

**KIS MODELLPEPTIDEK TÉRSZERKEZET-VIZSGÁLATA
ELMÉLETI KÉMIAI ÉS MÁTRIXIZOLÁCIÓS
MÓDSZEREKKEL**

Doktori (Ph. D.) értekezés

Pohl Gábor

Kémia Doktori Iskola

Vezetője: Dr. Inzelt György D. Sc.

Szintetikus kémia, anyagtudomány, biomolekuláris kémia doktori program

Vezetője: Dr. Perczel András D. Sc.

Témavezető: Dr. Perczel András D. Sc., egyetemi tanár

ELTE Kémiai Intézet

Budapest

2011

Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Perczel Andrásnak, aki bevezetett a biomolekulák modellezésének rejtelmeibe, és mindvégig segítette, támogatta munkámat. Rengeteget tanultam tőle a kutatói szemléletmódról, lelkesedésről, aminek alapvető szerepe volt e munka elkészültében.

Hálával tartozom Dr. Hollósi Miklósnak és Dr. Hudecz Ferencnek, a Szerves Kémiai Tanszék vezetőinek, hogy munkámat a tanszéken lehetővé tették.

Külön köszönet illeti Dr. Tarczay Györgyöt, amiért megismertette velem a mátrixizolációs IR spektroszkópiát, segített az olykor igen hosszú mérések lebonyolításában, és időt nem kímélve, sok ötlettel, segítséggel és javaslattal mozdította előre e munka megszületését.

Dr. Magyarfalvi Gábornak a rezgési spektrumok számolásában nyújtott segítségéért, Dr. Vass Elemérnek az oldatfázisú VCD mérésekben nyújtott segítségéért jár köszönet.

Dr. Csizmadia Imrének köszönöm értékes szakmai tanácsait, melyek nagy segítségemre voltak β -peptidek szerkezetvizsgálatával kapott eredményeim értelmezése során.

Nem is lehet felsorolni a rengeteg segítséget, amit közvetlen munkatársaimtól kaptam. Név szerint is kiemelném Dr. Jákli Imrét és Dr. Farkas Viktort, akik folytonos támogatásukkal nagyban felgyorsították doktori értekezésem elkészültét. Köszönöm Dr. Láng Andrásnak, Rovó Petrának, Dr. Gáspári Zoltánnak, Stráner Pálnak és Dr. Jákli Imrének, hogy időt és fáradságot nem kímélve átolvasták dolgozatomat és számos segítő javaslatot tettek. Köszönet jár továbbá a Perczel-csoport minden régi és új tagjának a számos apró segítségéért és az általános jó hangulatért, ami átlendített a felmerülő nehézségeken.

Szeretnék köszönetet mondani a Richter Gedeon Centenárium alapítványnak és a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért alapítványnak, hogy anyagilag támogatták munkámat.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni családom rengeteg türelmét és szeretetét, valamint, hogy mindig mellettem álltak.

Budapest, 2011. május 23.

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	I
Tartalomjegyzék	II
Az értekezés alapjául szolgáló közlemények	IV
Egyéb saját közlemények	IV
Rövidítések jegyzéke	V
1. Bevezetés	1
1.1 Diamidált aminosavak mátrixizolációs vizsgálata	3
1.2 A Béta-aminosavak térszerkezetvizsgálata elméleti kémiai módszerekkel	9
2. Célkitűzések	12
3. Mátrixizolációs technikák	13
3.1. Bevezetés	13
3.2. Alkalmazások	13
3.3. A mátrix	14
3.4. Mátrixizolációs mérések gyakorlati megvalósítása	15
3.5. A mátrixizolációs IR spektroszkópia	18
3.6. A mátrixizolációs VCD spektroszkópia	18
4. Elméleti kémiai alapok	20
4.1. Mikrorendszerek leírása	20
4.2 A kvantumkémiaiában alkalmazott közelítések	21
4.3. A sűrűségfüggő funkcionál módszerek elmélete	23
4.4. Bázisfüggvények	25
5. Anyagok és módszerek	28
5.1. Kis modellpeptidek mátrixizolációs vizsgálata	28
5.2 A β -aminosavak redős szerkezeteinek vizsgálata	32

6. Eredmények	36
6.1 Kis modellpeptidek mátrixizolációs vizsgálata.....	36
6.2 A β -aminosavak redős szerkezeteinek vizsgálata.....	58
6.2.1. Egyszálú rendszerek térszerkezeti tulajdonságai.....	58
6.2.2 Kétszálú rendszerek térszerkezeti tulajdonságai.....	59
6.2.3 Egyszálú és kétszálú rendszerek stabilitása.....	62
6.2.4 Három és négy β -aminosavat tartalmazó szálakból felépülő apoláros redők összehasonlítása.....	64
6.2.5. A diszperziós erők hatása β -peptidek redős szerkezeteinek gerinckonformációjára és stabilitására.....	66
6.2.6 A kiralitás hatása β -aminosavakból felépülő apoláros redők stabilitására.....	67
6.2.7 A szubsztitúció hatása AA redők térszerkezetére és stabilitására.....	68
6.2.8 A szubsztitúció hatása AB redők térszerkezetére és stabilitására.....	72
6.2.9 A szubsztitúció hatása CC és CD redők térszerkezetére és stabilitására.....	74
6.2.10 A szubsztitúció hatása apoláros redők stabilitására, poláros és apoláros oldószerekben.....	75
6.2.11 A szubsztitúció hatása apoláros redők képződésére, poláros és apoláros oldószerekben.....	77
7. Összefoglalás	80
Irodalom	85
Kivonat	95
Abstract	96
Függelék	

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények.

Pohl Gábor, Perczel András, Vass Elemér, Magyarfalvi Gábor és Tarczay György: *A matrix isolation study on Ac-Gly-NHMe and Ac-L-Ala-NHMe, the simplest chiral and achiral building blocks of peptides and proteins*, Phys.Chem.Chem.Phys., **2007**, 9: 4698

2. Pohl Gábor, Perczel András, Vass Elemér, Magyarfalvi Gábor és Tarczay György: *A matrix isolation study on Ac-L-Pro-NH₂, a frequent structural element of β - and γ -turns of peptides and proteins*, Tetrahedron, **2008**, 64: 2126

3. Pohl Gábor, Beke Tamás, Csizmadia G. Imre és Perczel András: *„Extended apolar β -peptide foldamers; the role of axis chirality on β -peptide sheet stability*, J.Phys.Chem. B **2010**, 114: 9338

4. Pohl, Gábor, Beke-Somfai Tamás, Csizmadia G. Imre és Perczel András: *Exploiting Diverse Stereochemistry of β -Amino Acids: Toward a Rational Design of Sheet-Forming β -Peptide Systems*, Amino Acids, **2011**, beküldve

Egyéb saját közlemények

Pohl Gábor, Beke Tamás; Borbély János, Perczel András: *Prediction of folding preference of 10kDa silk-like proteins using a lego-approach and ab initio calculations*, J.Am.Chem.Soc., **2006**, 128:14548

Pohl Gábor, Jáklí Imre, Csizmadia G. Imre, Garibotto F. Matías, Perczel András: *A first principle study on oligopeptide dimerization: An Examination of the Role of Entropy In Initializing Plaque Formation in Alzheimer Diseases*, J. Comp. Chem., beküldés alatt

Rövidítések jegyzéke

Ac- :	acetil- vagy CH ₃ C(O)- csoport
Ac-Gly-NHMe:	<i>N</i> -acetil- <i>N</i> '-metil-glicinamid
Ac-Ala-NHMe:	<i>N</i> -acetil- <i>N</i> '-metil-alaninamid
Ac-Pro-NH ₂ :	<i>N</i> -acetil-prolinamid
B3LYP:	Becke3-Lee-Yang-Parr funkcionál
β-Ala:	β-alanin vagy homoglicin vagy 3-amino-propánsav
β ^{2,3} -hAla:	3-amino-2-metil-butánsav
CD:	cirkuláris dikroizmus
DCM:	diklórmétán
DMSO:	dimetil-szulfoxid
DTGS:	deuterált triglicin-szulfát (detektor)
ECD:	elektronikus cirkuláris dikroizmus (spektroszkópia)
ESR:	elektronspin-rezonancia (spektroszkópia)
For-:	formil- vagy HC(O)- csoport
FT-IR:	Fourier-transzformációs infravörös (spektroszkópia)
HF:	Hartree-Fock
IR:	infravörös (spektroszkópia)
MCT:	„Multichannel Tube” (detektor)
MI:	mátrixizoláció
MI-IR:	mátrixizolációs infravörös (spektroszkópia)
MI-VCD:	mátrixizolációs rezgési cirkuláris dikroizmus (spektroszkópia)
NMR:	mágneses magrezonancia (spektroszkópia)
UV-VIS:	ultraibolya-látható (tartomány)
VCD:	rezgési cirkuláris dikroizmus (spektroszkópia)

1. Bevezetés

A fehérjék fontosságát mi sem bizonyítja jobban, mint az a tény, hogy bolygónkon az élet elképzelhetetlen lenne nélkülük. A fehérjék központi szerepet játszanak a természetben. Az ismétlődő másodlagos szerkezettel rendelkező struktúrfehérjék támasztó, merevítő hatást látnak el (fibrin (pókselyem), keratin (haj), kollagén (csont)), a bonyolult harmadlagos szerkezettel rendelkező globuláris fehérjék pedig az élő szervezetek katalizátorai, melyek funkciói erősen kötöttek térszerkezetükhöz. A fehérjék külön családját alkotják az ún. rendezetlen fehérjék (IDP-Intrinsically disordered Proteins), melyek, bár nem rendelkeznek jól definiált térszerkezettel, mégis számos funkciót láthatnak el (pl. dajkafehérjék, enzimregulátorok).

A fehérjék térszerkezetének ismerete nagyon fontos, nemcsak a globuláris fehérjék működésének vizsgálatához, hanem bizonyos struktúrfehérjék mesterséges előállításának (pl. mesterséges selyem) szempontjából is. A fehérjék elsődleges szerkezetét az aminosavsorrend kódolja. A polipeptidlánc gerinckonformációja határozza meg a fehérjék lehetséges másodlagos szerkezeti elemeit (β -redőzött réteg, α -hélix, poliprolin-hélix, β - és γ -kanyar szerkezetek). A másodlagos szerkezetek egymáshoz képesti elrendeződése alakítja a harmadlagos szerkezetet, a negyedleges szerkezet pedig összetett fehérjekomplexek doménjeinek egymáshoz viszonyított helyzetét.

A fehérjék feltekeredésének megértéséhez, építőelemeik, az aminosavak, illetve másodlagos szerkezeti elemeik (redők, hélixek) konformációs tulajdonságait is vizsgálnunk kell, ugyanis ezek határozzák meg a magasabbrendű szerkezeteket. E célra spektroszkópiai (IR, VCD, NMR, röntgen), tömegspektrometriai és elméleti módszerek is felhasználhatók.

Perczel András és csoportja már hosszú ideje foglalkozik aminosavak kvantumkémiaili módszerekkel történő térszerkezetvizsgálatával. Kis modellrendszeren, *N*-formil-L-alaninamidon (Perczel 2000, Császár 1999) és diamidált dipeptideken vizsgálták a lehetséges konformációkat, azzal a céllal, hogy a Ramachandran-felszín elméleti megalapozásához jussanak. Azt tapasztalták, hogy *N*-formil-L-alaninamid esetén a Peterson és munkatársai (Peterson, 1983) által felvetett 9 lehetséges konformer némelyike nem bizonyult stabil térszerkezetnek, több, különböző módszer alkalmazása esetén sem. E jelenséget a dipól-dipól taszítással magyarázták (Perczel, 1991). Diamidált dipeptidek esetén azonban a hiányzó konformerek is megjelentek (Perczel, 1993). A Protein Data Bank adatbázisában található fehérjeszerkezetekben is azonosították az elméletileg felvetett 9 konformer mindegyikét (Perczel 1993).

Egy fehérjefeltekeredést leíró modell megalkotásának első lépése a fehérjéket felépítő aminosavak, térszerkezetének vizsgálata. A modellalkotás megkönnyítése és a nagyobb molekulák számolásának gépigénye miatt is kis modellrendszerek tanulmányozása válik szükségessé. A kis modellek könnyen számolhatók, a kapott eredmények mérésekkel való igazolása azonban nehézkes, a kis molekulákra jellemző mozgékonyság miatt.

Van azonban egy mérési módszer, mely lehetővé teszi nagy konformációs szabadságú molekulák vizsgálatát. A mátrixizolációval kombinált spektroszkópai módszerek a molekulát szilárd nemesgáz-mátrixba zárva vizsgálják, ami meggátolja a forgást, valamint intermolekuláris kölcsönhatások kialakítását. Emiatt, többek között, kis energiagáttal elválasztott konformerek, rotamerek és tautomerek is vizsgálhatók (Cradock 1975, Dunkin 1998). Az alkalmazott nemesgáz-mátrix inertsége a méréseket jól összevethetővé teszi a vákuumban végzett számolások eredményeivel. Mindezek miatt a mátrixizolációval kombinált infravörös spektroszkópai mérések hatékony eszköznnek bizonyultak a fent említett elméleti eredmények alátámasztására nemcsak α - (Pohl 2007), de β -aminosavak esetén is (Beke 2009, Góbi 2010).

A β -aminosavak az utóbbi időben egyre több tanulmány tárgyát képezik. Kimutatták ugyanis, hogy a β -aminosavakból felépülő polipeptidek jelentős ellenállást tanúsítanak proteázokkal szemben (Frackenpohl 2001), valamint nem metabolizálnak (Wiegand 2002), tehát ideális peptidgyógyszerek lehetnek. A β -peptidek racionális tervezéséhez azonban, akárcsak α -aminosavak esetén, szükség van építőelemeik, a β -aminosavak konformációs terének feltérképezésére. E témával csoportunkban Beke Tamás foglalkozott. Elemezte a diamidált β -aminosavak lehetséges konformereinek térszerkezetét (Beke 2004), a belőlük felépülő szál- és hélix másodlagos szerkezeti elemeket (Beke 2006a), valamint egy szálaból felépülő harmadlagos szerkezeti elemet, a peptid-nanocsövet (Beke 2006b, Beke 2008). A β -aminosavak lehetséges konformációs teréről kapott számítási eredményeket mátrixizolációs mérésekkel is alátámasztotta (Beke 2009). E kutatásba kapcsolódtam be β -aminosavak nyújtott, redős szerkezeteinek vizsgálatával, ugyanis ilyen térszerkezetekkel meglepően kevés munka foglalkozott, és kiterjedt redős szerkezetre eddig nincs példa az irodalomban. A számítástechnika fejlődésével magasabb elméleti szinten, nagyobb modelleken is elvégezhető számítások álltak rendelkezésemre nyújtott szerkezetekből felépülő redők keresésére.

