -312,1  | 1449,8        | 9   | 14  | 54,6    | 1450,2        | 3   | -15  | -201,8  |
| $\nu_{18}$                | $\nu_8$                     | 1451,4        | 14  | 26  | 64,9    | 1450,6        | 16  | -16 | -37,2   | 1450,4        | 26  | 29   | 40,7    |
| $\nu_{17}$                | $\nu_7$                     | 1454,2        | 3   | 6   | 81,9    | 1454,3        | 5   | 16  | 119,4   | 1455,1        | 2   | -26  | -391,0  |
| $\nu_{16}$                | $\nu_7$                     | 1458,2        | 70  | -14 | -7,2    | 1460,5        | 57  | -37 | -24,0   | 1462,7        | 50  | -10  | -7,1    |
| $\nu_{15}$                | $\nu_{11} + \nu_{13}$       | 1478,4        | 1   | -11 | -303,8  | 1478,3        | 1   | 28  | 1365,9  | 1478,6        | 2   | 44   | 1059,0  |
| $\nu_{14}$                | $\nu_6$                     | 1661          | 6   | 178 | 1191,2  | 1657,2        | 4   | 42  | 443,5   | 1652,9        | 3   | -134 | -1914,7 |
| $\nu_{13}$                | $\nu_6$                     | 1714          | 678 | -86 | -5,5    | 1711,4        | 735 | -16 | -0,9    | 1707,4        | 795 | 87   | 4,7     |

<sup>a</sup> A rezgési tartomány egyéb részeinek számított rezgési frekvenciáért, IR intenzitásáért, rotátorerősségeért és robusztusságaiért l. [52] kiegészítő anyagát.

<sup>b</sup> A számozás az (S)-(-)-2-klórpropionsav dimer összes rezgés módjának figyelembevételével történt.

<sup>c</sup> Az (S)-(-)-2-klórpropionsav monomerek megfelelő rezgési módja.

A számított IR és VCD spektrumokat a 6.5. táblázatban foglaltam össze. A dimereknél az egyes karbonilcsoportok rezgései csatolódnak, emiatt szimmetrikus és antiszimmetrikus nyújtások figyelhetők meg. Előbbihez az alacsonyabb, utóbbihoz a magasabb hullámszámú jel tartozik, továbbá a szimmetrikus rezgés IR jelének nagysága elhanyagolható az antiszimmetrikuséhoz képest. Ez nem igaz a számított VCD spektrumoknál, ahol a két rezgési mód rotátorerősségének nagysága összemérhető. 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 módjainak előjele nem feltétlenül egyezik meg, ezért jeleik többé-kevésbé kioltathatják egymást: ez látható a 6.8. ábrán, ahol a dimerek relatív gyakoriságával korrigált számolt VCD spektrumait összeadva a kapott spektrumban a jelek gyengébbek, mint az egyes dimerekéi (6.8./e ábra). Megfigyelhető továbbá, hogy az így kapott összesspektrum (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. Érdekes azonban hangsúlyozni, hogy a coupletek eltérő okból alakultak ki: a monomereknél a két domináns konformer jelei, a dimereknél a két karbonilcsoport csatolt szimmetrikus és antiszimmetrikus rezgések jelei alkotják a két csúcsot (azaz utóbbinál a két jel az egyes homo- és heterodimerek jeleinek összege). A karbonilcsoportok nyújtási rezgéseinek robusztussága is eltérő: a szimmetrikus rendkívül robusztus ( $|\zeta| > 100$  minden dimerre) – aminek oka az, hogy a viszonylag nagy rotátorerősséghez kicsi IR elnyelés, azaz elektromos átmeneti dipólusmomentum társul –, míg az antiszimmetrikus nem robusztus ( $|\zeta| \approx 0$  minden dimerre).

A vizsgált hullámszámtartomány többi jelét vizsgálva megállapítható, hogy a H–O–C szimmetrikus, illetve antiszimmetrikus hajlítási rezgésének (azaz  $\nu_{23}$  és  $\nu_{24}$  módok) frekvenciái tolódnak el legnagyobb mértékben: azok a dimerképződés hatására több, mint  $20\text{ cm}^{-1}$ -rel csökkentek (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 rotátorerősségek 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 például a  $\nu_{10}$  és  $\nu_{11}$  rezgési módok).

### 6.2.3.2. Dimerek IR spektruma

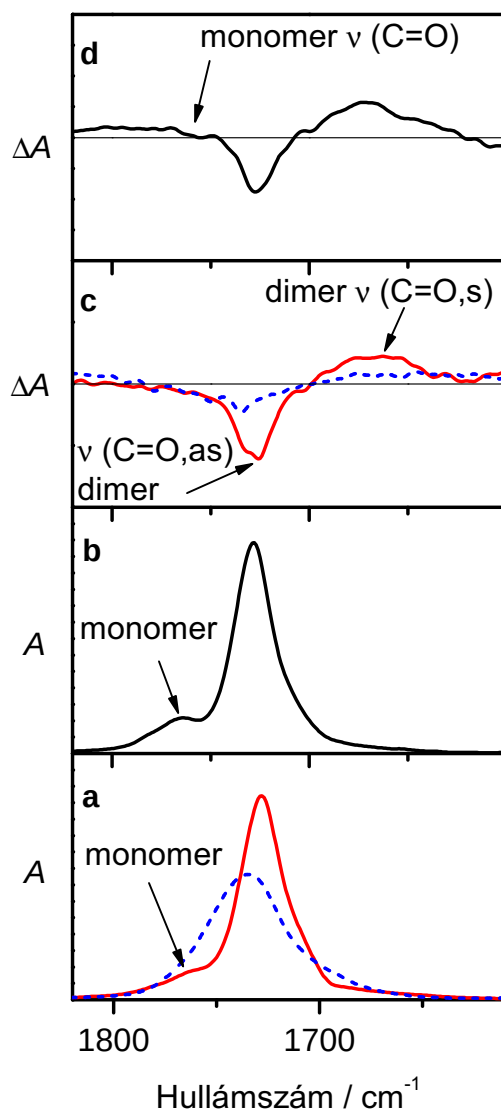
Mint azt már a 6.2.1.2. fejezetben láthattuk, Ar mátrixban a 2-klórpropionsav monomerek hőkezelés hatására dimerizálódnak, és az azokhoz tartozó új csúcsok jelennek meg – így a karbonil nyújtási tartományban is  $1752$  és  $1732\text{ cm}^{-1}$ -nél (6.4. ábra). Hogy ezek valóban a dimerekhez tartozó csúcsok, alátámasztja az a tény is,

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 csúctól (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 ( $\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}$ ), valamint a másik karbonilcsoport és az  $\alpha$ -szénatom hidrogénje között egy gyenge ( $\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{C}_\alpha$ ) hidrogénkötést tartalmaznak. Ilyeneket azonosítottak már Ar mátrixban, a hangyasav [186], ecetsav [187], illetve hangyasav vizsgálatakor He nanocseppben [188, 189], továbbá metil-acetát-ecetsav keverék szuperszonikus expanziójakor [190]. Habár ezek magasabb energiával rendelkeznek a két erős H-kötést tartalmazó társaiknál, alacsony hőmérsékleten kimutathatók (amennyiben a leválasztás során keletkeznek), mivel a stabil dimerbe történő átalakulásuk során az átmeneti állapot energiája – azaz az aktiválási gát – viszonylag magas [187]. Ezeknél a megfelelő monomer jeléhez képest mérhető vöröseltolódás ( $\approx -22 \text{ cm}^{-1}$ ) nagyjából megegyezik az általam számított, valamint az irodalomban fellelhető hullámszámkülönbséggel ( $-24 \text{ cm}^{-1}$ , illetve  $-18,5 \text{ cm}^{-1}$ ). Érdemes megjegyezni, hogy ezekhez a számításokhoz a **2** monomert hasonlítottam össze a dimereivel, mivel az **1** monomerből ilyen típusú dimerek – sztérikus okokból kifolyólag – nem keletkezhetnek. Az ilyen, egy erős és egy gyenge hidrogénkötést tartalmazó dimerek karbonilcsoportjának szimmetrikus nyújtási rezgései – mivel IR jelerősségük sokkal kisebb – nem különülnek el, hanem beleolvadnak a legalacsonyabb energiájú dimerek két nagy csúcsa közötti széles sávba. A dimerek képződése a  $2800\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$  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  $1728 \text{ cm}^{-1}$ -nél volt  $0,02$ , illetve  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  oldatban, amely nem sokkal tér el a dimerek Ar mátrixban mért értéktől ( $1732 \text{ cm}^{-1}$ ). Ez – egybehangzóan a korábbi vizsgálatok eredményével [175–178] – alátámasztja azt 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 ( $1765 \text{ cm}^{-1}$ -nél) a koncentráció csökkenésével nő, és – az oldószerhatást figyelembe véve – jól összeegyeztethető **1**, illetve **2** monomer mátrixban kapott jeleivel ( $1782 \text{ cm}^{-1}$ , illetve  $1774 \text{ cm}^{-1}$ ). Fontos megjegyezni, hogy oldatban – az oldószer effektus miatti jelkiszélesedés miatt – a monomerek csúcsai nem válnak el egymástól, hanem egyetlen jelet alkotnak.

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

**1a**, illetve **1b** – stabilizálnak (6.1. ábra).



**6.9. ábra.** Az (S)-(-)-2-klórpropionsav C=O nyújtási tartománya (1820–1600  $\text{cm}^{-1}$ ) a) IR spektrum 0,1  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  (piros vonal), illetve  $\text{CHCl}_3$  (kék szaggatott vonal) oldatban b) IR spektrum 0,02  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  oldatban c) VCD spektrum 0,1  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  (piros vonal) és  $\text{CHCl}_3$  (kék szaggatott vonal) oldatban d) VCD spektrum 0,02  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  oldatban. Az IR spektrumoknál  $A = 0\text{--}0,75$ , a VCD spektrumoknál  $\Delta A = -2,0 \times 10^{-5}\text{--}2,0 \times 10^{-5}$  közötti tartományban volt. A küvettavastagság 0,2 mm volt a 0,1  $\text{mol dm}^{-3}$  és 1 mm volt a 0,02  $\text{mol dm}^{-3}$  koncentrációjú oldatok esetén.

#### 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 relatív gyakoriságával súlyozott összspektruma jó egyezést mutat a klórpropionsav 0,1 mol dm<sup>-3</sup> koncentrációjú széntetraklorid oldatában mérttel, mind a karbonilcsoport, mind a vizsgált tartomány többi rezgésére, a  $\nu_{12}$  rezgési módot kivéve (l. 6.8 és 6.9. ábrák). Ennek oka, hogy ilyen körülmények között kicsi a monomerek koncentrációja, jeleik nem zavarják a mérést. A monomerek a hígabb – 0,02 mol dm<sup>-3</sup> koncentrációjú – oldatban sincsenek akkora arányban jelen, jeleik a zajból alig emelkednek ki (6.9. ábra).