1.1 Diamidált aminosavak mátrixizolációs vizsgálata

1.1.1 A mátrixizoláció lehetőségei konformációs analízisben

A mátrixizolációs módszerekkel lehetővé válik alacsony energiagáttal elválasztott konformerek, rotamerek és tautomerek vizsgálata. Megfelelő mintabeviteli rendszert alkalmazva a gyors kifagyás megőrzi a beeresztés pillanatára jellemző konformerarányt. Sikeresen megfigyelhető például a $n\text{-C}_4\text{F}_{10}$ (Albinsson 1996a) *gauche*-, *orto*- és *anti*-, valamint Si_3H_8 , $n\text{-Si}_4\text{H}_{10}$ és *iso-Si* $_4\text{H}_{10}$ (Albinsson 1996b) *gauche*-, és *anti* állású konformere. Erős intermolekuláris kölcsönhatásokat kialakító molekulák is tanulmányozhatók, megkülönböztethető például a krotonsav E- és Z izomerje (Fausto 1995). A konformerarány befagyasztásával és az intermolekuláris kölcsönhatások kizárásával biomolekulák vizsgálatára is lehetőség nyílt, számos tanulmány foglalkozik például nukleinsav-bázisok tautomereinek (Nowak 1996, Bazso 2011) vizsgálatával, és természetesen aminosavak és peptidok vizsgálatával is.

1.1.2 Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe mátrixizolációs vizsgálata

A természetes fehérjék túlnyomórészt a 20 természetes aminosavból épülnek fel. Közülük a legegyszerűbb akirális és királis építőelem a glicin és az alanin. E két aminosav β -redőzött rétegek alkotója is lehet, például a pókselyem (Pohl 2006) lamellás szerkezetét is poli-(Ala-Gly) láncokból felépülő β -redőzött rétegek alkotják. E két aminosav két okból is jó modell a fehérjék feltekeredésének vizsgálatához. Egyrészt kis méretűek, ami nagyban meggyorsítja a számolásokat, másrészt az oldalláncok, az esetleges sztérikus ütközésektől eltekintve, kevésbé befolyásolják a fehérjék másodlagos szerkezeti elemeinek struktúráját (ha már kialakultak, természetesen vannak helikális ill. β -redőzött réteg szerkezetet preferáló aminosavak), tehát az ezekre jellemző gerinc torziós szög értékek e két aminosavon is tanulmányozhatók.

Bár a fehérjék általában biológiai mátrixokban (pl. vizes oldat) fordulnak elő, egyszerűbb az őket felépítő aminosavakat inert, izolált környezetben tanulmányozni. Az aminosavak és származékaik aggregálódhatnak, illetve erős hidrogénkötéseket alakíthatnak ki a nitrogén- és oxigéntartalmú oldószerekkel, ami nehezé teszi az IR és VCD spektrumok kiértékelését. Emiatt térszerkezetüket csak gázhalmazállapotban vagy inert nemesgáz mátrixba zárva vizsgálhatjuk kellő pontossággal.

Az aminosavak első mátrixizolációs vizsgálatát Grenie és munkatársai (Grenie 1970) végezték, argon mátrix alkalmazásával. Ezt a kísérletet több tanulmány is követte, melyek a glicin mátrixizolációs vizsgálatával foglalkoztak (Reva 1995, Stepanian 1998, Ivanov 1999, Huisken 1999). Ezek eredményeképp a nyolc elméletileg jóslott térszerkezetből (Császár, 1992) nemesgáz mátrixokban három konformert azonosítottak. A gázfázisú glicin milliméter-hullámú spektroszkópiás vizsgálata során azonban csak kettő konformer volt kimutatható (Suenram 1980, Ilyushin 2005). A glicinen kívül egyéb aminosavakat is vizsgáltak alacsony hőmérsékletű nemesgáz mátrixokban: alanint (Túlio 1997, Stepanian 1998, Lambie 2003), valint (Stepanian 1999), leucint (Sheina 1988), prolint (Reva 1994, Stepanian 2001), szerint (Lambie 2004, Jarmelo 2005), fenilalanint (Kaczor 2006), tirozint (Ramaekers 2005), triptofánt (Kaczor 2007) és ciszteint (Dobrowolski 2007). A glicin esetéhez hasonlóan, e mérések eredményeit is általánosan jellemezte, hogy a spektrumokban nem volt azonosítható az összes elméletileg jóslott térszerkezet. Gázfázisban (Godfrey 1993, Blanco 2004, Lesarri 2004, Lesarri 2002, Lee 2002a, Lee 2002b, Lee 2003, Linder 2005, Snoek 2001, Bakker 2003) illetve héliumcseppben (Lindenger 1999) végzett mérések esetén, különösen, ha szuperszonikus fúvókát alkalmaztak, csak ugyanannyi, vagy kevesebb konformert azonosítottak, mint mátrixizolációs mérésekkel. A szuperszonikus fúvóka alkalmazásakor a konformerek hiányát azzal magyarázhatjuk, hogy a nagy energiájú konformerek az alacsony energiájakon keresztül alacsonyabb energiájú konformerekké relaxálnak (Godfrey 1996).

Az aminosavakkal összehasonlítva már a legegyszerűbb modellpeptidek, a nitrogén- és szénterminálison amidcsoporttal védett aminosavak is jóval bonyolultabb rendszerek, hisz közel kétszer annyi rezgési szabadsági fokkal rendelkeznek. Ennek következményeként rezgési spektrumaik is nehezebben asszignálhatók. Másrészt viszont az ikerionos szerkezet hiánya, valamint a gyengébb összetartó erők miatt e védett aminosav-származékok könnyebben elpárologtathatók. Továbbá e származékok a szabad aminosavakhoz képest rendszerint kevesebb stabil konformerrel rendelkeznek, ami egyszerűbbé teszi a leggyakoribb szerkezeti elemek azonosítását. Mindemellett, e rendszerek sokkal jobb modelljei a peptidgerincet alkotó aminosavaknak.

Mindezek miatt sok kutatás foglalkozott védett aminosavak vizsgálatával, nagyrészt különféle lézerspektroszkópiai módszerek alkalmazásával. Vizsgáltak *N*-acetyl-L-triptofán-amidot (Ac-L-Trp-NH₂), *N*-acetyl-*N'*-metil-L-triptofánamidot (Ac-L-Trp-NHMe) (Dian 2002, Dian 2004a, Dian 2004b), *N*-benziloxikarbonil-*N'*-metil-L-prolinamidot (Z-Pro-NHMe) (Compagnon 2005), *N*-acetyl-*N'*-metil-L-fenilalaninamidot (Ac-L-Phe-NHMe) (Gerhards 2004), *N*-acetyl-L-fenilalaninamidot (Ac-L-Phe-NH₂) (Chin 2005a), valamint di- és tripeptideket is (Chin 2005b, Unterberg 2003, Hünig 2004, Chin 2004, Fricke 2004, Bakker 2005, Chin 2005c, Chin 2005d, Fricke 2006).

A lézerspektroszkópiával ellentétben a mátrixizolációs IR (MI-IR) nem igényel kromofór csoportot, mint amilyen például az *N*-terminális Boc-védőcsoport vagy az indol- (Trp) illetve benzolgyűrű (Phe). Vizsgálataimat megelőzően csak egy mátrixizolációs IR vizsgálatot végeztek védett aminosavakon: Grenie és munkatársai (Grenie 1975) Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe dipeptideket tanulmányoztak 20 K-re hűtött argonmátrixban. Méréseikben a monomeren kívül jelentős mennyiségű aggregátum is azonosítható volt a spektrumban. Emiatt a spektrumok minősége csak két konformer azonosítását tette lehetővé: a γ_L (7-tagú hidrogénkötés-rendszer) valamint a β_L (5-tagú hidrogénkötés-rendszer) konformerekét.

Napjainkban, a technikai fejlődésnek hála, jobb minőségű spektrumokat vehetünk fel, jobb jel/zaj arány mellett, hígabb mátrixban. Továbbá pontosabb számításokat, valamint egyéb spektroszkópiai módszereket (pl. VCD) is alkalmazhatunk, hogy segítse az IR-spektrumok értelmezését. A mátrixizolációs VCD (MI-VCD) igen hatékony módszernek bizonyult erős kölcsönhatások kialakítására képes molekulák tanulmányozására. Az ilyen típusú molekulák oldatfázisú VCD vizsgálata nehézkes, és rosszul összevethető a számolt eredményekkel, ahogy ezt nemrégiben Tarczay és munkatársai igazolták (Tarczay 2006, Magyarfalvi 2011).

Újabban egzotikus aminosavak, mint például izoszerin (Dobrolowsky 2010), aminosavak vízzel alkotott komplexeinek mátrixizolációs vizsgálata (Tarczay 2009, Espinoza 2010), valamint a peptidek szerkezetének kialakításában kulcsszerepet játszó amidkötés pontosabb vizsgálata (Albrecht 2008) került előtérbe.

1.1.3 Az Ac-L-Pro-NH₂ mátrixizolációs vizsgálata

A 20 természetes aminosav közül a prolin az egyetlen, amelynek oldallánca kovalensen kötött a peptidgerinc nitrogénjéhez. Ez az egyedülálló térszerkezeti jellemző fontos szerepet játszik a fehérjék harmadlagos szerkezetének stabilizálásában, ugyanis csökkenti az adott alegység lehetséges gerinckonformációinak számát (Wedemeyer 2002). Az evolúció során a prolin szerepe a peptidgerinc lokális merevítése volt. Ugyanez a tulajdonság teszi a prolint α -hélix-törő szerkezeti elemmé. Merev szerkezete miatt inkább poliprolin-hélixet alkot, vagy kanyarszerkezetekben fordul elő. Mindezekon kívül további különleges tulajdonsága, hogy a nitrogénatom imid-jellege miatt, az *N*-terminális amidkötés képes a cisz-transz izomerizációra, ami a konjugáció gyengülését eredményezi.

A gerinc és az amidkötés sztereokémiáján kívül egy harmadik szerkezeti tulajdonságot is figyelembe kell venni: a pirrolidin gyűrű nem planáris, az általa felvehető két konformáció is növeli a lehetséges térszerkezetek számát (Hudaky 2002).

A diamidált prolinaszármazékok, mint például az *N*-formil-*N'*-metil-L-prolinamid (For-L-Pro-NHMe), az *N*-acetyl-L-prolinamid (Ac-L-Pro-NH₂), *N*-acetyl-*N'*-metil-L-prolinamid (Ac-L-Pro-NHMe) és az *N*-acetyl-*N'*,*N'*-dimetil-L-prolinamid (Ac-L-Pro-NMe₂) jó modellrendszerek a peptidláncba beépült prolin jellemzéséhez, ezért spektroszkópiai- és elméleti módszerekkel is kiterjedten tanulmányozták őket. Általánosságban e vizsgálatok során négy lehetséges térszerkezetet vettek figyelembe: cisz vagy transz amidkötést, valamint az intramolekuláris hidrogénkötés meglétét vagy hiányát.

Oldószerben felvett IR (Mizushima 1952, Tsuboi 1959, Avignon 1969, Madison 1969a, Madison 1969b, Stimson 1977, Koyama 1977, Madison 1980, Liang 1992, Akiyama 1994) és VCD (Miyazawa 1996, Lee 2006, Oh 2006) spektrumokban is kimutatták a cisz és transz forma egyidejű jelenlétét. Apoláris oldószerekben a transz- γ_L (γ -kanyar) volt a meghatározó térszerkezet. Az oldószer polárosságának növekedésével a cisz- γ_L és a transz- ϵ_L (poliprolin-II hélix) formák részaránya is nőtt. A cisz forma becsült részaránya CCl₄-ban 5% (Madison 1983) CDCl₃-ban 20% (Stimson 1977, Akiyama 1994), CD₂Cl₂-ban 12,5% (Liang 1992) volt. A fenti eredményeket 2D-IR mérésekkel is megerősítették (Asplund 2000, Zanni 2001a, Zanni 2001b, Ge 2002, Rubtsov 2002, Rubtsov 2003, Park 2006, Sul 2006). Az is kiderült, hogy az egyszerű kontinuum oldószermodellek nem elegendőek a konformációs eloszlás jellemzésére, ugyanis pontos számításhoz a specifikus oldószer-molekula kölcsönhatásokat is figyelembe kell venni.

Az NMR mérések eredményei (Madison 1969a, Liang 1992, Akiyama 1994, Torchia 1971, Dorman 1973, Higashimija 1977, Siemion 1988, Taylor 2003) az IR eredményekkel egyezően, szintén a *cisz* forma részarányának növekedését mutatták az oldószer polárosságának növekedésével. A *cisz* izomer részaránya CCl_4 -ban 0-11% (Higashimija 1977) CDCl_3 -ban 6-19% (Madison 1969b, Akiyama 1994, Higashimija 1977), $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ -ban 27% (Higashimija 1977), D_2O -ban 26% (Higashimija 1977) volt. Megfigyelték, hogy míg a *transz* forma γ -kanyar szerkezeteket alkot belső H-híddal, a *cisz* forma oligomerek képzésére hajlamos. A *cisz* és *transz* formák részaránya a hőmérséklettől és nyomástól is függ. Poláris oldószerek alkalmazása esetén mindkét forma monomerként fordul elő az erős oldószer-molekula kölcsönhatások miatt (Higashimija 1977). A *cisz*-*transz* izomerizáció energiagátját $75 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -nak becsülték. A pirrolidin-gyűrű *exo* (+)- és *endo* (-) állását is vizsgálták, a spektrumokban mindkét forma egyenlő arányban fordult elő.

A kísérleti eredmények magyarázatára elméleti kémiai számításokat is végeztek molekulamechanikai (MM) (Madison 1977, Rosas 1990, Koca 1994, McDonald 1996), szemempírikus (Momany 1975, Zimmerman 1977, Vasquez 1983, Némethy 1992, Fischer 1994, Ramek 1995), *ab initio* (Hudaky 2002, Fischer 1994, Ramek 1995, Kang 1996, Jhon 1999, Kang 2002, Oldziej 2003, Kang 2004a, Kang 2004b, Kang 2004c, Sahai 2005, Kang 2006) és sűrűségfüggvény elméletek (DFT) (Jhon 1999, Kang 2002, Oldziej 2003, Kang 2004a, Kang 2004b, Kang 2004c, Sahai 2005, Kang 2006, Rankin 2002) alkalmazásával. A legújabb számítások Ac-L-Pro-NH₂ (Ramek 1995, Sahai 2005) és For-L-Pro-NH₂ (Hudaky 2002) esetén is 3 *transz* és 4 *cisz* konformert mutattak ki Hartree-Fock, de csak 2 *transz* és 4 *cisz* konformert DFT szinten (Sahai 2005). A kísérleti eredményekkel összhangban a számítások is a γ -kanyar konformációt jósolták a legstabilabbnak. Az oldószer polárosságának növekedésével a *cisz*-forma részarányának növekedését valamint a térszerkezet poliprolin-II hélix forma felé való eltolódását tapasztalták (Kang 2002, Kang 2004a, Kang 2004b, Kang 2006). A pirrolidin gyűrű *endo* és *exo* állásának energiakülönbségét $2\text{-}8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -nak, a kettő közötti átalakulás energiagátját $2\text{-}14 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ -nak becsülték (Hudaky 2002, Ramek 1995, Kang 2002), mely adatok jól magyarázzák a két forma közel egyenlő részarányát.

1.1.4 Egyéb mátrixizolációs vizsgálatok

A fent említett méréseket nemcsak α - de β -aminosavak esetében is elvégezhetők, például β -alaninon (Beke 2009) és homoprolinon (Góbi 2010), valamint aminosavak vízzel alkotott komplexei is vizsgálhatók, vizes mátrix alkalmazásával, és a mátrix kontrollált felengedésével majd újbóli megfagyasztásával (Góbi 2010, Tarczay 2009, Espinoza 2010). Újabban egzotikus aminosavak, mint például izoszerin (Dobrowolsky 2010), valamint a peptidok szerkezetének kialakításában kulcsszerepet játszó amidkötés pontosabb vizsgálata (Albrecht 2008) is előtérbe került.

1.2 A Béta-aminosavak térszerkezetvizsgálata elméleti kémiai módszerekkel

1.2.1 A β -aminosavak biológiai jelentősége

A β -aminosavak és β -peptidek egyre inkább a peptidkémiai kutatások előterébe kerülnek. Mivel e molekulák ellenállnak az emberi szervezetben található proteázoknak, ígéretes gyógyszeralapanyagok lehetnek (Frackenpohl 2001, Seebach 1996, Hintermann 1997, Seebach 2001a). Az akárcsak egy β -aminosavat is tartalmazó α -peptideknek megnő a proteázokkal szembeni stabilitása (Sagan 2003). Az α -aminosavakat tartalmazó β -peptidek szintén ellenállóak proteázokkal (Seebaach 2001b), glikozilált származékaik pedig a glikoamidáz A-val szemben (Disney 2005).

A β -peptidekben rejlő lehetőségek még inkább kihangsúlyozódtak antifungális és antimikrobiális aktivitásuknak köszönhetően (Ziegelbauer 1998a, Ziegelbauer 1998b, Porter 2000, Porter 2002a, Hamuro 1999).

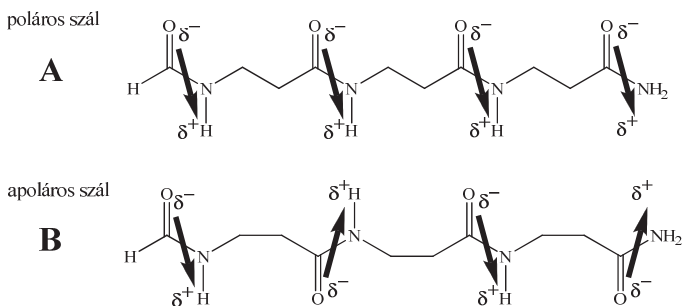
A β -peptidek metabolizációját vizsgáló vízdoldékony, izotópjelölt β -peptideket juttattak, intravénásan és *per os*, patkányokba (Wiegand 2002), majd egy 7 napon keresztül tartó ún. ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) vizsgálatot végeztek el. Toxicitás vagy metabolizáció nem volt kimutatható, szervspecifikus eloszlást és lassú kiürülést tapasztaltak (Wiegand 2002). A β -peptidek további előnye, hogy biodegradábilisak, azaz mind talajban élő mikroorganizmusok, mind pedig szennyvízkezelés segítségével lebonthatók (Schreiber 2002).

1.2.2 A β -aminosavak térszerkezetvizsgálata

A β -peptidek peptidgerincében eggyel több metilén csoport található, ami megnöveli flexibilitásukat, melynek köszönhetően számos másodlagos szerkezeti elemet alakíthatnak ki: hélixeket, szálakat és „cikk-cakk” szerkezeteket (Seebach 2004). Mindezek miatt a β -aminosavak olyan mesterségesen előállított fehérjék ideális építőelemei lehetnek, melyek egy racionálisan tervezett harmadlagos szerkezettel rendelkeznek, és e térszerkezetet proteázok jelenlétében is megtartják (Frackenpohl 2001). A lehetséges „építőkövek” jellemzése tehát elengedhetetlen ilyen tulajdonságú fehérjék racionális tervezéséhez (Schmitt 2007, Horne 2007, Baquero 2008, Baldauf 2008).

Bár a β -aminosavakból felépülő hélixek számos tanulmány tárgyát képezték, meglepően kevés munka foglalkozik β -redőzött réteg szerkezetekkel, ami pedig az α -fehérjékben előforduló második leggyakoribb térszerkezeti elem. Mivel a redős szerkezetek hajlamosak aggregátumok képzésére, spektroszkópiai vizsgálatuk nehézkes (Dobson 2006).

A legkorábbi tanulmányok egyszálú poli- β -alaninból (Glickson 1971), illetve származékaiból (Möhle 1999, Günther 2001, Wu 1998) álló modellpeptidekre koncentráltak: poláros és apoláros szálak előfordulását is feltételezték. Az első esetben a karbonilcsoportok térállása azonos, a második esetben váltakozó (**1. ábra**).



1. ábra: A β -aminosavak két lehetséges nyújtott, egyszálú szerkezete: a poláros szál (felső); azonos állású karbonilcsoportok) és az apoláros szál (alsó; váltakozó térállású karbonilcsoportok)

Bár a 2-6 tagszámú mono- és diszubsztituált β -alaninból felépülő oligopeptidek MD és elektronszerkezeti számításokkal, RHF/3-21G, RHF/6-31G(d) (Möhle 1999, Günther 2001, Wu 1998) és B3LYP/6-31G(d) (Beke 2006a) elméleti szinteken történő vizsgálata során a legtöbb modell esetében különböző hélixek kialakulását találták kedvezőnek, néhány nyújtott szerkezetet is azonosítottak. Kimutatták azt is, hogy a teljesen nyújtott szerkezet (minden gerincortziós szög *anti* állású), β -aminosavak esetén nem minimum, hanem nyeregpon a potenciális energia felszínén. E térszerkezet helyett egy spirális nyújtott szerkezet alakul ki, melyet korábban már megfigyeltek szilárdfázisú spektroszkópiai méréseknél. A H8_p-ként elnevezett hélixekről feltételezték, hogy redőszerű struktúrákat is létrehozhat „létraszzerű” szerkezete miatt.

Részletes spektroszkópai vizsgálatokat is végeztek redős és hajtú szerkezeteken, és azt találták, hogy hajtú szerkezetek esetén poláros szálabból álló redők alakultak ki (**1. táblázat**) (Krauthauser 1997, Chung 2000, Seebach 1999, Daura 2001, Karle 2002).

1. táblázat: Hajtú szerkezetet kialakító β -peptidek irodalomban közölt szekvenciái

Aminosav-szekvencia ^a	Vizsgálati módszerek	ref.
Ac- β -(3S-CH ₂ -S-Ph)-2R-hPhe-S-Nip-R-Nip- β -(3R-Et)-2S-hAla-NHMe	NMR, IR; CD ₂ Cl ₂	b
Ac- β -(3S-CH ₂ -S-Ph)-2R-hPhe-L-Pro-Glc ^a - β -(3R-Et)-2S-hAla-NHMe	NMR; CD ₃ OD, CD ₂ Cl ₂	c
H- β -(2S-Me)-3R-hAla- β -(2S-Me)-3R-hVal- β -2S-hVal- β -3S-hLys- β -(2S-Me)-3R-hAla- β -(2S-Me)-3R-hLeu-OH	NMR, MD; CD ₃ OH	d
Boc- β -Phe- β -Phe-D-Pro-Gly- β -Phe- β -Phe-Ome	X-Ray	e

^a Glc: glikolsav: HO-CH₂-COOH, Nip: 3-karboxi-piperidin, S/R: kiralitás

^b Krauthauser 1997; c: Chung 2000; d: Seebach 1999, Daura 2001; e: Karle 2002

Parallel és antiparallel redők B3LYP/6-31(d,p)//RHF/6-31G(d) elméleti szinten (Lin 2002) végzett vizsgálata során kimutatták, hogy a szálab csavarodott szerkezetet vesznek fel, melyeknek az ezekből felépülő másodlagos szerkezeti elemekben is meg kell jelennie. Azt is kiemelték, hogy a poláros szálab makrodipólus-momentuma stabilizálhatja az ezekből létrejövő aggregátumokat. Csoportunk nemrég beszámolt arról, hogy a β -aminosavak képesek nanocső szerkezetek létrehozására is (Beke 2006b).

A kiralitás térszerkezetre tett hatását spektroszkópai és elméleti kémiai módszerekkel is vizsgálták, mind nyílt, mind 4-6 tagú gyűrűs oldalláncú β -aminosavak esetén. A kísérletek eredményeit Seebach foglalta össze, és megalkotta a „Seebach-szabályt” (Seebach 2004) mely kvalitatív képet ad a kiralitás és a felvett másodlagos szerkezet kapcsolatáról: a heterokirálian diszubsztituált származékok poláros redő, a mono- illetve homokirálian diszubsztituált származékok helikális szerkezeteket alkotnak. A geminálisan diszubsztituált származékok se redős, se helikális szerkezet kialakítására nem képesek a metilcsoportok között fellépő szterikus gátlás miatt.

A nyíltláncú β -peptidek mellett 4-6 tagú gyűrűs oldalláncú β -peptidek vizsgálatával is számos csoport foglalkozik. E peptidek is jó modellrendszerek a kiralitás térszerkezetre tett hatásának tanulmányozásához, mivel a gyűrűs oldallánc rögzíti a középső μ torziós szöget (Martinek 2002, Torres 2009), mely egyszerűsíti a modellalkotást, hisz csak a φ és ψ torziós szög változását kell elemezni. Öttagú gyűrűs oldalláncú β -peptidek vizsgálata alapján (Mandity 2009) e rendszerek kiralitásának és térszerkezetének kapcsolatára is javasoltak egy általános szabályt: a homokirális modellek (azonos előjelű φ és ψ torziós szögek) helikális, a heterokirális modellek (ellenkező előjelű φ és ψ torziós szögek) nyújtott szerkezeteket alkotnak.

2. Célkitűzések

Munkám egyik célkitűzése az Ac-Gly-NHMe elméleti és MI-IR, valamint az Ac-L-Ala-NHMe és Ac-L-Pro-NH₂ elméleti, MI-IR és MI-VCD vizsgálata volt. E három aminosav nagy fontossággal bír a fehérjék feltekeredésében, hisz a glicin a legegyszerűbb akirális, az alanin a legegyszerűbb királis aminosav, a prolin pedig, egyedi gyűrűs oldallánca miatt merev térszerkezettel rendelkezik, szintén komoly hatást gyakorolva fehérjék térszerkezetére, mint redő- és hélixstörő elem. Az inert nemesgáz-mátrixba zárt molekulákon elvégzett vizsgálatok igazolhatják a korábbi elméleti eredményeket. A méréseket argon- és kriptonmátrixban is elvégeztem, így azonosíthattam a felvett spektrumban található mátrix-hatás miatt felhasadt csúcsokat. A VCD mérések segítségével az IR spektrumok jelazonosításának igazolása, valamint kis részarányú konformerek pontosabb azonosítása válik lehetővé. Végezetül, Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe esetén a mátrixizolációs mérések eredményeit nem koordináló (diklórmetán, DCM) és erősen koordináló (dimetil-szulfoxid, DMSO) oldószerekben mért spektrumokkal is összevettem.

Az α -aminosavakból felépülő fehérjékhez hasonlóan a β -aminosavakból felépülő fehérjék feltekeredésének megértéséhez is szükség van az építőelemek térszerkezetének ismeretére. A β -peptidek konformációs terét, illetve néhány másodlagos szerkezeti elemét (hélixek, nanocsövek) kiterjedten vizsgálták. Mint már említettem, kevés tanulmány foglalkozott β -aminosavakból felépülő redős szerkezetekkel. Munkám további célja tehát ilyen redős szerkezetek azonosítása és jellemzése volt, nyújtott szerkezetű modellpeptideken (Ac- β -Ala-NHMe, For-(β -Ala)₃-NH₂, For-(β -Ala)₄-NH₂) végzett elméleti kémiai számítások segítségével.