Fontos észrevétel volt, hogy a CHCl<sub>3</sub>-ban felvett spektrumban nagyjából feleakkora nagyságú és jelentősen kiszélesedett a karbonilcsoport jele a CCl<sub>4</sub>-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 jelerősséget tovább csökkenti (6.1. ábra).

### 6.3. Összefoglalás

A fejezetben a 2-klórpropionsav erős (dimer), illetve gyenge (CHCl<sub>3</sub>-mal képzett) hidrogénkötésű komplexeinek VCD spektrumra gyakorolt hatását vizsgáltam. Ennek során mind a mono- és dimerek, mind a gyenge hidrogénkötésű komplexek esetén azok IR, illetve VCD spektrumát kiszámítottam és kiértékeltem, aminek eredményeül 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, előbbiek az utóbbinál jóval nagyobb arányban. A *cisz* konformer aránya általában a karbonsavakhoz képest – az Ac- $\beta^3$ -HPro-NHMe-nél tapasztaltakhoz hasonlóan (5.2.1. fejezet) – szokatlanul nagy ( $\approx 6\%$ ), amit a klóratom, illetve az  $\alpha$ -szénatom hidrogénje közötti gyenge kölcsönhatás okoz. Az asszignációt megerősítette egy későbbi vizsgálatunk is, amelynek során a nemrégiben átadott lézerlaboratóriumunkban a monomerek Ar mátrixban történő szelektív gerjesztését vizsgáltuk [45] (a lézerlaboratóriumot, valamint az ott található berendezéseket egy a Magyar Kémiai Folyóiratban megjelent cikk már bemutatta [191], illetve további információkat a laboratórium honlapján lehet olvasni <http://msl.chem.elte.hu/muszerek.html>).

A 2-klórpropionsav-CHCl<sub>3</sub> komplexeinél egy gyenge hidrogénkötésű specieszt (**1b** vagy **2b**) lehetett azonosítani. Ezzel szemben a klórpropionsav CHCl<sub>3</sub> molekulát nem tartalmazó mátrixban történő hőkezelésekor keletkező dimereknél a két erős hidrogénkötést tartalmazó komplexek (mint amilyen az **1-1**) mellett olyan szerkezetek is jelen vannak, amelyekben egy erős (C=O  $\cdots$  H-O) és egy gyenge (C=O  $\cdots$  H-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 mol dm<sup>-3</sup>) CCl<sub>4</sub> oldatában főként 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<sub>3</sub> komplexek) is számottevő mennyiségben voltak kimutathatók.

A monomerek VCD spektrumát Ar mátrixban tanulmányoztam, dimereknél oldatban, míg a klórpropionsav CHCl<sub>3</sub> komplexeit kloroformot tartalmazó Ar mátrixban vettem fel. A számított és a kísérleti eredményeket kiértékelve, továbbá a számított rezgési módok robusztusságának vizsgálata során a karbonsavak VCD spektrumára vonatkozó legfontosabb általános következtetések a következők: a 2-klórpropionsav monomer esetén nem volt olyan robusztus rezgési mód, amely minden konformer esetén robusztus lett volna. Királis  $\alpha$ -szénatomot tartalmazó karbonsavaknál a C=O nyújtási rezgés általában nem csatol az aszimmetrikus szénatom rezgéseivel, így – a nem túl nagy – rotátorerősség nagysága főként az elektromos átmeneti dipólusmomentum-vektortól függ. Továbbá az összes rezgési mód érzékeny az X–C–C=O (2-klórpropionsavnál X = Cl) torziós szögére, azaz a VCD spektrumot nagymértékben befolyásolja a molekula konformációja. Így abszolút konfiguráció meghatározásakor az összes szóba jövő konformert és csak a robusztus módokat figyelembe véve szabad az asszignálást elvégezni.

Korábbi vizsgálatokkal [192] összhangban megállapítható, hogy a gyenge hidrogénkötést tartalmazó komplexek keletkezése is alapvető hatással bír a VCD spektrumra. A robusztus rezgési módok rotátorerősségeinél 20–40%-os eltérés tapasztalható a monomerhez képest, de egyes esetekben ez nagyobb is lehet. Ezen felül megállapítható, hogy – például CHCl<sub>3</sub> oldatban mérttel összehasonlítva [192] – az oldószermodelleket alkalmazva sokkal kisebb egyezés tapasztalható, mint az oldószermolekulát explicit módon figyelembe vevő számítások esetén, ami a komplexek oldatban történő keletkezésére utal.

Az oldószermodelles, illetve hőkezelés nélküli mátrixok vizsgálatakor világossá vált, hogy az oldószer-, illetve a mátrixba zárt CHCl<sub>3</sub> molekulák által keltett külső elektromos tér hatására, a mátrixba zárt molekula geometriájának megváltozásából eredően a jelek rotátorerőssége változik, egyes nem robusztus módok esetén akár az előjel is megváltozhat. Ez utóbbira példa a C=O nyújtási, illetve a C–O–H hajlítási rezgése. A hatás következhet közvetlenül a keltett elektromos térből, vagy közvetett módon a molekula geometriájának megváltozásából. A komplexekben – korábbi munkákkal összhangban [83] – az eredetileg akirális molekula (azaz a CHCl<sub>3</sub>) rezgesei általában kis rotátorerősségűek és nem robusztusak. Vannak azonban kivételek: esetünkben a kloroform H–C–Cl hajlítási rezgés rotátorerőssége közepes nagyságúnak mondható – kiváló példaként a kiralitás transzferre (l. többek között [50], illetve 6.1. fejezet).

Korábbi vizsgálatok kimutatták [193], 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 [175–179]. A megfelelő oldószer kiválasztására is hangsúlyt kell fektetnünk: a  $\text{CHCl}_3$ -ban felvett spektrum bonyolultabb a  $\text{CCl}_4$ -ben felvettnél. Előbbi használatakor a komplexek keletkezése mellett a monomerek stabilitása is megnő – így azok jelei erősebbé válnak a spektrumban – ezzel párhuzamosan a dimerek jelének nagysága is csökken. Emiatt – mégha a számítási igény nagyobb is – amennyiben az oldhatóság engedi, érdemes olyan koncentrációjú  $\text{CCl}_4$  oldatban végezni a VCD mérést, amelyben főleg dimerek vannak jelen.

## 7. fejezet

# Összefoglalás, konklúzió

A VCD spektroszkópia a királis vegyületek szerkezetének meghatározásában egyre nagyobb szerepet játszik, és merev molekulák esetén ma már rutinszerűen alkalmazható. Egyes esetekben azonban – jellemzően flexibilis molekuláknál – problémát jelenthet a szerkezet meghatározása. Ezeknél – a merev társaikhoz képest – jóval nagyobb gondot jelentenek azoknak az ún. nem robusztus jelek, amelyek jelenléte azt eredményezheti, 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 rezgési módot – 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.

Ennek, a VCD jelek robusztusságát becslő módszer eredményességének teszteléséhez olyan flexibilis modellmolekulákat választottam ki, amelyeknél előzetesen várható volt, hogy lesznek nem robusztus rezgési módjaik. A vizsgálatok során több optikailag aktív biomolekula szerkezetét határoztam meg VCD spektroszkópia segítségével, amelyet egyéb módszerek (mátrixizolációs mérések, FT-IR spektroszkópia) egészítettek ki és segítettek. Ezen felül a perturbációknak – például más oldószer használata, dimerek, komplexek képződése, számítás eltérő bázison – az egyes molekulák konformációjára, illetve szerkezetében bekövetkező változásaira, a nem robusztusnak előjelzett rezgési módjaira, illetve VCD spektrumára gyakorolt hatását kísértem figyelemmel.

Doktori munkám során különféle molekulák rezgési módjainak robusztusságát a bevezetett definíció segítségével becsülve kiderült, hogy a robusztusak 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 módok előjeleiben bízhatunk meg – nagymértékben segíti a VCD spektrumok asszignálását, így a molekulák szerkezetének meghatározását.

## 8. fejezet

### Summary

VCD spectroscopy plays an increasingly important role in determining the structure of chiral compounds and for rigid molecules it is now a well-established method. However, in some cases (such as the flexible molecules) there may be problems with determination of the structure. These molecules have many 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 more difficult.

Thus the signals can be classified according to their sensitivity to various perturbations. This is called robustness and a vibrational mode can be 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 that correctly indicates which calculated signals are reliable.

To test the effectiveness of this newly developed robustness estimation method, flexible molecules were chosen having (as previously expected) non-robust vibrational modes. During the studies, several optically active biomolecule structures have been determined by the help of VCD spectroscopy, which was supported by other methods (like matrix isolation method, FT-IR spectroscopy). Furthermore, the impact of changes in molecular conformation and 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 has been evaluated.

In this work, the robustness of the molecular vibrational modes has been estimated by means of the introduced definition. It turned out that the robust signs show good agreement with the experimental ones. However, if the robustness was small, the calculated signal was not always the same as the experimentally obtained ones. Using robustness greatly helps the determination of molecular structure by showing which vibrational mode can be relied upon during assignment of the VCD spectra.

# A. Függelék

## Az $\alpha$ -, illetve $\beta$ -ForAANHMe számított fizikai paramétereit táblázatosan

**A.1. táblázat.** Az  $\alpha$ -, illetve  $\beta$ -ForAANHMe (AA: Asn, Asp, Cys) monomerek frekvenciái ( $\tilde{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), IR intenzitásai ( $I$ ,  $\text{km mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei ( $R$ ,  $10^{-44} \text{ esu}^2 \text{ cm}^2$ -ben) és robosztusságai ( $\zeta$ , ppm-ben) B3LYP/6-31G\* elméleti szinten. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