A lehetséges redős szerkezetek jellemzése után a következő lépés azok stabilitásának vizsgálata oldalláncot is tartalmazó modellpeptideken. A kiralitás stabilitásra gyakorolt hatásának vizsgálatához diszubsztituált For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ peptiden végeztem számításokat minden lehetséges konfigurációt figyelembe véve. Hogy a modellrendszerem jobban jellemezze a valós rendszereket, vákuumban végzett számolásaimat poláros (víz) és apoláros (heptán) oldószerben is elvégeztem. Eredményeim alapján megkíséreltem egy olyan szabályt alkotni mely segítségével redős szerkezetek racionális tervezése válhat lehetővé.

3. Mátrixizolációs technikák

Az alábbi fejezetben a mátrixizolációs technikákat mutatom be röviden. Mivel csak az IR és VCD méréseknél alkalmaztam mátrixizolációt, a módszer ezekhez kapcsolódó alkalmazhatóságát ismertetem részletesebben. A fejezet megírása során az idézett cikkeken kívül leginkább a Cradock 1975 és Dunkin 1998 referenciákra támaszkodtam.

3.1. Bevezetés

A mátrixizoláció lényegében nem más, mint egy molekula „bezárása” egy *kémiailag inert* anyag *merev rácsába, alacsony hőmérsékleten*. A merev ketrec megakadályozza a molekulák diffúzióját, ami esetleg más molekulákkal való reakcióhoz vezetne, a kémiai inertség a környezettel való reakciót gátolja, az alacsony hőmérséklet pedig, amellet, hogy a mátrix stabilitásához járul hozzá, az intramolekuláris átrendeződéseket is lassítja. Ilyen körülmények között az egyébként rövid élettartamú részecskék is kényelmesen tanulmányozhatók, hisz gyakorlatilag bármeddig eltarthatók. Fontos megjegyezni azonban, hogy az intermolekuláris kölcsönhatások, bár jelentősen csökkenthetők, teljesen nem zárhatók ki, valamint, hogy még nemesgáz–mátrixok esetén is léphet fel reakció a vizsgált molekula és a mátrix között (pl. Xe mátrix esetén xenonvegyületek keletkezhetnek). Az utóbbi jelenség a módszer hajnalán nem egyszer vitte tévútra a kísérletezőket, de izotópdúsítással, ill. a mérési körülmények szisztematikus módosításával könnyen meggyőződhetünk arról, hogy az adott csúcs tényleg a vélt molekulához tartozik-e.

3.2. Alkalmazások

Bár a mátrixizolációt Pimentel (Pimentel 1954) eredetileg reaktív specieszek hagyományos spektroszkópiákkal való méréséhez találta ki, idővel kiderült, hogy stabil molekulák vizsgálatánál is vannak előnyei. A módszerrel

- közvetlenül vizsgálhatjuk és jellemezhetjük egy reakció intermedierjeit;
- új reaktív specieszeket tanulmányozhatunk és állíthatunk elő;
- reaktív részecskék térszerkezetét határozhatjuk meg;
- molekulakomplexeket vizsgálhatunk;
- befagyaszthatunk egy adott molekula konformációt;
- az egyébként erősen kölcsönható molekulák esetén is jól felbontott sávokat, jól értelmezhető spektrumot kaphatunk.

Ez utóbbi tulajdonság teszi lehetővé számunkra biomolekulák, például aminosavak pontosabb vizsgálatát.

Mivel a mátrixban a molekulák valóban izoláltak, csak olyan módszereket használhatunk, amik nem roncsolják a mátrixot. E követelményt szem előtt tartva beszélhetünk mátrixizolációs UV-VIS, IR, Raman, VCD, ESR spektroszkópiáról. (Ritkábban előfordul mátrixizolációs NMR, CD ill. Mössbauer–spektroszkópia is.) Ezek a vizsgálati módszerek csatolhatók is egymáshoz, pl. egy megfelelő műszerrel ugyanazon mátrixba zárt mintáról IR és UV spektrumot is felvehetünk. A mátrixizolációt fotolízissel is kombinálhatjuk, ezáltal lehetőségünk nyílik gyökök keltésére (Milligan 1967), illetve reakciómechanizmusok vizsgálatára. A mátrixizoláció szintézisekhez való felhasználása is lehetséges, hisz a mátrixban esetleg egy másik reakciót kedvezményezett, mint szobahőmérsékleten, és a termék kinyerése is megoldható. A módszer hátrányai közé tartozik a vizsgálható molekulák méretkorlátja, valamint a kísérletek időigénye, ugyanis egy-egy spektrum felvételéhez 5–10 órára van szükség.

3.3. A mátrix

A mátrixizolációs mérések egyik legfontosabb eleme az alkalmazni kívánt mátrix. Manapság e célra különböző inert és reaktív gázokat használnak. A mátrixképző gázok alapvető kritériuma, hogy a vizsgált spektrumtartományban ne nyeljenek el. Bár általában inert gázokat használnak, néhány kísérletnél előnyös lehet, ha a mátrix reakcióba lép a termékkel. (Pl. LiO_2 mátrix izolációs vizsgálatára nyílt úgy lehetőség, hogy fém lítiumot O_2 mátrixba fagyaszottak be, és a képződő LiO_2 rezgéseit vizsgálták (Andrews 1969).) A megfelelő gáz kiválasztásánál az is fontos szempont, hogy van-e spektrális átfedése a vizsgálni kívánt termékkel.

Mátrixként alkalmazható inert gázok: N_2 , Ar, Ne, Kr, Xe, CO, CH_4

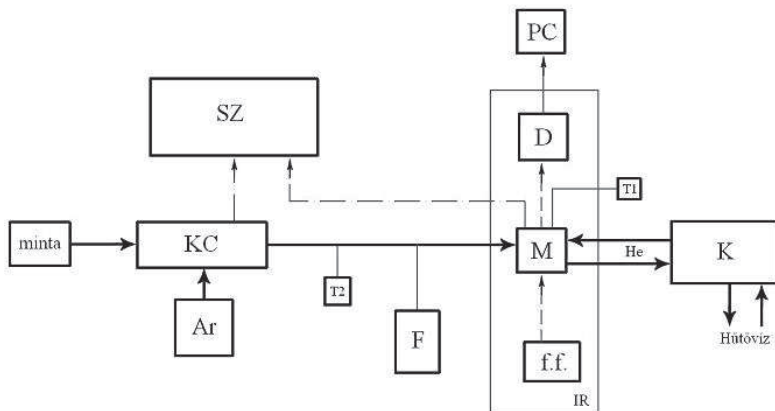
Mátrixként alkalmazható reaktív gázok: O_2 , F_2 , Cl_2 , CO_2 , SF_6 , CCl_4

3.4. Mátrixizolációs mérések gyakorlati megvalósítása

Egy mátrixizolációs berendezés alapvető részei:

- hűtőrendszer (kriosztát)
- hidegujj és kifagyasztóablak
- vákuumkamra
- hőmérsékletmérő és -szabályzó berendezés
- vákuumrendszer
- gázbeeresztő rendszer
- a kívánt részecske előállítására szolgáló eszköz (pl. pirolizátor, UV besugárzás)
- analízátor (egy vagy több spektroszkóp)

A különböző lehetőségek nagy száma miatt csak az általunk használt berendezés jellemzésére térek ki (2. ábra).



2. ábra: A Tarczay György és munkatársai által tervezett mátrixizolációs berendezés blokkismája

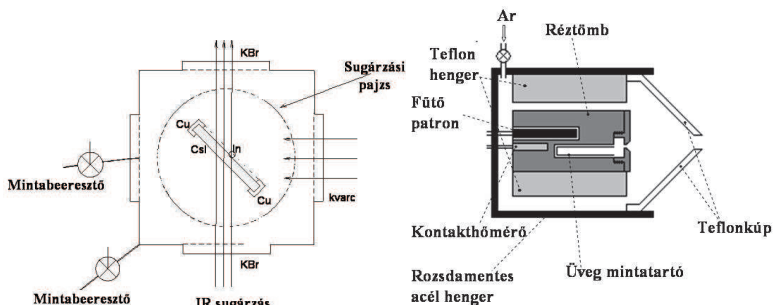
Jelmagyarázat: KC: Knudsen cella (mintabeeresztő rendszer), Ar: argonpalack, SZ: szivattyúrendszer, T1: Si-dióda hőmérő, T2: kontakthőmérő, F: fűtés, f.f.: fényforrás, M: mérőfej (hidegujj és kifagyasztóablak vákuumcellában), D: detektor, PC: kiértékelő számítógép, K: kriosztát, IR: spektroszkóp

3.4.1. Hűtőrendszer

A szilárd nemesgáz mátrix létrehozásához nagyon alacsony hőmérsékletre van szükség. Ezt régebben folyékony hidrogénnel (fp.: 20,3 K) vagy héliummal (f.p.: 4,2 K) érték el (nyitott kriosztátok). A zárt körű He–hűtők mostanra szinte kiszorították a folyékony nemesgázokkal való hűtést. E hűtők lelke egy kompresszor, melyet két He–vezetékkel kapcsolnak a kitágító–vagy „fej” modulhoz. Ez a fej–modul elég kicsi ahhoz, hogy beépíthessék a mátrix cellába. A kompresszorban összenyomott héliumot a fejben engedik kitágulni, általában két szakaszban. A hűtő hatást a hélium kitágulása biztosítja. Egy tipikus kétszakaszos modulban az első hőállomást csak kb. 80 K-ig hűtik. A második hőállomást általában pajzzsal veszik körül, amit az első hőállomáshoz rögzítenek. Ez árnyékolja a második hőállomást a bejövő hősugárzástól. A kétfázisú, zárt körű He–hűtőkkel elérhető legkisebb hőmérséklet 8 K, ami elég a legtöbb mátrixizolációs kísérlethez (alacsonyabb hőmérsékletek eléréséhez háromfázisú kriosztát kell). Az általunk használt kriosztát egy kétfázisú hűtővel rendelkezik, mellyel 8–10 K hőmérséklet érhető el.

3.4.2. Hidegujj és kifagyasztóablak

A mátrixokat olyan hideg felületekre választják le, melyek az adott spektroszkópiához a legjobban alkalmazhatók. Ez lehet az alkalmazott hullámhossz–tartomány számára átlátszó anyag (IR, UV–VIS), tükröző fémfelület (Raman), vagy zafirrúd (ESR). Esetünkben a mátrixot CsI ablakra választottuk le. A mintatartó ablakot a fej–modul második hőállomására csavarozzák rá. Nagyon fontos a megfelelő termikus érintkezés elérése, hiszen a legkisebb rész is jelentősen csökkenti a hűtés hatékonyságát. E célra legtöbbször indiumtömítést használnak. Az általunk alkalmazott mérőfej vázlatát a 3. ábra mutatja.



3. ábra: Az alkalmazott mérőfej (bal) és mintabeeresztő (jobb) vázlatát

3.4.3. Vákuumkamra, vákuumrendszer

Mivel a minták hőmérséklete 10 K körül van, fontos, hogy a megfelelő vákuumot biztosítani tudjuk. Ugyanis vákuum hiányában a levegő egyrészt a kifagyasztó ablakra, másrészt a hővezetés miatt lehülő ablakokra fagyyna rá. E célra egy KBr ablakokkal ellátott, kocka alakú vákuumkamrát használtunk. A szükséges nagyvákuumot (10^{-7} mbar) rotációs- és turbomolekuláris szivattyú együttes alkalmazásával értük el.

3.4.4. Hőmérsékletmérő és -szabályzó berendezés

A hőmérsékletmérést szilíciumdióddával, a hőmérséklet szabályzását a hidegujjra tekert fűtőszállal valósítottuk meg.

3.4.5. Mintabeeresztő rendszer, egyéb eszközök

A szilárd halmazállapotú aminosavak bepárologatásához egy speciálisan e célra készített szilárdminta beeresztő eszközt használtam (**3. ábra**). Ez egy rozsdamentes acélhengerbe helyezett fűthető vörösrézöntvény, melyen egy kis üreget képeztek ki a fűtőpatron, a hőmérő valamint mintatartó számára. Hőszigetelés céljából az acélhenger és a rézöntvény közé furatokkal ellátott teflonhengert építettünk. A mintatartó furatain keresztül vezethető be a mátrixalkotó gáz a mintatérbe, a mintatartó elé helyezett teflonkúp a kiáramló gáz és az elpárologatott minta keverését szolgálja. A rézöntvény fűtéséért egy szabályzó egység felel, ami időben szabályozza a feszültségforrás feszültségét, ezen keresztül a fűtőpatron fűtését. A hőmérsékletet egy kontakthőmérő méri.

3.5. A mátrixizolációs IR spektroszkópia

Az előzőekben már jellemeztem a mátrixot és ismertettem a mátrixizolációs technikákat, azon belül is a mátrixizolációs IR spektroszkópia kísérleti megvalósítását. A következőkben a hagyományos és a mátrix izolációs IR spektrumokat hasonlítom össze. A sok konformerrel rendelkező, erős kölcsönhatások (pl. hidrogénkötés) kialakítására képes molekulák vizsgálata hagyományos spektroszkópiai módszerekkel nehézkes. Mivel e molekulák többsége apoláris oldószerben aggregálódik, poláris oldószerben pedig erős kölcsönhatásokat hoz létre az oldószerrel, a kapott spektrumon a csúcsok szélesek, ami az asszignációt nehezíti, esetenként lehetetlenné teszi (Cradock 1975). A mátrixizolációs infravörös spektroszkópia előnyei, hogy

- a molekula forgása valamint az intermolekuláris kölcsönhatások kizárása miatt éles, könnyen azonosítható csúcsokat kapunk,
- az inert környezet miatt a mért és a számolásokkal kapott spektrum jól összevethető,
- a molekulák gyors kifagyása miatt a mintabeeresztőben kialakult konformerarányok megmaradnak.

3.6. A mátrixizolációs VCD spektroszkópia

3.6.1. Általános jellemzés

Királis molekulák vizsgálatára már régóta elterjedten alkalmazzák a optikai rotációs diszperziót (ORD) vagy a cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiát. Az optikailag aktív vegyületek elektrongerjesztése során az abszorpció eltérő a cirkulárisan polarizált fény két komponensére, így a két komponens intenzitásváltozásának különbségéből a molekula kiralitására következtethetünk. Az ECD spektroszkópiát a látható és közeli UV tartományban alkalmazzák. Sok másodlagos szerkezeti elem esetében találtak összefüggést az optikai aktivitás előjele és az abszolút konfiguráció között, ám e felállított empirikus szabályok sokszor megbízhatatlanok. Az is problémát jelent, hogy az ECD spektrumok elméleti számítása hosszadalmas, és nem kellően pontos, mert az alapállapot mellett a molekulák gerjesztett állapotát is számolni kell (hiszen egy elektronátmenetet vizsgálunk).