| N-terminális amid-I    |               |     |      |         |
|------------------------|---------------|-----|------|---------|
|                        | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| ForAsnNHMe- $\alpha_1$ | 1746,2        | 186 | -121 | -28,6   |
| ForAsnNHMe- $\alpha_2$ | 1744,6        | 244 | 119  | 21,3    |
| ForAsnNHMe- $\alpha_3$ | 1739,7        | 246 | -27  | -4,8    |
| ForAsnNHMe- $\beta_1$  | 1719,8        | 361 | -20  | 2,4     |
| ForAsnNHMe- $\beta_2$  | 1718,7        | 399 | 215  | 23,2    |
| ForAspNHMe- $\alpha_1$ | 1744,0        | 200 | 22   | 4,9     |
| ForAspNHMe- $\alpha_2$ | 1740,8        | 118 | -104 | -38,4   |
| ForAspNHMe- $\alpha_3$ | 1747,3        | 205 | -55  | -11,8   |
| ForAspNHMe- $\alpha_4$ | 1747,3        | 231 | -97  | -18,4   |
| ForAspNHMe- $\alpha_5$ | 1744,4        | 233 | 108  | 20,4    |
| ForAspNHMe- $\alpha_6$ | 1745,4        | 208 | 48   | 10,2    |
| ForAspNHMe- $\alpha_7$ | 1746,4        | 210 | -16  | -3,4    |
| ForAspNHMe- $\alpha_8$ | 1739,1        | 182 | -86  | -20,5   |
| ForAspNHMe- $\beta_1$  | 1727,4        | 169 | 56   | 14,5    |
| ForAspNHMe- $\beta_2$  | 1726,2        | 167 | 274  | 71,0    |
| ForAspNHMe- $\beta_3$  | 1729,6        | 151 | 9    | 2,6     |
| ForAspNHMe- $\beta_4$  | 1728,8        | 160 | 201  | 54,2    |
| ForAspNHMe- $\beta_5$  | 1728,7        | 198 | 50   | 11,0    |
| ForAspNHMe- $\beta_6$  | 1716,1        | 131 | -4   | -1,5    |
| ForAspNHMe- $\beta_7$  | 1737,1        | 118 | 125  | 46,3    |
| ForCysNHMe- $\alpha_1$ | 1747,6        | 224 | -151 | -29,4   |
| ForCysNHMe- $\alpha_2$ | 1746,3        | 217 | -99  | -19,9   |
| ForCysNHMe- $\alpha_3$ | 1744,0        | 206 | -16  | -3,4    |
| ForCysNHMe- $\alpha_4$ | 1746,0        | 206 | -32  | -6,8    |

|                        |        |     |     |      |
|------------------------|--------|-----|-----|------|
| ForCysNHMe- $\alpha_5$ | 1744,3 | 204 | -12 | -2,6 |
| ForCysNHMe- $\alpha_6$ | 1750,1 | 215 | 3   | 0,5  |
| ForCysNHMe- $\beta_1$  | 1725,5 | 180 | 76  | 18,2 |
| ForCysNHMe- $\beta_2$  | 1729,4 | 187 | 24  | 5,6  |
| ForCysNHMe- $\beta_3$  | 1728,6 | 167 | 58  | 15,1 |
| ForCysNHMe- $\beta_4$  | 1731,7 | 186 | 116 | 27,0 |
| ForCysNHMe- $\beta_5$  | 1728,8 | 168 | 65  | 16,7 |
| ForCysNHMe- $\beta_6$  | 1743,4 | 215 | 61  | 12,4 |
| ForCysNHMe- $\beta_7$  | 1735,5 | 170 | 45  | 11,4 |

C-terminális amid-I

|                        | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
|------------------------|---------------|-----|------|---------|
| ForAsnNHMe- $\alpha_1$ | 1702,8        | 224 | 130  | 24,8    |
| ForAsnNHMe- $\alpha_2$ | 1704,5        | 186 | 224  | 51,3    |
| ForAsnNHMe- $\alpha_3$ | 1718,3        | 85  | 301  | 151,7   |
| ForAsnNHMe- $\beta_1$  | 1694,7        | 324 | -24  | -3,1    |
| ForAsnNHMe- $\beta_2$  | 1691,8        | 303 | -244 | -34,2   |
| ForAspNHMe- $\alpha_1$ | 1719,0        | 222 | 85   | 16,5    |
| ForAspNHMe- $\alpha_2$ | 1719,3        | 230 | 62   | 11,7    |
| ForAspNHMe- $\alpha_3$ | 1719,4        | 208 | 131  | 27,2    |
| ForAspNHMe- $\alpha_4$ | 1718,8        | 220 | 81   | 15,8    |
| ForAspNHMe- $\alpha_5$ | 1727,2        | 181 | 119  | 28,6    |
| ForAspNHMe- $\alpha_6$ | 1680,6        | 368 | 27   | 3,1     |
| ForAspNHMe- $\alpha_7$ | 1688,2        | 277 | 148  | 22,6    |
| ForAspNHMe- $\alpha_8$ | 1717,3        | 216 | 100  | 19,9    |
| ForAspNHMe- $\beta_1$  | 1707          | 335 | -9   | -1,1    |
| ForAspNHMe- $\beta_2$  | 1702,9        | 305 | -152 | -21,3   |
| ForAspNHMe- $\beta_3$  | 1709,5        | 306 | -20  | -2,9    |
| ForAspNHMe- $\beta_4$  | 1711,3        | 252 | -123 | -20,9   |
| ForAspNHMe- $\beta_5$  | 1709,1        | 314 | 29   | 3,9     |
| ForAspNHMe- $\beta_6$  | 1680,7        | 372 | 57   | 6,4     |
| ForAspNHMe- $\beta_7$  | 1719,3        | 344 | -64  | -8,0    |
| ForCysNHMe- $\alpha_1$ | 1721,6        | 211 | 167  | 34,2    |
| ForCysNHMe- $\alpha_2$ | 1713,7        | 210 | 102  | 21,0    |
| ForCysNHMe- $\alpha_3$ | 1716,9        | 214 | 58   | 11,8    |
| ForCysNHMe- $\alpha_4$ | 1719,4        | 210 | 83   | 17,0    |
| ForCysNHMe- $\alpha_5$ | 1717,4        | 210 | 68   | 14,0    |
| ForCysNHMe- $\alpha_6$ | 1722,3        | 199 | 153  | 33,3    |
| ForCysNHMe- $\beta_1$  | 1702,6        | 308 | -110 | -15,3   |
| ForCysNHMe- $\beta_2$  | 1705,1        | 303 | -44  | -6,2    |
| ForCysNHMe- $\beta_3$  | 1707,9        | 295 | 42   | 6,1     |
| ForCysNHMe- $\beta_4$  | 1710,1        | 274 | -98  | -15,3   |
| ForCysNHMe- $\beta_5$  | 1708,9        | 298 | -21  | -3,0    |
| ForCysNHMe- $\beta_6$  | 1710,6        | 261 | -92  | -15,2   |
| ForCysNHMe- $\beta_7$  | 1711,8        | 304 | -53  | -7,5    |

C-terminális amid-II

|                        | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ |
|------------------------|---------------|-----|-----|---------|
| ForAsnNHMe- $\alpha_1$ | 1534,8        | 175 | -69 | -15,1   |
| ForAsnNHMe- $\alpha_2$ | 1532,3        | 160 | -87 | -20,8   |
| ForAsnNHMe- $\alpha_3$ | 1534,4        | 183 | -84 | -17,7   |
| ForAsnNHMe- $\beta_1$  | 1595,5        | 160 | -18 | -4,6    |
| ForAsnNHMe- $\beta_2$  | 1593,1        | 147 | 1   | 0,3     |
| ForAspNHMe- $\alpha_1$ | 1533,4        | 174 | -68 | -15,1   |
| ForAspNHMe- $\alpha_2$ | 1534,4        | 172 | -76 | -17,0   |
| ForAspNHMe- $\alpha_3$ | 1531,5        | 172 | -55 | -12,2   |
| ForAspNHMe- $\alpha_4$ | 1532,2        | 166 | -63 | -14,5   |
| ForAspNHMe- $\alpha_5$ | 1527,9        | 156 | -69 | -17,1   |
| ForAspNHMe- $\alpha_6$ | 1545,7        | 180 | -54 | -11,6   |
| ForAspNHMe- $\alpha_7$ | 1541,5        | 164 | -83 | -19,5   |
| ForAspNHMe- $\alpha_8$ | 1535,9        | 171 | -77 | -17,4   |
| ForAspNHMe- $\beta_1$  | 1557,6        | 154 | -19 | -4,9    |
| ForAspNHMe- $\beta_2$  | 1573,8        | 189 | -36 | -7,5    |
| ForAspNHMe- $\beta_3$  | 1542,2        | 158 | 4   | 0,9     |
| ForAspNHMe- $\beta_4$  | 1539,2        | 135 | -22 | -6,3    |
| ForAspNHMe- $\beta_5$  | 1542,8        | 137 | 4   | 1,3     |
| ForAspNHMe- $\beta_6$  | 1569,4        | 147 | -6  | -1,6    |
| ForAspNHMe- $\beta_7$  | 1513,6        | 150 | -9  | -2,4    |
| ForCysNHMe- $\alpha_1$ | 1528,5        | 166 | -66 | -15,3   |
| ForCysNHMe- $\alpha_2$ | 1529,6        | 169 | -63 | -14,2   |
| ForCysNHMe- $\alpha_3$ | 1531,7        | 173 | -56 | -12,5   |
| ForCysNHMe- $\alpha_4$ | 1531,8        | 175 | -58 | -12,8   |
| ForCysNHMe- $\alpha_5$ | 1531,3        | 173 | -64 | -14,3   |
| ForCysNHMe- $\alpha_6$ | 1525,2        | 143 | -97 | -26,0   |
| ForCysNHMe- $\beta_1$  | 1557,1        | 156 | -8  | -1,9    |
| ForCysNHMe- $\beta_2$  | 1550,4        | 144 | -12 | -3,1    |
| ForCysNHMe- $\beta_3$  | 1539,1        | 148 | -10 | -2,6    |
| ForCysNHMe- $\beta_4$  | 1543          | 140 | -9  | -2,4    |
| ForCysNHMe- $\beta_5$  | 1542,3        | 144 | 8   | 2,0     |
| ForCysNHMe- $\beta_6$  | 1536,6        | 165 | 13  | 3,0     |
| ForCysNHMe- $\beta_7$  | 1538,1        | 166 | 5   | 1,1     |

N-terminális amid-II

|                        | $\tilde{\nu}$ | $I$ | $R$ | $\zeta$ |
|------------------------|---------------|-----|-----|---------|
| ForAsnNHMe- $\alpha_1$ | 1482,6        | 102 | -11 | -4,1    |
| ForAsnNHMe- $\alpha_2$ | 1492,6        | 81  | 61  | 28,2    |
| ForAsnNHMe- $\alpha_3$ | 1480,7        | 121 | -29 | -9,0    |
| ForAsnNHMe- $\beta_1$  | 1475,5        | 154 | 122 | 29,4    |
| ForAsnNHMe- $\beta_2$  | 1505,4        | 202 | -38 | -7,2    |
| ForAspNHMe- $\alpha_1$ | 1482,3        | 113 | 6   | 2,1     |
| ForAspNHMe- $\alpha_2$ | 1482,8        | 113 | -49 | -16,2   |
| ForAspNHMe- $\alpha_3$ | 1483,9        | 113 | -9  | -3,0    |
| ForAspNHMe- $\alpha_4$ | 1483,8        | 108 | -10 | -3,4    |
| ForAspNHMe- $\alpha_5$ | 1491          | 87  | 26  | 11,3    |



|                        |        |     |     |       |
|------------------------|--------|-----|-----|-------|
| ForAspNHMe- $\alpha_6$ | 1481   | 109 | -14 | -4,8  |
| ForAspNHMe- $\alpha_7$ | 1491,5 | 85  | 65  | 28,7  |
| ForAspNHMe- $\alpha_8$ | 1482,5 | 111 | -63 | -21,0 |
| ForAspNHMe- $\beta_1$  | 1482,6 | 254 | 85  | 12,5  |
| ForAspNHMe- $\beta_2$  | 1481,4 | 242 | 89  | 13,6  |
| ForAspNHMe- $\beta_3$  | 1486,7 | 201 | 36  | 6,8   |
| ForAspNHMe- $\beta_4$  | 1483,8 | 249 | 34  | 5,2   |
| ForAspNHMe- $\beta_5$  | 1484,1 | 278 | 77  | 10,3  |
| ForAspNHMe- $\beta_6$  | 1479,4 | 226 | 77  | 12,6  |
| ForAspNHMe- $\beta_7$  | 1481,7 | 186 | 83  | 16,6  |
| ForCysNHMe- $\alpha_1$ | 1481,1 | 111 | 9   | 2,9   |
| ForCysNHMe- $\alpha_2$ | 1479,9 | 106 | -2  | -0,6  |
| ForCysNHMe- $\alpha_3$ | 1484,6 | 105 | -47 | -16,7 |
| ForCysNHMe- $\alpha_4$ | 1484,2 | 105 | -20 | -7,0  |
| ForCysNHMe- $\alpha_5$ | 1483,8 | 103 | -36 | -12,9 |
| ForCysNHMe- $\alpha_6$ | 1497,7 | 101 | 72  | 26,7  |
| ForCysNHMe- $\beta_1$  | 1475,7 | 183 | 101 | 20,5  |
| ForCysNHMe- $\beta_2$  | 1479,9 | 221 | 77  | 12,9  |
| ForCysNHMe- $\beta_3$  | 1486,4 | 238 | 76  | 12,0  |
| ForCysNHMe- $\beta_4$  | 1478,1 | 220 | 110 | 18,6  |
| ForCysNHMe- $\beta_5$  | 1484,5 | 257 | 89  | 12,9  |
| ForCysNHMe- $\beta_6$  | 1489,4 | 140 | 136 | 36,4  |
| ForCysNHMe- $\beta_7$  | 1489,7 | 163 | 74  | 16,8  |

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

| B3LYP/6-31G*   |               | ForValNHMe- $\alpha_1$ | ForValNHMe- $\alpha_2$ | ForValNHMe- $\alpha_3$ |
|----------------|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| amid-I         | $\tilde{\nu}$ | 1748,0                 | 1745,6                 | 1746,4                 |
| (N-terminális) | $I$           | 224                    | 229                    | 230                    |
|                | $R$           | -123                   | -40                    | -13                    |
|                | $\zeta$       | -24,1                  | -7,7                   | -2,4                   |
|                | $\tilde{\nu}$ | 1721,1                 | 1717,5                 | 1719,6                 |
| (C-terminális) | $I$           | 179                    | 196                    | 196                    |
|                | $R$           | 151                    | 133                    | 96                     |
|                | $\zeta$       | 36,4                   | 29,3                   | 21,3                   |
|                | $\tilde{\nu}$ | 1521,8                 | 1523,1                 | 1524,5                 |
| (C-terminális) | $I$           | 165                    | 149                    | 154                    |
|                | $R$           | -59                    | -90                    | -77                    |
|                | $\zeta$       | -13,7                  | -23,1                  | -19,1                  |
|                | $\tilde{\nu}$ | 1483,9                 | 1497,0                 | 1495,3                 |
| (N-terminális) | $I$           | 83                     | 110                    | 107                    |
|                | $R$           | -5                     | 61                     | 15                     |
|                | $\zeta$       | -2,2                   | 21,0                   | 5,2                    |

| B3LYP/6-31++G**   |               | ForValNHMe- $\alpha_1$ | ForValNHMe- $\alpha_2$ | ForValNHMe- $\alpha_3$ |
|-------------------|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1728,3                 | 1727,3                 | 1727,2                 |
| (N-terminális)    | $I$           | 275                    | 275                    | 276                    |
|                   | $R$           | -137                   | -43                    | 25                     |
|                   | $\zeta$       | -21,6                  | -6,7                   | 3,9                    |
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1700,3                 | 1698,6                 | 1695,5                 |
| (C-terminális)    | $I$           | 212                    | 228                    | 241                    |
|                   | $R$           | 176                    | 147                    | 71                     |
|                   | $\zeta$       | 35,4                   | 27,5                   | 12,5                   |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1513,9                 | 1518,3                 | 1521,9                 |
| (C-terminális)    | $I$           | 195                    | 168                    | 174                    |
|                   | $R$           | -82                    | -130                   | -100                   |
|                   | $\zeta$       | -16,0                  | -29,4                  | -22,0                  |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1489,2                 | 1499,0                 | 1498,3                 |
| (N-terminális)    | $I$           | 100                    | 120                    | 116                    |
|                   | $R$           | -27                    | 77                     | 24                     |
|                   | $\zeta$       | -9,9                   | 24,1                   | 7,7                    |
| B3LYP/aug-cc-pVTZ |               | ForValNHMe- $\alpha_1$ | ForValNHMe- $\alpha_2$ | ForValNHMe- $\alpha_3$ |
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1726,5                 | 1726,0                 | 1726,0                 |
| (N-terminális)    | $I$           | 265                    | 265                    | 264                    |
|                   | $R$           | -135                   | -64                    | 26                     |
|                   | $\zeta$       | -22,0                  | -10,5                  | 4,2                    |
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1696,4                 | 1696,3                 | 1690,6                 |
| (C-terminális)    | $I$           | 208                    | 221                    | 239                    |
|                   | $R$           | 167                    | 161                    | 68                     |
|                   | $\zeta$       | 34,3                   | 30,9                   | 12,0                   |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1511,6                 | 1516,2                 | 1520,6                 |
| (C-terminális)    | $I$           | 183                    | 157                    | 165                    |
|                   | $R$           | -70                    | -122                   | -80                    |
|                   | $\zeta$       | -14,5                  | -29,4                  | -18,5                  |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1490,2                 | 1499,8                 | 1499,3                 |
| (N-terminális)    | $I$           | 101                    | 117                    | 112                    |
|                   | $R$           | -17                    | 80                     | 14                     |
|                   | $\zeta$       | -6,1                   | 25,7                   | 4,8                    |

**A.3. táblázat.** A  $\beta$ -ForValNHMe monomerek frekvenciái ( $\tilde{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), IR intenzitásai ( $I$ ,  $\text{km mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei ( $R$ ,  $10^{-44} \text{ esu}^2 \text{ cm}^2$ -ben) és robusztusságai ( $\zeta$ , ppm-ben) különböző elméleti szinteken. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

| B3LYP/6-31G*    |               | ForValNHMe- $\beta_1$ | ForValNHMe- $\beta_2$ | ForValNHMe- $\beta_3$ |
|-----------------|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1732,7                | 1734,6                | 1728,8                |
| (N-terminális)  | $I$           | 199                   | 212                   | 202                   |
|                 | $R$           | 2                     | 69                    | 23                    |
|                 | $\zeta$       | 0,5                   | 14,1                  | 5,0                   |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1705,3                | 1703,1                | 1700,8                |
| (C-terminális)  | $I$           | 289                   | 253                   | 277                   |
|                 | $R$           | -56                   | -65                   | -9                    |
|                 | $\zeta$       | -8,3                  | -10,9                 | -1,4                  |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1536,0                | 1538,5                | 1541,4                |
| (C-terminális)  | $I$           | 156                   | 153                   | 141                   |
|                 | $R$           | 2                     | 18                    | -7                    |
|                 | $\zeta$       | 0,5                   | 4,4                   | -1,8                  |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1488,6                | 1486,7                | 1484,0                |
| (N-terminális)  | $I$           | 170                   | 200                   | 207                   |
|                 | $R$           | 63                    | 94                    | 17                    |
|                 | $\zeta$       | 13,8                  | 17,6                  | 3,0                   |
| B3LYP/6-31++G** |               | ForValNHMe- $\beta_1$ | ForValNHMe- $\beta_2$ | ForValNHMe- $\beta_3$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1708,3                | 1710,9                | 1704,4                |
| (N-terminális)  | $I$           | 222                   | 249                   | 223                   |
|                 | $R$           | 15                    | 131                   | 65                    |
|                 | $\zeta$       | 3,0                   | 22,6                  | 12,5                  |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1686,8                | 1683,5                | 1680,2                |
| (C-terminális)  | $I$           | 393                   | 326                   | 368                   |
|                 | $R$           | -73                   | -128                  | -48                   |
|                 | $\zeta$       | -7,9                  | -16,6                 | -5,5                  |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1537,5                | 1528,6                | 1530,0                |
| (C-terminális)  | $I$           | 169                   | 180                   | 162                   |
|                 | $R$           | 1                     | 47                    | 29                    |
|                 | $\zeta$       | 0,3                   | 10,0                  | 6,8                   |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1497,5                | 1493,1                | 1487,5                |
| (N-terminális)  | $I$           | 165                   | 241                   | 273                   |
|                 | $R$           | 46                    | 47                    | -51                   |
|                 | $\zeta$       | 10,4                  | 7,3                   | -7,0                  |

| B3LYP/aug-cc-pVTZ |               | ForValNHMe- $\beta_1$ | ForValNHMe- $\beta_2$ | ForValNHMe- $\beta_3$ |
|-------------------|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1706,8                | 1709,4                | 1702,6                |
| (N-terminális)    | $I$           | 217                   | 237                   | 210                   |
|                   | $R$           | 10                    | 128                   | 62                    |
|                   | $\zeta$       | 2,0                   | 23,0                  | 12,6                  |
| amid-I            | $\tilde{\nu}$ | 1683,2                | 1681,2                | 1678,6                |
| (C-terminális)    | $I$           | 371                   | 316                   | 362                   |
|                   | $R$           | -67                   | -125                  | -45                   |
|                   | $\zeta$       | -7,6                  | -16,7                 | -5,2                  |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1535,2                | 1538,6                | 1543,0                |
| (C-terminális)    | $I$           | 160                   | 164                   | 151                   |
|                   | $R$           | -4                    | 13                    | -7                    |
|                   | $\zeta$       | -1,0                  | 3,0                   | -1,9                  |
| amid-II           | $\tilde{\nu}$ | 1494,5                | 1489,9                | 1483,5                |
| (N-terminális)    | $I$           | 164                   | 215                   | 225                   |
|                   | $R$           | 58                    | 99                    | 27                    |
|                   | $\zeta$       | 13,2                  | 17,2                  | 4,4                   |