A detektorok érzékenységének fejlődésével lehetővé vált az infravörös fény cirkuláris polarizációjára épülő rezgési cirkuláris dikroizmus (VCD) spektroszkópia is. A VCD (és rokon módszere, a Raman Optikai Aktivitás–ROA) a rezgési optikai aktivitás (Vibration Optical Activity–VOA) jelenségén alapul. A rezgési optikai aktivitás egy királis molekula rezgési átmenetei során a balra illetve jobbra cirkulárisan polarizált elektromágneses sugárzásra adott eltérő mértékű kölcsönhatásként definiálható. A VCD mérések során, az ECD spektroszkópiával analóg módon, egy különbségspektrumot kapunk, ami a beeső fény kétféleképpen polarizált komponensének infravörös abszorbancia spektrumainak különbségéből adódik.

A módszer az ECD spektroszkópiához képest több előnnyel is rendelkezik (Magyarfalvi 2011). Nem szükséges kromofór csoport jelenléte, a VCD spektrumok B3LYP szinten végzett elméleti kémiai módszerekkel nagy pontossággal számolhatók¹, és az infravörös spektrumhoz képest több információt hordoznak, ami lehetővé teszi az abszolút konfiguráció és a konformáció egyidejű meghatározását. A mátrixizoláció kiterjeszti (Tarczay 2006) a VCD módszer alkalmazhatóságát azokra a molekulákra, melyeknél az esetleges erős kölcsönhatások miatt az oldószeres méréseknél elmosódott, jellegtelen spektrumot kapnánk, így például lehetővé válik erős hidrogénkötéseket kialakító biomolekulák tanulmányozása.

3.6.2. A VCD spektrum

A VCD spektrum csúcseinak intenzitását és előjelét a molekula normáirezgéseibe tartozó ún. rotátorerősség szabja meg, ami a rezgéssel járó elektromos és mágneses dipólusmomentum skalárszorzatának imaginárius részével arányos:

$$R_{ab} = \text{Im}\{\langle a | \mu_e | b \rangle \langle b | \mu_m | a \rangle\}, \quad (1)$$

ahol μ_e az elektromos, μ_m a mágneses dipólusmomentum.

Ebből következik, hogy csak azon rezgések adnak VCD jelet, melyekben mindkét fajta (elektromos és mágneses) dipólusmomentum változik. Természetesen az IR spektrumban megjelenő sávok a VCD spektrumban is azonos hullámszámmal jelentkeznek. Ez már egyfajta asszignáció, melyhez az egyes konformerekre elméleti úton számolt VCD spektrumokban található csúcsok előjele (és intenzitása) adhat újabb támpontot. Lehetőség nyílna például két, az infravörös spektrumban közel eső csúcs besorolásának egyértelmű eldöntésére, ha az egyik pozitív a másik negatív előjelű (Tarczay 2006).

¹ Az ECD mérésekhez képest jóval kevesebb empirikus szabályt találtak a VCD spektrumok elemzésére, így a számolási módszerek fejlődése is fontos feltétele volt a VCD elterjedésének

4. Elméleti kémiai alapok

A kvantumkémiai számítások elméletét rengeteg tankönyv részletezi, ezért jelen fejezetben csak áttekintést kívánok adni a kvantumkémiai számítások háttéréről, az alkalmazott közelítésekről valamint az általam alkalmazott sűrűségfüggvény módszer elméletéről. A fejezet elkészítésekor zömében Veszprémi Tamás könyvére (Veszprémi, 2002) támaszkodtam.

4.1. Mikrorendszerek leírása

A kvantumelmélet első axiómája szerint, egy mikrorendszer (pl. egy molekula) fizikai állapotát az ún. hullámfüggvénnyel ($\Psi(x_1, y_1, z_1, x_2, y_2, z_2, \dots, x_n, y_n, z_n, t) = \Psi(\mathbf{r}, t)$) jellemezhetjük. Magához a hullámfüggvényhez nem rendelhetünk fizikai képet, de komplex konjugáltjával való szorzata, $\Psi^*(\mathbf{r}, t)\Psi(\mathbf{r}, t)$, adja a valószínűségét annak, hogy egy mikrorendszer adott t időpillanatban egy adott \mathbf{r} állapotban van. A második axióma szerint minden fizikai jellemzőhöz egy-egy önadjungált és lineáris kvantummechanikai operátort rendelhetünk. Az egyik legfontosabb ilyen operátor a Hamilton-operátor (vagy energia-operátor). A klasszikus mechanikából ismert módon a Hamilton-operátort is felbonthatjuk egy kinetikus és egy potenciális energia tagra:

$$\hat{H} = \hat{T}_N + \hat{T}_e + \hat{V}(\mathbf{R}, \mathbf{r}) \quad (2)$$

ahol \hat{T}_N és \hat{T}_e a mag ill. az elektron kinetikus energia operátora, a \hat{V} a potenciális energia operátor a mag- (\mathbf{R}) és elektronkoordináták (\mathbf{r}) függvényében.

A harmadik és negyedik axióma kimondja, hogy egy adott fizikai mennyiség mérésel meghatározható értékei megegyeznek a hozzárendelt operátor sajátértékeivel, valamint, hogy egy fizikai mennyiség várható értéke az alábbi egyenlet alapján adható meg:

$$\bar{A} = \langle \Psi | \hat{A} | \Psi \rangle \quad (3)$$

normált hullámfüggvény esetén.

Egy mikrorendszer időbeli viselkedése az időfüggő Schrödinger egyenlettel írható le, amit a kvantummechanika alapegyenletének is nevezhetünk:

$$\hat{H} \Psi(\mathbf{r}, t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi(\mathbf{r}, t) \quad (4)$$

ahol \hat{H} a Hamilton operátor, Ψ a hullámfüggvény, i az imaginárius egység, \mathbf{r} a térbeli- és spinkoordináták összessége, és $\hbar = \frac{h}{2\pi}$, ahol h a Planck-állandó. Ha a vizsgált molekula állapota időben állandó, az időfüggetlen Schrödinger egyenletet alkalmazzuk:

$$\hat{H} \Psi = E \Psi. \quad (5)$$

Azonban még az időfüggetlen Schrödinger egyenlet is csak a hidrogénatomra oldható meg analitikusan, nagyobb rendszerek vizsgálatához elengedhetetlenül szükséges bizonyos közelítések, elhanyagolások bevezetése.

4.2 A kvantumkémiában alkalmazott közelítések

4.2.1. Nemrelativisztikus kvantummechanika

Az időfüggetlen Schrödinger egyenlet elhanyagolja a relativisztikus effektusokat, mint például a spin-pálya csatolást. A nemrelativisztikus közelítés az első három periódus elemeire ad pontos eredményeket. Magasabb rendszámú elemek esetén a relativisztikus effektusok egyre meghatározóbbakká válnak, így valamilyen közelítéssel figyelembe kell őket venni.

4.2.2. A Born-Oppenheimer közelítés

A Born-Oppenheimer közelítés alapja a mag- és elektronmozgás szétválasztása. Erre az ad alapot, hogy a protonok kb. 2000-szer nehezebbek az elektronoknál, így mozgásuk sokkal lassabb. Az elektronok mozgásához képest helyzetük állandónak tekinthető, emiatt a Schrödinger egyenletet felbonthatjuk egy elektron-

$$\hat{H}_e \Psi_e(\mathbf{r}; \mathbf{R}) = E(\mathbf{R}) \Psi_e(\mathbf{r}; \mathbf{R}) \quad (6)$$

$$\hat{H}_e = \hat{T}_e + \hat{V}(\mathbf{R}, \mathbf{r}) \quad (7)$$

és egy magmozgást leíró részre

$$\hat{H}_N \Psi_N(\mathbf{R}) = E(\mathbf{R}) \Psi_N(\mathbf{R}) \quad (8)$$

$$\hat{H}_N = \hat{T}_N + E(\mathbf{R}) \quad (9)$$

A Born-Oppenheimer közelítésnek két fontos következménye van. Egyrészt elegendő megoldani az elektronok Schrödinger egyenletét, és utólag korrigálni a mag-mag taszítással, hogy megkapjuk a teljes belső energiát. Másrészt, mivel az elektronok Schrödinger egyenletének megoldását adott magkoordináták esetén kapjuk, ezek változtatásával természetesen a megoldás is változik így, a molekulák ún. potenciális energia felszínét térképezhetjük fel. E felület pontjai egy adott magkonfigurációhoz tartozó elektronenergiát, minimumai a stabil térszerkezeteket, elsőrendű nyeregponjtjai pedig az átmeneti állapotokat adják meg.

4.2.3. Az egyelektron módszer

Az előző két közelítés alkalmazásával a hullámfüggvényt leegyszerűsítettük: a spin-pálya csatolást és a magkoordinátákat is elhagytuk. Mindezek ellenére még mindig csak egyelektronos rendszerek esetén jutunk analitikus megoldáshoz, az elektron-elektron tasztíási tag miatt. Hartree javasolta, hogy a többelektronos rendszerek hullámfüggvényét egyelektronos hullámfüggvények szorzatából álló függvénnyel közelítsük, a Hartree szorzattal:

$$\Psi_0 = \psi_0(1) \psi_0(2) \psi_0(3) \dots \psi_0(n) \quad (10)$$

Az egyenlettel két probléma van: csak a térbeli pályákat tartalmazza, a spinpályákat nem, valamint, hogy nem antiszimmetrikus a tagok felcserélésére, tehát a Pauli-elv nem teljesül. E hiányosságokat Fock és Slater korrigálta. A Slater által megalkotott hullámfüggvény spinpályákból áll, melyek az elektronpályák és az α illetve β spin szorzata. Az antiszimmetrikusságot a biztosítja, hogy a hullámfüggvényt determináns formájában adjuk meg (ha egy determináns két sorát felcseréljük, a determináns előjelet vált), ez az ún. Slater-determináns.

$$\Phi(1\dots n) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} \varphi_1(1) & \dots & \varphi_1(n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \varphi_n(1) & \dots & \varphi_n(n) \end{vmatrix} \quad (11)$$

Ahol $1/\sqrt{n!}$ a normálási tényező. Megköveteljük továbbá a spinpályák ortogonalitását:

$$\langle \varphi_i | \varphi_j \rangle = \delta_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, n_e \quad (12)$$

ahol δ_{ij} a Kronecker-delta, melynek értéke 1, ha $i=j$, és 0, ha $i \neq j$.

Az egyelektron-közelítés előnye, hogy nagymértékben leegyszerűsíti a Schrödinger egyenlet numerikus megoldását, az elektronok közti kölcsönhatást viszont teljesen elhanyagolja. Az elektrontasztítást azonban legalább részben figyelembe kell venni. Ezt egy olyan effektív potenciál definiálásával érjük el, melyben minden egyes elektron az összes többi elektron által létrehozott térben mozog, de formálisan az összestől függetlenül (így kapjuk a Fock-operátort). E modell másik neve ezért független részecske modell.

E modell teszi lehetővé a Hartree-Fock egyenletek iteratív megoldását, melynek ismertetésétől azonban jelen munkában eltekintek.

4.3. A sűrűségfunkcionál módszerek elmélete

Mint említettem, a $\Psi^*(\mathbf{r})\Psi(\mathbf{r})d\mathbf{r}$ kifejezés annak valószínűségét méri, hogy az első részecske r_1 és r_1+dr_1 , a második részecske r_2 és r_2+dr_2 , stb. térrészben található. Ha a rendszerben több elektron van, és közülük egy elektron tartózkodási valószínűségére vagyunk kíváncsiak, a többi elektron tartózkodási valószínűségét összegezzük a teljes térre. Mivel az elektronok nem megkülönböztethetők, így annak a valószínűsége, hogy egy tetszőleges elektront találunk egy adott térrészben az egyes elektronok megtalálási valószínűségének összege:

$$\rho(r) = n \int_{-\infty-\infty}^{\infty} \int_{-\infty-\infty}^{\infty} \dots \int_{-\infty-\infty}^{\infty} \Psi^*(1,2,\dots,n)\Psi(1,2,\dots,n)dr_2dr_3\dots dr_n \quad (13)$$

Ez a függvény az elektronsűrűség, ami leírja, hogy a tér adott tartományaiban milyen valószínűséggel találunk elektronokat. Az elektronsűrűség egy háromváltozós térbeli függvény, melyet a teljes térre integrálva az elektronok számát kapjuk:

$$\int \rho(r)dr = n \quad (14)$$

A molekula elektronjainak eloszlását a külső potenciál egyértelműen meghatározza. Ugyanakkor az első Hohenberg-Kohn tétel kimondja, hogy ez fordítva is igaz: egy adott elektronsűrűség a külső potenciált egyértelműen megadja. Bármilyen mérhető fizikai mennyiség tehát az energiasűrűség funkcionálja.

Ez a tétel teszi lehetővé, hogy a hullámfüggvény-alapú számolásokat elektronsűrűség alapúakkal váltsuk fel: ez a módszer a sűrűségfunkcionál elmélet. Ennek nagy előnye, hogy az elektronsűrűség függvény mindig háromváltozós, ami jelentősen gyorsítja a számításokat, ám emellett igen pontos eredményeket szolgáltat.