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

|                          | amid-I (N-terminális) |     |     |         |
|--------------------------|-----------------------|-----|-----|---------|
|                          | $\tilde{\nu}$         | $I$ | $R$ | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1733,7                | 269 | -78 | -12,6   |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1735,2                | 261 | -30 | -4,9    |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1728,7                | 287 | -35 | -5,2    |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1733,5                | 254 | -98 | -16,8   |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1734,9                | 270 | -23 | -3,6    |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1733,4                | 268 | -97 | -15,7   |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1728,7                | 281 | -7  | -1,2    |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1734,5                | 272 | -43 | -6,9    |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1729,1                | 276 | -43 | -6,7    |
|                          | amid-I (centrum)      |     |     |         |
|                          | $\tilde{\nu}$         | $I$ | $R$ | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1709,8                | 56  | 19  | 14,3    |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1707,8                | 63  | 183 | 124,4   |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1704,6                | 70  | 22  | 13,7    |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1707,0                | 68  | 218 | 136,4   |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1708,7                | 66  | 26  | 16,9    |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1707,2                | 69  | 78  | 48,4    |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1705,4                | 60  | -25 | -18,0   |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1706,6                | 77  | 77  | 42,3    |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1704,2                | 63  | 147 | 100,4   |

|                          | amid-I (C-terminális)  |     |      |         |
|--------------------------|------------------------|-----|------|---------|
|                          | $\tilde{\nu}$          | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1687,6                 | 337 | -94  | -11,8   |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1687,7                 | 309 | -198 | -27,1   |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1677,3                 | 301 | -26  | -3,7    |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1687,9                 | 329 | -247 | -31,8   |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1685,5                 | 310 | -94  | -12,8   |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1681,7                 | 315 | -73  | -9,8    |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1684,1                 | 328 | -76  | -9,8    |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1679,4                 | 290 | -60  | -8,7    |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1684,0                 | 326 | -153 | -19,8   |
|                          | amid-II (C-terminális) |     |      |         |
|                          | $\tilde{\nu}$          | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1536,0                 | 145 | 26   | 6,9     |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1541,8                 | 140 | 40   | 11,0    |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1542,9                 | 125 | 14   | 4,4     |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1541,8                 | 145 | 34   | 9,2     |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1536,9                 | 145 | 24   | 6,4     |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1539,8                 | 123 | 17   | 5,5     |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1537,1                 | 147 | 14   | 3,7     |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1540,3                 | 123 | 16   | 4,9     |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1540,0                 | 145 | 32   | 8,7     |
|                          | amid-II (centrum)      |     |      |         |
|                          | $\tilde{\nu}$          | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1508,6                 | 255 | 231  | 34,4    |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1510,0                 | 246 | 335  | 51,4    |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1509,5                 | 223 | 204  | 34,6    |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1508,0                 | 292 | 303  | 39,3    |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1509,2                 | 208 | 292  | 53,2    |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1504,8                 | 307 | 287  | 35,2    |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1512,2                 | 178 | 196  | 41,9    |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1504,9                 | 232 | 326  | 52,9    |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1511,0                 | 206 | 241  | 44,3    |
|                          | amid-II (N-terminális) |     |      |         |
|                          | $\tilde{\nu}$          | $I$ | $R$  | $\zeta$ |
| ForValNHMe- $\beta_{11}$ | 1486,9                 | 257 | -192 | -27,9   |
| ForValNHMe- $\beta_{22}$ | 1483,5                 | 350 | -134 | -14,2   |
| ForValNHMe- $\beta_{33}$ | 1477,6                 | 329 | -76  | -8,6    |
| ForValNHMe- $\beta_{12}$ | 1485,5                 | 275 | -189 | -25,6   |
| ForValNHMe- $\beta_{21}$ | 1483,2                 | 334 | -177 | -19,8   |
| ForValNHMe- $\beta_{13}$ | 1485,5                 | 308 | -267 | -32,3   |
| ForValNHMe- $\beta_{31}$ | 1478,3                 | 309 | -119 | -14,3   |
| ForValNHMe- $\beta_{23}$ | 1481,8                 | 277 | -145 | -19,5   |
| ForValNHMe- $\beta_{32}$ | 1478,2                 | 266 | -109 | -15,2   |

**A.5. táblázat.** A  $\beta$ -For(Val)<sub>3</sub>NHMe trimerek ( $\tilde{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ -ben), IR intenzitásai ( $I$ ,  $\text{km mol}^{-1}$ -ben), rotátorerősségei ( $R$ ,  $10^{-44} \text{ esu}^2 \text{ cm}^2$ -ben) és robusztusságai ( $\zeta$ , ppm-ben) B3LYP / 6-31G\* elméleti szinten. A számolt frekvenciák SQM módszerrel skálázottak.

|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{111}$ | ForValNHMe- $\beta_{112}$ | ForValNHMe- $\beta_{113}$ |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1733,4                    | 1733,5                    | 1733,2                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 263                       | 267                       | 263                       |
|                 | $R$           | -71                       | -62                       | -53                       |
|                 | $\zeta$       | -11,7                     | -10,1                     | -8,7                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1696,1                    | 1695,3                    | 1693,8                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 19                        | 14                        | 23                        |
|                 | $R$           | 44                        | 276                       | 115                       |
|                 | $\zeta$       | 99,5                      | 838,8                     | 213,0                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1683,3                    | 1683,4                    | 1679,1                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 428                       | 427                       | 399                       |
|                 | $R$           | -159                      | -331                      | -160                      |
|                 | $\zeta$       | -15,7                     | -32,7                     | -16,8                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1710,3                    | 1708,3                    | 1708,2                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 130                       | 126                       | 146                       |
|                 | $R$           | -70                       | -106                      | -91                       |
|                 | $\zeta$       | -23,3                     | -36,0                     | -26,6                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1536,7                    | 1538,5                    | 1540,8                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 139                       | 141                       | 120                       |
|                 | $R$           | 34                        | 39                        | 21                        |
|                 | $\zeta$       | 9,3                       | 10,8                      | 6,6                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1511,7                    | 1511,2                    | 1512,0                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 106                       | 119                       | 121                       |
|                 | $R$           | 560                       | 600                       | 587                       |
|                 | $\zeta$       | 200,7                     | 191,3                     | 183,7                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1503,0                    | 1500,1                    | 1501,3                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 404                       | 377                       | 452                       |
|                 | $R$           | -264                      | -190                      | -318                      |
|                 | $\zeta$       | -24,6                     | -19,0                     | -26,5                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1486,8                    | 1486,0                    | 1485,9                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 369                       | 341                       | 418                       |
|                 | $R$           | -271                      | -277                      | -253                      |
|                 | $\zeta$       | -27,3                     | -30,3                     | -22,5                     |

|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{121}$ | ForValNHMe- $\beta_{122}$ | ForValNHMe- $\beta_{123}$ |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1733,0                    | 1733,0                    | 1733,0                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 250                       | 253                       | 250                       |
|                 | $R$           | -66                       | -65                       | -53                       |
|                 | $\zeta$       | -11,4                     | -11,1                     | -9,3                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1696,5                    | 1696,1                    | 1694,9                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 50                        | 34                        | 57                        |
|                 | $R$           | 273                       | 427                       | 277                       |
|                 | $\zeta$       | 233,5                     | 537,8                     | 205,9                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1680,9                    | 1681,9                    | 1675,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 380                       | 386                       | 345                       |
|                 | $R$           | -324                      | -443                      | -262                      |
|                 | $\zeta$       | -36,0                     | -48,3                     | -31,9                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1709,6                    | 1708,3                    | 1707,1                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 155                       | 148                       | 176                       |
|                 | $R$           | -117                      | -104                      | -132                      |
|                 | $\zeta$       | -32,4                     | -30,3                     | -32,1                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1537,5                    | 1540,6                    | 1542,5                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 139                       | 135                       | 124                       |
|                 | $R$           | 31                        | 46                        | 17                        |
|                 | $\zeta$       | 8,5                       | 13,1                      | 5,3                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1515,6                    | 1515,7                    | 1513,9                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 79                        | 84                        | 96                        |
|                 | $R$           | 527                       | 531                       | 557                       |
|                 | $\zeta$       | 253,5                     | 240,3                     | 220,6                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1501,7                    | 1500,5                    | 1497,6                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 472                       | 489                       | 442                       |
|                 | $R$           | -147                      | -69                       | -150                      |
|                 | $\zeta$       | -11,7                     | -5,3                      | -12,7                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1484,6                    | 1484,6                    | 1483,7                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 429                       | 448                       | 523                       |
|                 | $R$           | -225                      | -220                      | -262                      |
|                 | $\zeta$       | -19,5                     | -18,3                     | -18,7                     |

|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{131}$ | ForValNHMe- $\beta_{132}$ | ForValNHMe- $\beta_{133}$ |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1733,2                    | 1733,3                    | 1733,1                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 259                       | 262                       | 259                       |
|                 | $R$           | -82                       | -72                       | -67                       |
|                 | $\zeta$       | -13,7                     | -11,9                     | -11,2                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1692,9                    | 1692,3                    | 1690,1                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 44                        | 18                        | 29                        |
|                 | $R$           | 25                        | 138                       | 52                        |
|                 | $\zeta$       | 24,5                      | 319,7                     | 74,9                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1677,8                    | 1678,0                    | 1673,5                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 384                       | 397                       | 373                       |
|                 | $R$           | -138                      | -200                      | -102                      |
|                 | $\zeta$       | -15,1                     | -21,2                     | -11,4                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1706,3                    | 1705,9                    | 1705,7                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 152                       | 158                       | 169                       |
|                 | $R$           | -31                       | -27                       | -31                       |
|                 | $\zeta$       | -8,8                      | -7,2                      | -7,9                      |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1537,5                    | 1539,4                    | 1541,8                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 141                       | 139                       | 119                       |
|                 | $R$           | 20                        | 39                        | 21                        |
|                 | $\zeta$       | 5,4                       | 10,9                      | 6,8                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1517,1                    | 1515,6                    | 1515,4                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 59                        | 67                        | 69                        |
|                 | $R$           | 359                       | 410                       | 412                       |
|                 | $\zeta$       | 230,3                     | 233,5                     | 228,3                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1500,2                    | 1498,7                    | 1498,6                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 442                       | 428                       | 454                       |
|                 | $R$           | 26                        | 23                        | -32                       |
|                 | $\zeta$       | 2,2                       | 2,0                       | -2,7                      |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1484,8                    | 1484,5                    | 1484,0                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 482                       | 512                       | 581                       |
|                 | $R$           | -362                      | -354                      | -399                      |
|                 | $\zeta$       | -28,0                     | -25,7                     | -25,5                     |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{211}$ | ForValNHMe- $\beta_{212}$ | ForValNHMe- $\beta_{213}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1734,4                    | 1734,3                    | 1734,5                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 271                       | 273                       | 270                       |
|                 | $R$           | 1                         | 4                         | 10                        |
|                 | $\zeta$       | 0,2                       | 0,7                       | 1,6                       |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1694,8                    | 1694,2                    | 1692,5                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 19                        | 16                        | 15                        |
|                 | $R$           | 52                        | 272                       | 132                       |
|                 | $\zeta$       | 115,9                     | 717,0                     | 364,6                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1681,9                    | 1681,9                    | 1678,4                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 412                       | 407                       | 394                       |
|                 | $R$           | -167                      | -338                      | -181                      |
|                 | $\zeta$       | -17,1                     | -35,0                     | -19,3                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1710,0                    | 1708,0                    | 1708,0                    |



|                 |               |                           |                           |                           |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| (C-terminális)  | $I$           | 125                       | 122                       | 139                       |
|                 | $R$           | -77                       | -97                       | -87                       |
|                 | $\zeta$       | -26,4                     | -34,1                     | -26,9                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1536,4                    | 1541,1                    | 1542,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 137                       | 142                       | 122                       |
|                 | $R$           | 35                        | 39                        | 19                        |
|                 | $\zeta$       | 9,9                       | 10,7                      | 6,1                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1513,7                    | 1513,4                    | 1512,8                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 117                       | 124                       | 125                       |
|                 | $R$           | 619                       | 628                       | 636                       |
|                 | $\zeta$       | 200,7                     | 191,9                     | 192,8                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1504,9                    | 1502,1                    | 1501,7                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 345                       | 360                       | 372                       |
|                 | $R$           | -302                      | -239                      | -304                      |
|                 | $\zeta$       | -33,0                     | -25,0                     | -30,8                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1483,0                    | 1482,8                    | 1482,5                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 395                       | 179                       | 415                       |
|                 | $R$           | -227                      | -115                      | -212                      |
|                 | $\zeta$       | -21,4                     | -24,0                     | -19,0                     |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{221}$ | ForValNHMe- $\beta_{222}$ | ForValNHMe- $\beta_{223}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1734,8                    | 1734,5                    | 1734,9                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 259                       | 263                       | 261                       |
|                 | $R$           | 6                         | 6                         | 13                        |
|                 | $\zeta$       | 1,0                       | 1,0                       | 2,2                       |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1696,4                    | 1695,9                    | 1694,6                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 39                        | 27                        | 40                        |
|                 | $R$           | 231                       | 381                       | 249                       |
|                 | $\zeta$       | 250,6                     | 608,8                     | 261,6                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1680,3                    | 1681,5                    | 1676,2                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 366                       | 372                       | 344                       |
|                 | $R$           | -268                      | -384                      | -224                      |
|                 | $\zeta$       | -30,8                     | -43,5                     | -27,4                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1709,5                    | 1708,4                    | 1707,5                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 152                       | 142                       | 167                       |
|                 | $R$           | -112                      | -96                       | -112                      |
|                 | $\zeta$       | -31,6                     | -29,0                     | -28,9                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1538,3                    | 1539,6                    | 1542,7                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 139                       | 133                       | 124                       |
|                 | $R$           | 29                        | 47                        | 17                        |
|                 | $\zeta$       | 8,0                       | 13,7                      | 5,4                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1516,0                    | 1515,8                    | 1513,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 91                        | 94                        | 97                        |
|                 | $R$           | 599                       | 594                       | 629                       |
|                 | $\zeta$       | 250,0                     | 239,2                     | 245,7                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1502,3                    | 1501,0                    | 1498,5                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 359                       | 377                       | 341                       |
|                 | $R$           | -181                      | -111                      | -189                      |

|                 |               |                           |                           |                           |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                 | $\zeta$       | −19,0                     | −11,1                     | −20,9                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1482,7                    | 1482,1                    | 1481,8                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 381                       | 415                       | 367                       |
|                 | $R$           | −170                      | −143                      | −147                      |
|                 | $\zeta$       | −16,6                     | −12,8                     | −14,8                     |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{231}$ | ForValNHMe- $\beta_{232}$ | ForValNHMe- $\beta_{233}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1734,1                    | 1734,3                    | 1734,1                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 268                       | 269                       | 268                       |
|                 | $R$           | −25                       | −16                       | −12                       |
|                 | $\zeta$       | −4,1                      | −2,6                      | −1,9                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1691,5                    | 1690,9                    | 1688,2                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 56                        | 26                        | 25                        |
|                 | $R$           | 28                        | 135                       | 69                        |
|                 | $\zeta$       | 21,2                      | 216,7                     | 115,2                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1676,4                    | 1676,5                    | 1672,6                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 365                       | 379                       | 368                       |
|                 | $R$           | −128                      | −189                      | −103                      |
|                 | $\zeta$       | −14,7                     | −21,0                     | −11,7                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1705,4                    | 1705,3                    | 1705,4                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 140                       | 151                       | 159                       |
|                 | $R$           | −29                       | −17                       | −30                       |
|                 | $\zeta$       | −8,8                      | −4,9                      | −8,1                      |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1537,3                    | 1540,7                    | 1541,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 141                       | 143                       | 121                       |
|                 | $R$           | 18                        | 33                        | 16                        |
|                 | $\zeta$       | 4,8                       | 8,8                       | 5,2                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1514,7                    | 1513,8                    | 1513,6                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 60                        | 69                        | 74                        |
|                 | $R$           | 431                       | 479                       | 474                       |
|                 | $\zeta$       | 271,0                     | 263,1                     | 243,2                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1499,6                    | 1498,1                    | 1498,0                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 326                       | 307                       | 333                       |
|                 | $R$           | −30                       | −32                       | −78                       |
|                 | $\zeta$       | −3,4                      | −4,0                      | −8,8                      |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1477,8                    | 1477,4                    | 1477,7                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 448                       | 511                       | 282                       |
|                 | $R$           | −51                       | −77                       | −41                       |
|                 | $\zeta$       | −4,2                      | −5,6                      | −5,3                      |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{311}$ | ForValNHMe- $\beta_{312}$ | ForValNHMe- $\beta_{313}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1728,2                    | 1728,1                    | 1728,2                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 278                       | 282                       | 277                       |
|                 | $R$           | 10                        | 15                        | 15                        |
|                 | $\zeta$       | 1,6                       | 2,3                       | 2,4                       |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1692,7                    | 1692,1                    | 1690,4                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 14                        | 10                        | 28                        |
|                 | $R$           | 18                        | 231                       | 94                        |
|                 | $\zeta$       | 57,3                      | 936,8                     | 140,3                     |

|                 |               |                           |                           |                           |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1680,4                    | 1680,0                    | 1675,7                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 426                       | 418                       | 392                       |
|                 | $R$           | -183                      | -334                      | -186                      |
|                 | $\zeta$       | -18,1                     | -33,6                     | -20,0                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1710,0                    | 1707,0                    | 1707,7                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 132                       | 130                       | 145                       |
|                 | $R$           | -62                       | -92                       | -72                       |
|                 | $\zeta$       | -20,2                     | -30,3                     | -21,3                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1536,3                    | 1540,6                    | 1542,0                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 139                       | 143                       | 125                       |
|                 | $R$           | 38                        | 42                        | 18                        |
|                 | $\zeta$       | 10,4                      | 11,4                      | 5,7                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1515,3                    | 1514,3                    | 1514,1                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 117                       | 113                       | 119                       |
|                 | $R$           | 504                       | 544                       | 488                       |
|                 | $\zeta$       | 162,9                     | 182,7                     | 156,2                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1506,4                    | 1504,1                    | 1501,7                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 324                       | 353                       | 371                       |
|                 | $R$           | -292                      | -255                      | -267                      |
|                 | $\zeta$       | -34,0                     | -27,2                     | -27,0                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1478,0                    | 1477,8                    | 1477,6                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 377                       | 392                       | 346                       |
|                 | $R$           | -102                      | -113                      | -63                       |
|                 | $\zeta$       | -10,0                     | -10,7                     | -6,7                      |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{321}$ | ForValNHMe- $\beta_{322}$ | ForValNHMe- $\beta_{323}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1728,7                    | 1728,7                    | 1728,7                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 271                       | 275                       | 271                       |
|                 | $R$           | -14                       | -7                        | -5                        |
|                 | $\zeta$       | -2,2                      | -1,1                      | -0,7                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1692,9                    | 1692,7                    | 1691,2                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 37                        | 24                        | 47                        |
|                 | $R$           | 198                       | 332                       | 212                       |
|                 | $\zeta$       | 224,4                     | 595,1                     | 191,7                     |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1677,9                    | 1678,7                    | 1673,4                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 393                       | 394                       | 364                       |
|                 | $R$           | -264                      | -360                      | -224                      |
|                 | $\zeta$       | -28,3                     | -38,5                     | -25,8                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1708,8                    | 1707,4                    | 1707,2                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 149                       | 142                       | 163                       |
|                 | $R$           | -74                       | -66                       | -71                       |
|                 | $\zeta$       | -21,4                     | -19,8                     | -18,7                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1536,9                    | 1540,7                    | 1541,5                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 139                       | 136                       | 119                       |
|                 | $R$           | 33                        | 48                        | 24                        |
|                 | $\zeta$       | 9,2                       | 13,6                      | 7,7                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1516,5                    | 1516,3                    | 1515,6                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 85                        | 98                        | 87                        |

|                 |               |                           |                           |                           |
|-----------------|---------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                 | $R$           | 539                       | 538                       | 555                       |
|                 | $\zeta$       | 240,2                     | 209,1                     | 241,1                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1504,2                    | 1502,9                    | 1501,4                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 373                       | 390                       | 411                       |
|                 | $R$           | -225                      | -166                      | -247                      |
|                 | $\zeta$       | -22,7                     | -16,0                     | -22,6                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1477,3                    | 1476,0                    | 1477,3                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 360                       | 436                       | 360                       |
|                 | $R$           | -111                      | -105                      | -97                       |
|                 | $\zeta$       | -11,5                     | -8,9                      | -10,0                     |
|                 |               | ForValNHMe- $\beta_{331}$ | ForValNHMe- $\beta_{332}$ | ForValNHMe- $\beta_{333}$ |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1728,4                    | 1728,4                    | 1727,9                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 281                       | 283                       | 279                       |
|                 | $R$           | -27                       | -16                       | -15                       |
|                 | $\zeta$       | -4,2                      | -2,5                      | -2,3                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1689,9                    | 1689,2                    | 1686,9                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 48                        | 24                        | 25                        |
|                 | $R$           | -8                        | 81                        | 32                        |
|                 | $\zeta$       | -7,5                      | 142,8                     | 52,8                      |
| amid-I centrum  | $\tilde{\nu}$ | 1674,7                    | 1674,6                    | 1671,1                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 378                       | 387                       | 377                       |
|                 | $R$           | -112                      | -162                      | -99                       |
|                 | $\zeta$       | -12,5                     | -17,6                     | -11,0                     |
| amid-I          | $\tilde{\nu}$ | 1705,7                    | 1704,7                    | 1705,2                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 149                       | 155                       | 162                       |
|                 | $R$           | -24                       | -6                        | -14                       |
|                 | $\zeta$       | -6,9                      | -1,6                      | -3,6                      |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1537,9                    | 1537,5                    | 1543,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 143                       | 137                       | 123                       |
|                 | $R$           | 24                        | 43                        | 18                        |
|                 | $\zeta$       | 6,5                       | 11,9                      | 5,6                       |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1516,3                    | 1514,8                    | 1515,3                    |
| (C-terminális)  | $I$           | 79                        | 77                        | 78                        |
|                 | $R$           | 389                       | 436                       | 457                       |
|                 | $\zeta$       | 186,8                     | 215,1                     | 222,0                     |
| amid-II centrum | $\tilde{\nu}$ | 1501,5                    | 1500,2                    | 1500,6                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 302                       | 307                       | 339                       |
|                 | $R$           | -104                      | -112                      | -179                      |
|                 | $\zeta$       | -13,0                     | -13,7                     | -19,9                     |
| amid-II         | $\tilde{\nu}$ | 1475,0                    | 1475,3                    | 1475,0                    |
| (N-terminális)  | $I$           | 668                       | 685                       | 551                       |
|                 | $R$           | -228                      | -233                      | -239                      |
|                 | $\zeta$       | -12,6                     | -12,6                     | -16,0                     |