Ha az energia várható értékét felírjuk, mint a sűrűség funkcionálját, az alábbi egyenlethez jutunk:

$$E[\rho] = \hat{T}[\rho] + \hat{V}_{ee}[\rho] + \hat{V}_{ne}[\rho] \quad (15)$$

ahol $\hat{T}[\rho]$ a kinetikus energia tag, $\hat{V}_{ee}[\rho]$ az elektrontaszítási potenciál és $\hat{V}_{ne}[\rho]$ a külső potenciál. Belátható, hogy ez utóbbi energiajáruléka az elektronsűrűséggel kifejezhető:

$$\hat{V}_{ne} = -\sum_{i=1}^n \sum_{\alpha=1}^N \frac{Z_{\alpha} e^2}{r_{i\alpha}} = \sum_{i=1}^n v(r_i) = nv(r_i) \quad (16)$$

$$\hat{V}_{ne}[\rho] = \int \Psi^*(1, \dots, n) \Psi(1, \dots, n) \sum_i v(r_i) dr_1 \dots dr_n = \int \rho(r) v(r) dr \quad (17)$$

A másik két tag összevonásával kapjuk az ún. Hohenberg-Kohn funkcionált:

$$\hat{F}[\rho] = \hat{T}[\rho] + \hat{V}_{ee}[\rho] \quad (18)$$

mely a külső potenciáltól független, csak a részecskeszámtól függ. A $\hat{V}_{ee}[\rho]$ potenciál a klasszikus elektron-elektron taszítási tagot és a nem klasszikus kicserélődési tagot tartalmazza. Mindezeket felhasználva az energiafunkcionált az alábbi formába írhatjuk.

$$\hat{E}[\rho] = \hat{F}[\rho] + \int \rho(r) v(r) dr \quad (19)$$

A sűrűség meghatározásának lehetőségét a második Hohenberg-Kohn tétel nyújtja, amely kimondja, hogy létezik egy $E_{HK}[\rho]$ energiafunkcionál, melyre igaz, hogy ha $\rho(r)$ az adott rendszer alapállapotának elektronsűrűsége, és E_0 az alapállapot energiája, akkor: $E_{HK}[\rho] > E_0$ bármely $\rho \neq \rho_0$ esetén, tehát lehetőség nyílik variációs alapú megoldásra.

A megoldás elé azonban akadályt gördít, hogy a $\hat{F}[\rho]$ egzakt formáját nem ismerjük. A probléma megoldására Kohn és Sham fejlesztettek ki egy megoldást. Egy olyan referenciarendszert alkalmaztak, melyben nincs elektron-elektron kölcsönhatás. E rendszer kinetikus energia funkcionálját (\hat{T}_s) használták a kölcsönható rendszer leírására, a kettő közti különbséget ($E_c = \hat{T}_s[\rho] - \hat{T}[\rho]$), az elektronkorrelációs tagot, összevonták az elektron-elektron taszítási potenciál kicserélődési tagjával:

$$\hat{F}[\rho] = \hat{T}_s[\rho] + \hat{J}[\rho] + \hat{E}_{xc}[\rho] \quad (20)$$

ahol $\hat{J}[\rho]$ a klasszikus Coulomb taszítási tag. E kifejezésből \hat{T}_s számítható és $\hat{J}[\rho]$ sűrűségfüggése ismert, az \hat{E}_{xc} kicserélődési-korrelációs funkcionált azonban nem ismerjük, és ennek becslésén alapul a módszer alkalmazhatósága.

Az utóbbi időben számos kicserélődési- és korrelációs funkcionált is kidolgoztak, melyek közül terjedelmi okok miatt csak az általam alkalmazott B3LYP és M05-2X funkcionálok ismertetem.

Nagy molekulák számításához az egyik legelterjedtebben használt DFT módszer a B3LYP funkcionál (Becke 1993, Lee 1988, Stephens 1994). Az elnevezésben a „B3” Becke háromparaméteres hibrid funkcionálját jelöli (a hibrid módszerek közös jellemzője, hogy E_{xc} számítása a HF kicserélődési tag és a DFT kicserélődési-korrelációs funkcionál valamilyen kombinációjával történik), míg a „LYP” a Lee-Yang-Parr korrelációs funkcionált.

A kicserélődést leíró rész egy ún. gradienssel korrigált funkcionál, ami figyelembe veszi az elektronsűrűség első és második deriváltjait is. Az illesztési paraméterek kísérleti ionizációs energiákhoz, protonaffinitásokhoz, atomizációs energiákhoz illesztett empirikus állandók.

A B3LYP funkcionál nagy hátránya, hogy nem írja le a diszperziós erőket. E probléma megoldásával számos kutatócsoport próbálkozik, más-más közelítésmódot alkalmazva. Grimme és munkatársai London-potenciál tagokkal korrigálják a kapott energiát, Truhlar és munkatársai pedig további parametrizálással finomított hibrid-meta-GGA funkcionálok fejlesztenek (Zhao 2006). A diszperziós kölcsönhatások *ab initio* kezelésének lehetőségét is kutatják.

Számolásaim során a Truhlar által megalkotott M05-2X funkcionált (Zhao 2006) alkalmaztam, melyet kifejezetten nem kovalens kölcsönhatásokat tartalmazó rendszerek termodinamikai paramétereinek számolásához optimalizáltak.

4.4. Bázisfüggvények

A mikroszisztemeket jellemző egyelektron hullámfüggvényeket általában egyszerűbb függvények, ún. bázisfüggvények lineárokombinációjával állítjuk elő. Értelemszerűen minél több függvényt használunk fel a hullámfüggvény előállítására, annál pontosabb lesz az eredmény. Ugyanakkor a felhasználható bázisfüggvények számának gátat szab a számítási kapacitás: a kételektron integrálok száma a bázisfüggvények számának negyedik hatványával növekszik. Hasonlóképp skálázódik az integrálok tárolásához szükséges lemezterület mérete is.

Kezdetben az ún. Slater-típusú függvényeket használták, melyet a hidrogénatom analitikus megoldásával kapott függvények radiális tagjának egyszerűsítésével állítottak elő².

² A hidrogénatom megoldásával kapott függvények természetesen jobb leírást adnának, de ezek integrálása nagy nehézségekbe ütközik

Bár a Slater függvények jó leírást adnak, integrálásuk még mindig számításigényes, emiatt javasolta Boys (Boys, 1950) a Gauss-függvények használatát:

$$g_{kpg} = N x^k y^p z^q \exp(-\zeta r^2) \quad (21)$$

Az exponenciális tag a távolságfüggést, a $x^k y^p z^q$ szorzat pedig a szögfüggést írja le, a k, p, q és ζ variációs paraméterek. A k, p, q paraméterek összege egy adott impulzusmomentumkvantumszámot, ennek megfelelően egy s, p, d, \dots , stb. típusú függvényt ad meg. A Gauss-függvények előnye, hogy analitikusan integrálhatók, valamint, hogy két Gauss-függvény szorzata is Gauss-függvény. Emiatt a kételektron integrálok kiszámolása jelentősen leegyszerűsödik. A Gauss-függvények hátránya a Slater típusú függvényekhez képest, hogy lecsengésük meredekebb, és nem adják vissza az előbbiekre jellemző éles csúcsot az atommag helyén.

Gyakori eljárás, hogy Gauss-függvények lineárkombinációjával Slater-típusú függvényeket állítanak elő, ekkor beszélünk az ún. kontrahált bázisokról:

$$\chi_{STO} = \sum_{i=1}^r d_i g_i \quad (22)$$

Mint már említettem, a számítási igény korlátot szab a felhasználható bázisfüggvények mennyiségének. A minimális bázis egy darab kontrahált bázisfüggvényt használ minden betöltött pályára, például C , N , és O esetén két s -pályát ($1s$, $2s$) és három p -pályát ($2p_x, 2p_y, 2p_z$). Ha megkétszerezük, ill. megháromszorozzuk a betöltött pályák leírására alkalmazott függvények számát, ún. kétszeres zéta (Double Zeta, DZ) vagy háromszoros zéta (Triple Zeta, TZ) bázisokról beszélünk. Mivel molekuláris kölcsönhatásokban a törzselektronok szerepe jóval kisebb, ezek leírását gyakran minimális bázissal, a vegyértékelektronokat nagyobb, DZ vagy TZ bázissal kezelik. Ekkor beszélünk felhasított vegyérték (*split valence*) bázisokról. Erre példa a jelen munkában is használt 6-31G és 6-311G bázis (a kötőjel választja el a törzselektronokra, ill. a vegyértékelektronokra használt bázis jelölését). Az előbbi esetén a törzselektronokra egy darab, 6 Gauss-függvényből, a vegyértékelektronokra két darab, három, ill. egy Gauss-függvényből kontrahált bázis alkalmazunk. A 6-311G bázis esetén a vegyértékelektronokra egy további, egy Gauss-függvényből kontrahált bázisfüggvényt alkalmazunk.

A bázis további javítása ún. polarizációs és diffúziós függvények hozzáadásával lehetséges. Az előbbi az adott pályánál magasabb mellékkvantumszámú pályákat alkalmaz annak leírására, így az elektroneloszlás anizotroppá tehető, ami például javítja a magános elektronpárt tartalmazó rendszerek leírását. A polarizációs függvények használatát a bázis megnevezésekor a *-gal jelöljük, ha csak a nehézatomokra, és **-gal, ha a hidrogénatomokra is alkalmazzuk. Egy másik nevezéktan az alkalmazott polarizációs függvények megadása, pl. (d) ha d-pályákat helyezünk a nehézatomokra (ez felel meg a * jelölésnek), ill. (d,p) ha d-pályákat helyezünk a nehézatomokra, és p-pályákat a hidrogénekre (ez felel meg a ** jelölésnek).

A diffúziós függvények általában a leírt pályánál kisebb mellékkvantumszámúak és lassú lecsengéssel rendelkeznek (kis exponens). Ilyen függvények segítik a gyenge kölcsönhatásokat, pl. hidrogénkötést, tartalmazó rendszerek hatékonyabb leírását. Jelölésük a „+” jellel történik, ha csak a nehézatomokon alkalmazzuk a diffúziós függvényeket, ill. a „++” jellel, ha hidrogénatomokra is.

Az alkalmazott elméleti szint jelöléséhez az alkalmazott módszer rövidítését (ld. előző fejezet) a bázis jelölése elé írjuk, például B3LYP/6-31G*. Amennyiben az energiaszámolás és a geometriaoptimalás eltérő módszerrel történt, a // jelet alkalmazzuk (pl. B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d)).

A véges bázisok alkalmazása miatt kölcsönható rendszerek, például molekulakomplexek, számolásakor fellép az ún. bázis szuperpozíciós hiba (Basis Set Superposition Error, BSSE). A kialakuló kölcsönhatás energiája a végtermék molekulakomplex, és a kiindulási molekulák energiáinak különbségeként számítható:

$$\Delta E = E^{AB} - E^A - E^B \quad (23)$$

Ugyanakkor, a molekulakomplex számolásakor az egyik egység, a reakció egyik rész-molekulája, által fel nem használt bázisfüggvényeket (virtuális pályákat) a másik egység még használhatja. Emiatt a molekulakomplex bázisa formálisan nagyobb a monomerekre alkalmazottnál, ami a variációs elv miatt nagyobb stabilizációs energiát eredményez. A bázis méretének növelésével ez a hiba csökkenthető, de általában növekszik, ha azonos bázis mellett a számítás szintjét növeljük.

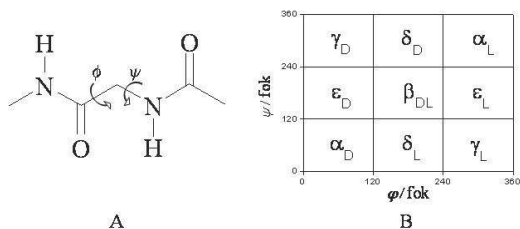
E hiba korrigálására leggyakrabban az ún. *counterpoise* (CP-) módszert (Boys, 1970) használják, melynek során a monomerek energiáját is a molekulakomplex teljes bázisával számolják.

5. Anyagok és módszerek

5.1. Kis modellpeptidek mátrixizolációs vizsgálata

5.1.1 Az α -aminosavak konformációs nevezéktana

Ahogy azt már a bevezetőben említettem, az aminosavak lehetséges konformációit az ún. Ramachandran-térképen ábrázolhatjuk. Dipeptid modellek esetén a gerinckonformációt 4 torziós szög határozza meg, melyből elegendő kettőt, a ϕ és ψ szögeket elemezni, ugyanis a másik két torziós szög az amidkötés atomjait írja le, és a peptidkötésben résztvevő elektronok delokalizációja miatt értékük csak 0° vagy 180° körüli lehet. A ϕ és ψ szögek változtatásával elméletileg 9 konformer állítható elő, ugyanis mindkét torziós szög konformációs terét 3 minimum jellemzi (*gauche+*, *anti*, ill. *gauche-*, Peterson, 1983, **4. ábra**). A továbbiakban az adott aminosav konformációjának leírására az itt bemutatott nevezéktant alkalmazom.



4. ábra: Az α -aminosavak jellemző gerinc torziós szögei, a hozzájuk tartozó Ramachandran-felszín, valamint a tipikus konformációk kódja (Perczel 1993)

A prolin esetén, a pirrolidin gyűrű állása alapján is különbséget tehetünk a konformerek között. Amennyiben a γ szénatom a gyűrű síkjából a karboxi-terminális irányába áll, „*exo*” ha ellenkező irányba, akkor „*endo*” állású gyűrűről beszélünk melyeket rendre a + ill. – jellel jelölünk.

5.1.2. FT-IR vizsgálatok

A mérések során a Bachem által forgalomba hozott *N*-acetyl-*N'*-metil-glicinamidot, *N*-acetyl-*N'*-metil-L-alaninamidot és *N*-acetyl-L-prolinamidot vizsgáltam. Külön tisztításra nem volt szükség. Az esetleges szennyeződések, a mintákénál jóval nagyobb illékonyaságuk miatt, már a tesztmérések során eltávoztak. Az oldószeres méréseket a Sigma-Aldrich által forgalomba hozott Riedel-de Haen spektroszkópiai tisztaságú diklórmétánban ill. Aldrich 99,9%-os tisztaságú DMSO-ban végeztem, 2 és 8 mg·cm⁻³ koncentrációjú oldatokkal. A hígítás nem változtatott a kapott spektrum tulajdonságain. A mérésekhez 1 mm ill. 0,207 mm rétegvastagságú CaF₂ küvetákat használtam. 2 cm⁻¹-es felbontással mértem. A spektrumokat 256 mérés átlaga képezte.