# Irodalomjegyzék

- [1] J. M. Bijvoet, A. F. Peerdeman, A. J. Van Bommel, *Nature* 168 (1951) 271.
- [2] P. R. Bunker, P. Jensen, *Fundamentals of Molecular Symmetry*, IOP, 2005, Ch. 13.
- [3] P. R. Bunker, P. Jensen, *Molecular Symmetry and Spectroscopy*, 2nd Edition, NRC, 2006, p. 2.
- [4] M. A. Lowe, P. J. Stephens, G. A. Segal, *Chem. Phys. Lett.* (123) (1986) 108.
- [5] D. O. Henderson, P. L. Polavarapu, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 7110.
- [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] S. Cradock, A. J. Hinchcliffe, Matrix Isolation, Cambridge University Press, 1975.
- [25] Y. Grenie, J. Lassegues, C. Garrigou-Lagrange, J. Chem. Phys. 53 (1970) 2980.
- [26] G. G. Sheina, E. D. Radchenko, A. Y. Ivanov, S. G. Stepanian, Y. P. Blagoi, Zh. Fiz. Khim. 62 (1988) 985.
- [27] I. D. Reva, S. Stepanian, A. M. Plokhotnichenko, E. D. Radchenko, G. G. Sheina, Y. Blagoi, J. Mol. Struct. 318 (1994) 1.
- [28] S. G. Stepanian, I. D. Reva, E. D. Radchenko, L. Adamowicz, J. Phys. Chem. A 105 (2001) 10664.
- [29] M. T. S. Rosado, M. L. R. S. Duarte, R. Fausto, J. Mol. Struct. 410-411 (1997) 343.
- [30] S. G. Stepanian, I. D. Reva, E. D. Radchenko, L. Adamowicz, J. Phys. Chem. A 103 (1999) 4404.
- [31] B. Lambie, R. Ramaekers, G. Maes, J. Phys. Chem. A 108 (2004) 10426.
- [32] S. Jarmelo, L. Lapinski, M. J. Nowak, P. R. Carey, R. Fausto, J. Phys. Chem. A 109 (2005) 5689.
- [33] R. Ramaekers, J. Pajak, M. Rospenk, G. Maes, Spectrochim. Acta A 61 (2005) 1347.
- [34] A. Kaczor, I. D. Reva, L. M. Proniewicz, R. Fausto, J. Phys. Chem. A 110 (2006) 2360.
- [35] A. Kaczor, I. D. Reva, L. M. Proniewicz, R. Fausto, J. Phys. Chem. A 111 (2007) 2957.
- [36] J. C. Dobrowolski, R. K. M. H. Jamróz, J. E. Rode, J. Sadlej, ChemPhysChem 8 (2007) 1085.
- [37] C. G.-L. Y. Grenie, M. Avignon, J. Mol. Struct. 24 (1975) 293.
- [38] H. Torii, T. Tatsumi, T. Kanazawa, M. Tasumi, J. Phys. Chem. B 102 (1998) 309.
- [39] G. Pohl, A. Perczel, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, Phys. Chem. Chem. Phys. 9 (2007) 4698.
- [40] G. Bazsó, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, J. Mol. Struct. 1025 (2012) 33.
- [41] G. Bazsó, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, J. Phys. Chem. A 116 (43) (2012) 10539.
- [42] G. Bazsó, E. Najbauer, G. Magyarfalvi, T. Gy., J. Phys. Chem. A 117 (9) (2013) 1952.
- [43] E. Najbauer, G. Bazsó, G. Sándor, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, J. Phys. Chem B 118 (2014) 2093.
- [44] T. Beke, C. Somlai, G. Magyarfalvi, A. Perczel, G. Tarczay, J. Phys. Chem. B 113 (2009) 7918.
- [45] G. Bazsó, S. Góbi, G. Tarczay, J. Phys. Chem. A 116 (2012) 4823.
- [46] G. Bazsó, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, Magyar Kémiai Folyóirat, Kémiai közlemények 112 (2006) 137.
- [47] D. Schlosser, F. Devlin, K. Jalkanen, P. Stephens, Chem. Phys. Lett. 88 (1982) 286.
- [48] G. Tarczay, G. Magyarfalvi, E. Vass, Angew. Chem. 45 (2006) 1775.
- [49] G. Pohl, A. Perczel, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, Tetrahedron 64 (2008) 2126.
- [50] G. Tarczay, S. Góbi, G. Magyarfalvi, E. Vass, Vibrational Spectroscopy (invited article, Prominent Young Vibrational Spectroscopists issue) 50 (2009) 21.
- [51] S. Góbi, K. Knapp, E. Vass, Z. Majer, G. Magyarfalvi, M. Hollósi, G. Tarczay, Phys. Chem. Chem. Phys. 12 (2010) 13603.
- [52] S. Góbi, E. Vass, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, Phys. Chem. Chem. Phys. (Weak Hydrogen Bonds - Strong Effects? Special Issue) 13 (2011) 13972.
- [53] L. Rosenfeld, Z. Physik 52 (1929) 161.

- [54] P. J. Stephens, *J. Phys. Chem.* 89 (1985) 748.
- [55] L. A. Nafie, T. B. Freedman, *J. Chem. Phys.* 78 (1983) 7108.
- [56] P. J. Stephens, *J. Phys. Chem.* 91 (1987) 1712.
- [57] R. D. Amos, *Chem. Phys. Lett.* 133 (1987) 21.
- [58] D. Yang, A. Rauk, *J. Chem. Phys.* 100 (1994) 7995.
- [59] K. L. Bak, P. Jorgensen, T. Helgaker, K. Ruud, H. J. A. Hensen, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 8873.
- [60] P. J. Stephens, C. Ashvar, F. Devlin, J. Cheeseman, M. Frisch, *Mol. Phys.* 89 (1996) 579.
- [61] K. L. Bak, O. Bludsky, P. Jorgensen, *J. Chem. Phys.* 103 (1995) 10548.
- [62] J. He, X. Cao, L. A. Nafie, T. B. Freedman, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 11320.
- [63] F. London, *J. Phys. Radium* 8 (1937) 397.
- [64] R. Ditchfield, *Mol. Phys.* 27 (1974) 789.
- [65] 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.).
- [66] PQS Version 3.2, Parallel Quantum Solutions, 2013 Green Acres Rd., Fayetteville, AR. 72703.
- [67] V. P. Nicu, J. Neugebauer, E. J. Baerends, *J. Phys. Chem. A* 112 (2008) 6978.
- [68] W. H. E. Debie, P. Bultinck, B. van der Veken, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 10 (2008) 3498.
- [69] V. P. Nicu, E. J. Baerends, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11 (2009) 6107.
- [70] L. Andrews, M. Moskovits, *Chemistry and Physics of Matrix-Isolated Species*, North Holland, 1989.
- [71] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648.
- [72] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* 37 (1988) 785.
- [73] W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople, 1972 56 (*J. Chem. Phys.*) 2257.
- [74] 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.
- [75] P. Pulay, G. Fogarasi, G. Pongor, J. E. Boggs, A. Vargha, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 7037.
- [76] J. Baker, A. A. Jarzecki, P. Pulay, *J. Phys. Chem. A* 102 (1998) 1412.
- [77] S. Göbi, G. Magyarfalvi, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 16130.
- [78] M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, V. Barone, *J. Chem. Phys.* 117 (2002) 43.

- [79] C. Peng, H. B. Schlegel, *Israel J. Chem.* 33 (1993) 449.
- [80] C. Peng, P. Y. Ayala, H. B. Schlegel, M. J. Frisch, *J. Comput. Chem.* 17 (1996) 49.
- [81] W. Kuhn, *T. Farad. Soc.* 26 (1930) 293.
- [82] E. D. Gussem, P. Bultinck, M. Feledziak, J. Marchand-Brynaert, C. V. Stevens, W. Herrebout, *Phys. Chem. Chem. Phys* 14 (2012) 8562.
- [83] V. P. Nicu, E. Debie, W. Herrebout, B. van der Veken, P. Bultinck, E. J. Baerends, *Chirality* 21 (2009) E287.
- [84] D. M. Byler, H. Susi, *Biopolymers* 25 (1986) 469.
- [85] R. Schweitzer-Stenner, *Biophys. J.* 83 (2002) 523.
- [86] N. Berova, P. L. Polavarapu, K. Nakanishi, R. W. Woody, *Comprehensive Chiroptical Spectroscopy*, Wiley, 2012.
- [87] W. Surewicz, H. H. Mantsch, *Biochim. Biophys. Acta.* 952 (1988) 115.
- [88] W. Surewicz, H. H. Mantsch, D. Chapman, *Biochemistry* 32 (1993) 389.
- [89] P. Pancoska, L. Wang, T. A. Keiderling, *Protein. Sci.* 2 (1993) 411.
- [90] K. Oh, J. Han, K. Lee, S. Hahn, H. Han, M. Cho, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 13355.
- [91] D. K. Graff, B. Pastrana-Rios, S. Y. Venyaminov, F. G. Prendergast, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11282.
- [92] M. Diem, P. J. Gotkin, J. M. Kupfer, A. P. Tindall, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 8103.
- [93] M. Diem, P. J. Gotkin, J. M. Kupfer, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 5644.
- [94] M. Diem, E. Photos, H. Khouri, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6829.
- [95] M. Diem, P. L. Polavarapu, M. Oboodi, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3329.
- [96] B. B. Lai, M. Diem, P. L. Polavarapu, M. Oboodi, T. B. Freedman, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3336.
- [97] T. B. Freedman, M. Diem, P. L. Polavarapu, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 3343.
- [98] L. A. Nafie, M. R. Oboodi, T. B. Freedman, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 7449.
- [99] S. Yasui, T. A. Keiderling, R. Katachai, *Biopolymers* 26 (1987) 1407.
- [100] T. A. Keiderling, R. A. G. D. Silva, G. Yoder, R. K. Dukor, *Bioorg. & Med. Chem.* 7 (1999) 133.
- [101] H. Chi, A. Lakhani, A. Roy, M. Nakaema, T. A. Keiderling, *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 12744.
- [102] V. Baumruk, D. F. Huo, R. K. Dukor, T. A. Keiderling, D. Lelievre, A. Brack, *Biopolymers* 34 (1994) 1115.
- [103] T. A. Keiderling, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6 (2002) 682.
- [104] S. Yasui, T. A. Keiderling, G. M. Bonora, C. Toniolo, *Biopolymers* 25 (1986) 79.
- [105] G. Yoder, A. Polese, R. A. G. D. Silva, F. Formaggio, M. Crisma, Q. B. Broxterman, J. Kamphuis, C. Toniolo, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 10278.
- [106] 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.



- [107] K. Lee, S. Hahn, K. Oh, J. S. Choi, C. Joo, H. Lee, H. Han, M. Cho, J. Phys. Chem. B 110 (2006) 18834.
- [108] A. Borics, R. F. Murphy, S. Lovas, Biopolymers 85 (2007) 1.
- [109] M. Miyazawa, K. Inouye, T. Hayakawa, Y. Kyogoku, H. Sugeta, Appl. Spectr. 50 (1996) 644.
- [110] T. A. Keiderling, Circular Dichroism: Principles and Applications, 2nd Edition, Wiley, 2000, 621.
- [111] R. Schweitzer-Stenner, Vibr. Spectrosc. 42 (2006) 98.
- [112] E. Vass, M. Hollósi, R. B. F. Besson, Chem. Rev. 103 (2003) 1917.
- [113] H. Ito, Biospectroscopy 2 (1996) 17.
- [114] P. Bour, T. A. Keiderling, J. Am. Chem. Soc. 115 (1993) 9602.
- [115] H. G. Bohr, K. J. Jalkanen, M. Elstner, K. F. S. Suhai, Chem. Phys. 246 (1999) 13.
- [116] W. G. Han, K. J. Jalkanen, M. Elstner, S. Suhai, J. Phys. Chem. B 102 (1998) 2587.
- [117] M. Knapp-Mohammady, K. J. Jalkanen, F. Nardi, R. C. Wade, S. Suhai, Chem. Phys. 240 (1999) 63.
- [118] P. Bour, T. A. Keiderling, J. Mol. Struct. (THEOCHEM) 675 (2004) 95.
- [119] P. Bour, J. Kubelka, T. A. Keiderling, Biopolymers 65 (2002) 45.
- [120] R. A. G. D. Silva, S. Yasui, J. Kubelka, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo, T. A. Keiderling, Biopolymers 65 (2002) 229.
- [121] J. Kubelka, R. A. G. D. Silva, T. A. Keiderling, J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 5325.
- [122] P. Bour, J. Kim, J. Kapitán, R. P. Hammer, R. Huang, L. Wu, T. A. Keiderling, Chirality 20 (2008) 1104.
- [123] E. Vass, Z. Majer, M. H. K. Köhalmly, Chirality 22 (2010) 762.
- [124] J. Kim, J. Kapitán, A. Lakhani, P. Bour, T. A. Keiderling, Theor. Chem. Acc. 119 (2008) 81.
- [125] P. Bour, J. Sopková, L. Bednářová, P. Malon, T. A. Keiderling, J. Comp. Chem. 18 (1997) 646.
- [126] J. Kubelka, P. Bour, T. A. Keiderling, Quantum mechanical calculations of peptide vibrational force fields and spectral intensities, in: A. Barth, P. I. Haris (Eds.), Biological and Biomedical Infrared Spectroscopy, IOS Press, 2009.
- [127] J. Kubelka, T. A. Keiderling, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 6142.
- [128] J. Kubelka, T. A. Keiderling, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 12048.
- [129] P. Bour, J. Kubelka, T. A. Keiderling, Biopolymers 53 (2000) 380.
- [130] 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.
- [131] J. Kubelka, R. Huang, T. A. Keiderling, J. Phys. Chem. B 109 (2005) 8231.
- [132] J. A. Grahnen, K. E. Amunson, J. Kubelka, J. Phys. Chem. B 114 (13011).
- [133] J. H. Choi, M. Cho, J. Chem. Phys. 120 (2004) 4383.
- [134] J. H. Choi, J. S. Kim, M. Cho, J. Chem. Phys. 122 (2005) 174903.

- [135] J. Choi, M. Cho, Computational Linear and Nonlinear IR Spectroscopy of Amide-I Vibrations in Proteins, in: A. Barth, P. I. Haris (Eds.), Biological and Biomedical Infrared Spectroscopy, IOS Press, 2009.
- [136] R. Schweitzer-Stenner, *J. Phys. Chem B* 116 (2012) 4141.
- [137] S. Góbi, G. Magyarfalvi, G. Tarczay, 2015, *Chirality* 27 (2015) 625–634.
- [138] D. Seebach, A. K. Beck, D. Bierbaum, *Chem. & Biodiv.* 1 (2004) 1111.
- [139] G. Cardillo, C. Tomasini, *Chem. Soc. Rev.* 25 (1996) 117.
- [140] D. Seebach, J. Gardiner, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 1366.
- [141] W. S. Horne, S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 1399.
- [142] W. DeGrado, J. Schneider, Y. Hamuro, *J. Pept. Res.* 54 (1999) 206.
- [143] D. Seebach, J. V. Schreiber, S. Abele, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *Helv. Chim. Acta* 83 (2000) 34.
- [144] D. Seebach, D. F. Hook, *Biopolymers* 84 (2000) 23.
- [145] T. Hintermann, D. Seebach, *Chimia* 51 (1997) 244.
- [146] D. Seebach, M. Albert, P. I. Arvidsson, M. Rueping, J. V. Schreiber, *Chimia* 55 (2001) 345.
- [147] J. Frackenpohl, P. I. Arvidsson, J. V. Schreiber, D. Seebach, *ChemBioChem* 2 (2001) 445.
- [148] K. Möhle, R. Günther, M. Thormann, N. Sewald, H. Hofmann, *Biopolymers* 50 (1999) 167.
- [149] J. Podlech, D. Seebach, *Angew. Chem.* 34 (1995) 471.
- [150] A. Müller, C. Vogt, N. Sewald, *Synthesis* (1998) 837.
- [151] M. G. Paterlini, T. B. Freedman, L. A. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 5576.
- [152] F. Eker, X. Cao, R. S.-S. L. Nafie, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 14330.
- [153] V. P. Gupta, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 32 (1992) 239.
- [154] V. Baumruk, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 6939.
- [155] T. B. Freedman, L. A. Nafie, T. A. Keiderling, *Biopolymers* 37 (1995) 265.
- [156] B. Lal, L. A. Nafie, *Biopolymers* 21 (1982) 2161.
- [157] S. M. Decatur, J. Antonio, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 11914.
- [158] J. Torres, A. Kukul, J. M. Goodman, I. T. Arkin, *Biopolymers* 59 (2001) 396.
- [159] R. A. G. D. Silva, J. Kubelka, S. M. Decatur, P. Bour, T. A. Keiderling, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97 (2000) 8318.
- [160] S. Mizushima, T. Shimanouchi, M. Tsuboi, T. Sugita, K. Kurosaki, N. Mataga, R. Souda, *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 4639.
- [161] M. Tsuboi, T. Shimanouchi, S. Mizushima, *J. Am. Chem. Soc.* 81 (1959) 1406.
- [162] M. Avignon, P. V. Huong, J. Lascombe, M. Marraud, J. Neel, *Biopolymers* 8 (1969) 69.
- [163] V. Madison, J. Schellman, *Biopolymers* 9 (1970) 65.
- [164] V. Madison, J. Schellman, *Biopolymers* 9 (1970) 511.

- [165] E. R. Stimson, S. S. Zimmerman, H. A. Scheraga, *Macromolecules* 10 (1977) 1049.
- [166] Y. Koyama, H. Uchida, S. Oyama, T. Iwaki, K. Harada, *Biopolymers* 16 (1977) 1795.
- [167] V. Madison, K. D. Kopple, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 4855.
- [168] G. Liang, C. J. Rito, S. H. Gellman, *Biopolymers* 32 (1992) 293.
- [169] T. A. Martinek, G. K. Tóth, E. Vass, M. Hollósi, F. Fülöp, *Angew. Chem.* 41 (2002) 1718.
- [170] F. Schumann, A. Müller, M. Korsch, G. Müller, N. Sewald, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 12009.
- [171] M. Malešević, Z. Majer, E. Vass, T. Huber, U. Strijowski, M. Hollósi, N. Sewald, *Int. J. Pept. Res. Ther.* 12 (2006) 165.
- [172] A. Klamt, G. Schüürmann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1993) 799.
- [173] K. Shin-ya, H. Sugeta, S. Shin, Y. Hamada, Y. Katsumoto, K. Ohno, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 8598.
- [174] E. Vass, E. F. M. Hollósi, F. Fülöp, *Chirality* 18 (2006) 733.
- [175] T. B. Freedman, X. Cao, R. K. Dukor, L. A. Nafie, *Chirality* 15 (2003) 743.
- [176] J. He, P. L. Polavarapu, *J. Chem. Theor. Comput.* 1 (2005) 506.
- [177] T. Kuppens, W. Herrebout, B. V. der Veken, P. Bultinck, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 10191.
- [178] T. Buffeteau, D. Cavagnat, A. Bouchet, T. Brotin, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 1045.
- [179] M. Urbanova, V. Setnicka, F. J. Devlin, P. J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 6700.
- [180] J. Sadlej, J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, M. H. Jamroz, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 101.
- [181] M. Losada, H. Tran, Y. Xu, *J. Chem. Phys.* 128 (2008) 014508.
- [182] M. Losada, Y. Xu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 3127.
- [183] E. Debie, L. Jaspers, P. Bultinck, W. Herrebout, B. van der Veken, *Chem. Phys. Lett.* 450 (2008) 426.
- [184] J. Sadlej, J. C. Dobrowolski, J. E. Rode, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 1478.
- [185] S. Lopes, A. V. Domanskaya, R. Fausto, M. Rasanen, L. Khriachtchev, *J. Chem. Phys.* 133 (2010) 144507.
- [186] M. Gantenberg, M. Halupka, W. Sander, *Chem.-Eur. J.* 6 (2000) 1865.
- [187] W. Sander, M. Gantenberg, *Spectrochim. Acta, Part A* 62 (2005) 902.
- [188] F. Madeja, P. Markwick, M. Havenith, K. Nauta, R. E. Miller, *J. Chem. Phys.* 116 (2002) 2870.
- [189] F. Madeja, M. Havenith, K. Nauta, R. E. Miller, J. Chocholousova, P. Hobza, *J. Chem. Phys.* 120 (2004) 10554.
- [190] C. Emmeluth, M. A. Suhm, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5 (2003) 3094.
- [191] G. Bazsó, S. Góbi, G. Magyarfalvi, G. Zügner, A. Demeter, T. Turányi, S. Dóbbé, G. Tarczay, *Magyar Kémiai Folyóirat, Kémiai közlemények* 118 (2012) 65.
- [192] G. Yang, Y. Xu, *J. Chem. Phys.* 130 (2009) 164506.
- [193] V. P. Nicu, M. Heshmat, E. J. Baerends, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 8811.