A mátrixizolációs mérésekhez a Tarczay György és munkatársai által tervezett mintabeeresztő rendszert alkalmaztam. Az anyagokat egy speciális Knudsen effúziós cellával párologtattam el. Az elpárologtatott minta gőzét argon ill. kripton (Messer, 99,996% tisztaság) gázzal keverve eresztettem be a mérőfejbe, 0,07 mmol/perc áramlási sebességgel. E sebességre a kellően híg, ugyanakkor kellően homogén mátrix kialakításához van szükség. A túl gyors beeresztés lokálisan megnövelheti a mátrix hőmérsékletét, ami megoldaszthatja, vagy megrepesztheti a levált kristályt, nagyban lecsökkentve a jelintenzitást.

A kezdeti mérések során meghatároztam azt a szükséges hőmérsékletet, mellyel már értékelhető jel kapható, ugyanakkor nem indul meg az intenzív szublimáció, ami az asszociált formához tartozó csúcsok megjelenését eredményezné. A mintabeeresztő hőmérsékletét 77 °C-ra állítottam Ac-Gly-NHMe, 70 °C-ra Ac-L-Ala-NHMe és 72 °C-ra Ac-L-Pro-NH₂ esetén.

A fűtés, a gázáram valamint a megfelelő hőmérséklet beállítása után az első méréseket üres beeresztőrendszerrel végeztem, hogy képet kapjak a várható szennyezőkről, amik egyrészt a teflonból, másrészt a fűtőpatron porcelán szigeteléséről kerülhetnek a rendszerbe. A tapasztalat szerint ezek kis intenzitásúak, a vizsgált régiókat nem érintik.

A mátrixot egy 8-10 K fokra hűtött CsI (FT-IR mérésekhez) ill. BaF₂ (VCD mérésekhez) kifagyasztó ablakra választottam le, egy CTI Cryogenics 22 zártkörű héliumos hűtővel hűtött Janis CCS-350R mérőfejben.

Az FT-IR mérések esetében a beeresztőnyílás és az infravörös sugár egymásra merőlegesek voltak, a kifogyszó ablak 45° -os szöget zárt be mindkettővel. Ez az elrendezés lehetővé tette az egyidőben történő leválasztást és mérést. A leválasztási idő kb. 3–4 óra ($A \approx 0,3$ a legerősebb sávra) volt. Az IR spektrumok felvételéhez egy Bruker IFS55 FT-IR spektroszkópot használtam, KBr/Ge sugárosztóval és DTGS detektorral felszerelve. 1 cm^{-1} -es felbontással mértem, a spektrumok 1000 mérés átlagai. A Fourier-transzformáció során Happ-Genzel apodizációs függvényt, Mertz-féle fáziskorrekciót, 4-es nullafeltöltést és 4-es fázisfelbontást alkalmaztam. Ha az interferencia miatt ez szükséges volt, az alapvonalat polinomiális illesztéssel javítottam. Az összeolvadt csúcsokat nemlineáris illesztéssel és Fourier dekonvolúcióval is felbontottam, mindkét módszerrel azonos eredményt kaptam.

5.1.3 VCD vizsgálatok

Mivel a VCD csak királis molekulák esetén alkalmazható, ezért a glicinszármazékról nem vettem fel spektrumot.

Az oldószeres méréseket az FT-IR méréseknél használtakkal azonos körülmények között végeztem. A 4 cm^{-1} felbontású spektrumok 24 524 mérés (7 óra) átlagai. Az alapvonalat az azonos körülmények között felvett tiszta oldószer spektrumokkal korrigáltam.

A mátrixizolációs VCD spektrumok esetében a kifogaszó ablaknak merőlegesnek kell lennie a fényútra, hogy minimalizálja az VCD spektrumokban megjelenő artifaktumokat. Emiatt ezekhez a mérésekhez egy forgatható mérőfejet használtam.

A FT-IR méréseknél alkalmazott beeresztési paramétereken (hőmérséklet, argonáramlás, mátrixképző gáz) nem változtattam, csak a leválasztási időt növeltem 10-15 órára ($A \approx 1,0$ a legerősebb sávra). Erre azért volt szükség, mert az IR spektrumokhoz elegendő 0,2-0,3 abszorbancia érték helyett VCD mérések esetén az 1-hez közeli abszorbancia érték elérése a jó minőségű spektrum feltétele. A VCD méréseket egy PMA37 VCD feltétellel ellátott Equinox 55 FT-IR spektrométerrel végeztem. Az általam használt műszerben a polarizációs szűrő egy tallium-jodid-bromid (KRS-5) hordozóra felvitt, finom eloszlású optikai rácsot képző vékony fémréteg volt, fotoelasztikus modulátorként pedig ZnSe kristályt alkalmaztam. A műszer kalibrálását CdS lemezzel végeztem, a mintán áthaladó fény intenzitását MCT detektorral mértem. A 2 cm^{-1} felbontású spektrumok 55136 mérés (28 óra) átlagai argon- és 27568 mérés (14 óra) átlagai kripton mátrixképző gáz esetében. Az alapvonalat egy olyan polinomiális függvénnyel korrigáltam, amit a MI-IR spektrumokban 0 abszorbanciát adó pontokra illesztettem. A Fourier-transzformáció során 4 tagú Blackmann-Harris apodizációs függvényt, Mertz-féle fáziskorrekciót, 4-es nullafeltöltést és 16-os fázisfelbontást alkalmaztam.

5.1.4. Elméleti kémiai számítások

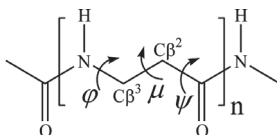
Mindegyik aminosav esetében a számolt kiindulási térszerkezeteket ugyanazon térszerkezetből hoztam létre. A φ és ψ szögeket (Császár 1999) a tipikusan előforduló β_{DL} , γ_L , γ_D , α_L , α_D , δ_L , δ_D , ε_D and ε_L konformációkra (Perczel 1991) jellemző értékre állítottam (prolin esetén csak a γ_L ε_L α_L térszerkezetek lehetségesek, a pirrolidin gyűrű ugyanis merevíti a rendszert). E térszerkezeteket ezután B3LYP/6-31G(d) és B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinteken optimaláltam. A harmonikus rezgési frekvenciákat, IR intenzitásokat és rotátoterősségeket a B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten határoztam meg, „scaled quantum mechanical” (SQM) erőter módszer (Pulay 1983, Baker 1998) és a Baker által meghatározott skálafaktorokat (Baker 1998) alkalmazva. A spektrumok generálásához az egyes konformerek előfordulási aránnyal súlyozott spektrumainak összegét használtam fel. Az előfordulási arányokat a B3LYP/6-31++G(d,p) szinten, a beeresztés hőmérsékletén számolt szabadentalpia értékekből határoztam meg. A spektrum szimulációjához 2 cm^{-1} félértékszélességű Lorentz-görbét alkalmaztam.

A β_{DL} konformációjú Ac-L-Ala-NHMe szimmetrikus és aszimmetrikus karbonil nyújtási rezgéseikhez tartozó potenciális energia- és a rotátorerősség-felületét is meghatároztam az egyensúlyi térszerkezet környezetében B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten. Az egyensúlyi értékükön és annak $\pm 3^\circ$ -os környezetében 1° -os lépésközönként rögzített gerinctorziós szögekkel rendelkező térszerkezetek alkották a felszín pontjait. Az összes egyéb koordinátát „*very tight*” kritériummal optimaláltam. A fent említett számolásokat a PQS (Parallel Quantum Solutions) 3.2 programcsomaggal végeztem (PQS 3.2). Az oldószeres mérések spektrumainak számolásához a rotátorerősségeket PCM modell (Tomasí 1994) alkalmazásával is kiszámoltam. E számolásokhoz a Gaussian 03 programcsomagot alkalmaztam (Gaussian 03).

5.2 A β -aminosavak redős szerkezeteinek vizsgálata

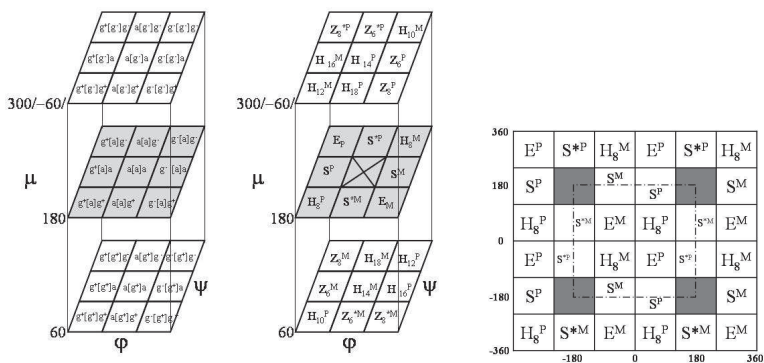
5.2.1 A β -aminosavak konformációs nevezéktana

A β -aminosavakból felépülő dipeptid modellek esetén a gerinc konformációt, a gerincben található extra metilénsoport miatt 5 torziós szög határozza meg (melyből azonban kettő amidkötéshez tartozik, így értékük $\sim 180^\circ$). Az α -aminosavak esetén már tárgyalt φ és ψ szögek mellett a μ torzió szöget is elemeznünk kell (5. ábra).



5. ábra: A β -aminosavak jellemző gerinc torziós szögei

Ez egy újabb dimenziót jelent, emiatt a β -aminosavak konformációs terét az α -aminosavaknál alkalmazott Ramachandran-felszín helyett egy „Ramachandran-kockával” jellemezhetjük, melyen, mivel mindhárom torziós szög a már említett *gauche+*, *anti* ill *gauche-* értékeket veheti fel, 27 elméletileg várható konformer azonosítható. Az adott torziós szög-hármassal jellemezhető konformerekre Beke és munkatársai javasoltak egy egységes nevezéktant (Beke 2006a, 6. ábra). Értekezésemben e nevezéktant alkalmazom.



6. ábra: A β -aminosavak lehetséges térszerkezeteinek Ramachandran-kockája (a konformációs kódok, ill. elnevezésük, Beke 2006a), és annak $\mu=180^\circ$ -nál vett, általunk vizsgált metszete.

Az egyszerűség kedvéért a poláros és apoláros redők elnevezéséhez azt a 4 lehetséges térszerkezetet használtam fel, melyből felépülhetnek: H_{8M} (a továbbiakban A), H_{8P} (a továbbiakban B), S_P (a továbbiakban C), S_M (a továbbiakban D). A két H_{8M} szálból felépülő redő tehát az AA redő, az egy S_P és egy S_M szálból felépülő a CD redő, stb. Abban az esetben, mikor a redőket felépítő szálakat elemzem, az egyik illetve másik szálát az „a” és „b” betűkkel jelölöm.

5.2.2 Elméleti kémiai számítások

Számításaimhoz a Gaussian 03 és 09 (Gaussian 09) programcsomagokat alkalmaztam. Elsőként az Ac- β -Ala-NHMe potenciális energia felszínét határoztam meg RHF/3-21G elméleti szinten. A rácspontokat alkotó térszerkezetek létrehozásához a φ és ψ torziószögeket változtattam 0° és 360° között 5° -os lépésként, 72×72 rácspontot kapva. A μ torziós szöget *anti* helyzetben rögzítettem, mert a *gauche* állású μ torziós szöget tartalmazó térszerkezeteket már vizsgálták (Mandity 2009), Ez a megkötés 9-re csökkentette az elméletileg lehetséges térszerkezeti építőelemek számát, melyekből 8-at azonosítottam.

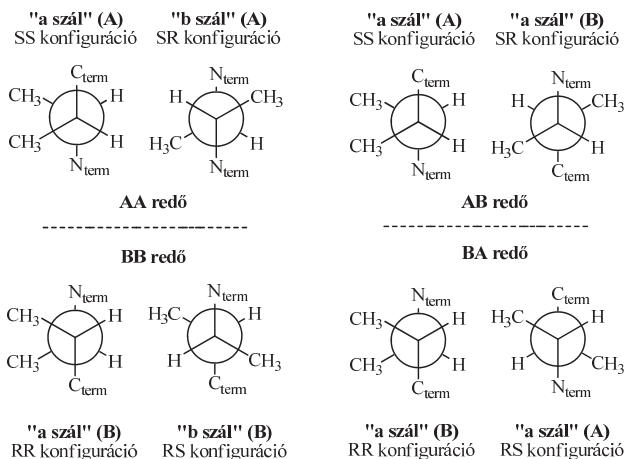
Ezt követően a 8 homokonformerből felépített $HCO-(\beta\text{-Ala})_4\text{-NH}_2$ szálakra végeztem teljes geometriaoptimalást RHF/3-21G elméleti szinten. A stabilis térszerkezeteket tovább optimaltam a M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten. Végül a stabilisnak talált szálakból felépített $[HCO-(\beta\text{-Ala})_4\text{-NH}_2]_2$ redős szerkezetek optimalását végeztem el a már említett elméleti szinten.

Harmonikus rezgési frekvenciákat is számoltam M05-2X/6-31G(d) szinten, a szabad szálakra és a redős szerkezetekre is, hogy a redőképződést kísérő entalpia, entrópia és szabadentalpia változást vizsgálhassam. A redők stabilitásának lánchossztól való függésének vizsgálatához a fent említett számításokat az egy és kétszálú tripeptid, $[HCO-(\beta\text{-Ala})_3\text{-NH}_2]_{1,2}$ modellekre is elvégeztem.

A diszperziós erőket is figyelembe vevő M05-2X funkcionál mellett, az elterjedten használt B3LYP funkcionál alkalmazásával is elvégeztem a már említett számolásokat, a B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten.

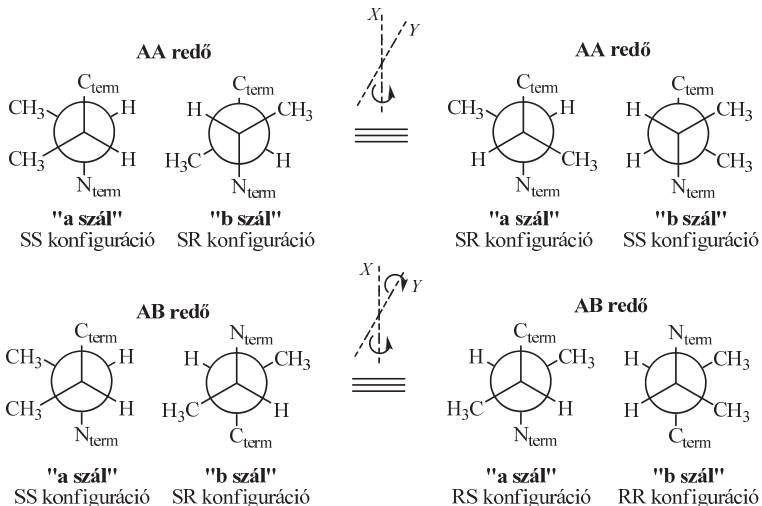
A BSSE hiba kiküszöbölésére nagy bázisú energiaszámításokat végeztem M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) illetve B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken, ugyanis ilyen elméleti szinten a BSSE hiba elhanyagolható (Beke 2006b). Ezeket az energiaszámításokat víz és heptán közege is elvégeztem az IEF-PCM oldószer modell (Tomasi 1994) alkalmazásával.

A diszubsztituált származékok vizsgálata is a fent említett módszerekkel történt. Bár a 2x2 kiralitáscentrum 16 lehetséges konfigurációt tesz lehetővé, a konfiguráció stabilitásra tett hatásának vizsgálatához elég csak hatot vizsgálni. Mivel egy bizonyos redő (AA vagy AB) és annak tükörképi párja (BB, és BA) is egyenlő eséllyel alakulhat ki, az enantioméria miatt elegendő csak 8 konfigurációt vizsgálni: az SR konfigurációjú A szál és az RS konfigurációjú B szál egymás tükörképei. Például AA redő esetén, az SRSS konfiguráció stabilabb, mint az RSRR konfiguráció, tehát elegendő az előbbi vizsgálata, hisz egy RS meg egy RR konfigurációjú szál esetén RSRR konfigurációjú BB redő alakul ki, amely az előbb említett SRSS konfigurációjú AA redő enantiomerje (7. ábra).



7. ábra: A C α -C β kötés Newman projekciói AA, BB, AB és BA redők esetén. Az ábrázolt AA és BB, ill. AB és BA redők egymás enantiomerjei

Egy másik fontos elem a két redőalkotó szál egyenrangúsága. Mivel nincs stabilizáló kanyarszerkezet, a két szál „felcserélhető”. Emiatt vegyesen diszubsztituált redők esetén a két lehetséges konfigurációból elég az egyiket vizsgálni: például AA redő esetén az SRSS és SSSR konfigurációjú redők, AB redő esetén pedig az SRSS és RRRS konfigurációjú redők azonos térszerkezetűek (**8. ábra**). Emiatt a megmaradt 8 konfigurációból elegendő 6-ot vizsgálni.



8. ábra: A Ca-C β kötés Newman projekciói AA és AB redők esetén. Az ábrázolt AA ill AB redők azonosak.

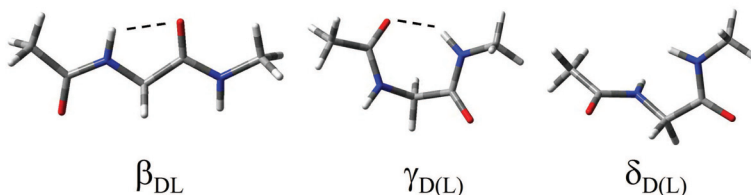
6. Eredmények

6.1 Kis modellpeptidek mátrixizolációs vizsgálata

Peptidek IR és VCD spektrumaiban az amidcsoportok rezgési átmenetei a legnagyobb intenzitásúak, valamint a gerinckonformációra is érzékenyek. Mindezek miatt dolgozatomban a glicin- és alaninszármazék esetén csak az amid A-, amid I- és amid II régiók elemzésére szorítkozom. A prolinszármazék esetében az alacsonyfrekvenciás régió is hasznos információt szolgáltatott az *endo*- ill *exo* állású gyűrűs szerkezetek azonosításához. A legtöbb esetben az amidcsoportok rezgési átmenetei egyértelműen hozzárendelhetők az *N*- és *C*-terminális amidcsoportokhoz. A β_{DL} konformer amid I rezgései azonban erősen csatoltak emiatt egyszerűbben jellemezhetők ún. szimmetrikus és antiszimmetrikus módusként.

6.1.1 Az *N*-acetyl-*N'*-metil-glicinamid

Mivel az Ac-Gly-NHMe akirális molekula, a γ_D és γ_L illetve a δ_D és δ_L tükörképi konformációk azonosak. Ezek miatt, e konformerek előfordulási arányát kétszeres szorzóval figyelembe véve, valamint a beeresztett gáz hőmérsékletén, 350 K-en, számolt szabadentalpia értékeket felhasználva a számítások a β_{DL} konformer előfordulási arányát ~72%-nak, a γ_{DL} -ét ~24%-nak, a δ_{DL} -ét ~3%-nak becsülik (9. ábra, 2. táblázat). A potenciális energia felületen (PEF) nem azonosítottam α_{DL} és ϵ_{DL} konformerekhez tartozó minimumot.



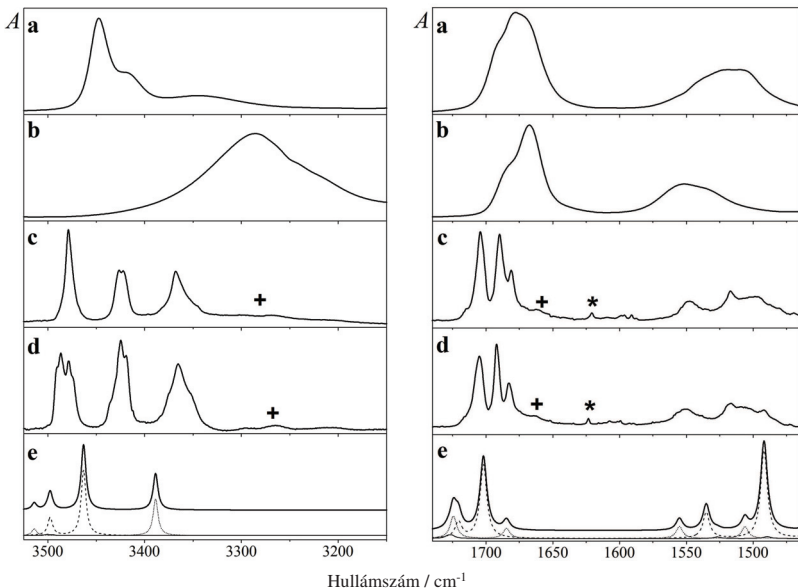
9. ábra: Az Ac-Gly-NHMe három legstabilabb térszerkezete, B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten számolva

2. táblázat: Az Ac-Gly-NHMe, spektrumban várható konformereire jellemző zéruspont korrigált ill. 350 K-re számolt szabadentalpia-értékek és előfordulási arányok (E. A.).

konformer	B3LYP/6-31G*			B3LYP/6-31++G**		
	ΔG° (0 K)	ΔG° (350 K)	E. A. (350 K)	ΔG° (0 K)	ΔG° (350 K)	E. A. (350 K)
β_{DL}	0,75	0,00	0,725	0,00	0,00	0,723
$\gamma_{D=L}$	0,00	5,15	0,247	0,28	5,19	0,243
$\delta_{D=L}$	9,29	11,45	0,028	7,97	10,89	0,034

Oldószeres IR spektrumok

Az Ac-Gly-NHMe DCM-ben és DMSO-ban felvett spektrumában az egyes konformerekhez tartozó csúcsok az amid régióban nem választhatóak szét teljesen (**10. ábra**).



10. ábra: Az Ac-Gly-NHMe IR spektrumának amid A (bal) és amid I-II (jobb) régiója DCM és (a), DMSO oldószerekben (b), kripton- (c) és argonmátrixban (d) valamint B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számolások alapján (e). A nyomnyi mennyiségben jelenlévő víz jeleit *, az aggregátumokét + jelzi.

A DCM-ben felvett spektrum amid I régiójában egy széles csúcs figyelhető meg 1670 és 1710 cm^{-1} között, melyet 3 csúcsra lehet felbontani (1692, 1680 és 1669 cm^{-1}). A számolt eredmények alapján a spektrum teljes egészében értelmezhető a 2 fő konformer jelenlétét feltételezve (**3. táblázat**). Az első csúcsot a β_{DL} konformer szimmetrikus- és a γ_{DL} konformer C-terminális amid I rezgési módusának összeolvadt csúcsaként asszignálhatjuk. Az 1680 cm^{-1} -nél található csúcsot a β_{DL} konformer aszimmetrikus-, az 1668 cm^{-1} -nél található, pedig a γ_{DL} konformer N-terminális rezgési módusához rendelhetjük.

A DCM-ben felvett spektrumtól eltérően, a DMSO-ban felvett spektrumok esetén az amid I régióban megfigyelhető csúcs csak két, 1683- és 1667 cm^{-1} hullámszámú csúcsra bontható fel. Az eltérést két elmélettel magyarázhatjuk. Az egyik lehetőség az lehet, hogy a DCM-ben felvett spektrumban található két csúcs eltérő mértékű eltolódást szenved DMSO-ban, ami e két csúcs összeolvadását eredményezi. A második eshetőség, hogy a DCM-hez képest erősebb H-akceptor (koordináló) tulajdonsága miatt a DMSO csak egy, viszonylag nyílt térszerkezetű konformert stabilizál (pl. β_{DL}), hogy az oldószer-molekulák az amidcsoporthoz koordinálódhassanak. Az utóbbi lehetőség valószínűbbnek tűnik, ugyanis DMSO-ban felvett spektrumok esetén mindhárom amid régió értelmezhető mindössze egy konformer jelenlétét feltételezve. Mindkét oldószer esetén tapasztaltuk egy kis csúcs megjelenését 1651 cm^{-1} -nél, ami valószínűleg a hidrogénkötéses (Ac-Gly-NHMe)₂ dimereknek tulajdonítható.

3. táblázat: Az Ac-Gly-NHMe amid A, amid I és amid II régióit jellemző számolt (SQM B3LYP/6-31G*) és mért rezgési frekvenciák

Asszignáció	Számolt	Ar mátrix	Kr mátrix	DCM	DMSO ^g
Amid A					
$\gamma_{D=L}$ N-term	3514	3487, 3490 ^b	3479 ^c	3448 ^c	
$\delta_{D=L}$ C-term	3501				
β_{DL} C-term	3498	3478, 3475 ^b	3479 ^c	3448 ^c	3285, 3266 ^b
$\delta_{D=L}$ N-term	3495				
β_{DL} N-term	3463	3425, 3419 ^d	3426, 3422 ^d	3419	3243 ^b , 3218 ^b
$\gamma_{D=L}$ C-term	3389	3365 ^{d,b} , 3374, 3354 ^{d,b}	3368 ^{d,b} , 3353, 3345 ^{d,b}	3345	
Amid I					
$\delta_{D=L}$ N-term	1728	1714 ^{b,c,e}	1713 ^{b,c,e}		
$\delta_{D=L}$ C-term	1726	1714 ^{b,c,e}	1713 ^{b,c,e}		
$\gamma_{D=L}$ C-term	1724	1705 ^c	1704 ^c	1692 ^{b,c}	
β_{DL} symm.	1721	1705 ^c	1704 ^c	1692 ^{b,c}	1683 ^b
β_{DL} asymm	1702	1692	1690	1680	1667
$\gamma_{D=L}$ N-term	1684	1683	1681	1669	
Amid II					
$\gamma_{D=L}$ C-term	1555	1550	1548	1555 ^b	
$\delta_{D=L}$ C-term	1527	1540 ^{b,c}	1537 ^{b,c}		
β_{DL} C-term	1535	1517	1517	1522 ^c	1552
$\gamma_{D=L}$ N-term	1506	1505 ^b	1505 ^b	1507 ^c	
β_{DL} N-term	1491	1491	1487	1507 ^c	1535 ^b
$\delta_{D=L}$ N-term	1489	1483 ^{b,c}	1479 ^{b,c}		

^amátrix felhasadás; ^bváll; ^cbizonytalan hozzárendelés; ^dfermi rezonancia; ^efelbontatlan sávok; ^gA DMSO oldószerben megfigyelt konformer jelentősen eltérhet a számolt β_{DL} szerkezettől az oldószer-molekula kölcsönhatások miatt

Az amid II régió csúcsai, 1560-1470 cm^{-1} között, még kevésbé szétválaszthatók. DCM esetén a széles csúcs 2-4 csúcsra bontható fel, míg DMSO-ban 2 csúcsra. Ez egybevág a fentebb tárgyalt értelmezéssel, miszerint DCM-ben 2 konformer, DMSO-ban pedig 1 konformer van jelen kimutatható mennyiségben.

A DCM-ben felvett spektrum amid A régiójában három, jól elkülönülő csúcsot találhatunk. A 3446 cm^{-1} -nél található jel a β_{DL} konformer C-terminális amid A módusához- valamint a γ_{DL} konformer N-terminális amid A módusához, azaz a hidrogénkötésben nem résztvevő N-H nyújtási rezgésekhez tartozó két csúcs összeolvadásával jött létre. A 3419 cm^{-1} -nél található csúcs pedig a β_{DL} konformer N-terminális amid A módusához rendelhető.

E hozzárendelések egybevágának a számolások eredményével, de egyéb megfontolásokat alapján is erre a következtetésre juthatunk. A β_{DL} konformer N-terminális amidcsoportja gyenge, C-5 hidrogénkötést alakít ki a C-terminális (C=O) amidcsoporttal, tehát a N-H nyújtási rezgéshez tartozó csúcs vöröseltolódást szenved a szabad N-H nyújtási rezgéshez tartozóhoz képest. További bizonyíték az is, hogy az Ac-L-Pro-NHMe DCM-ben felvett spektruma nagyon hasonló az Ac-Gly-NHMe spektrumához, azonban a 3419 cm^{-1} -nél található csúcs hiányzik, az e molekulára jellemző tercier amid kötés miatt. Tehát a 3419 cm^{-1} -nél található csúcs semmiképp nem rendelhető a C-terminális amidcsoporthoz.

Végezetül, a harmadik csúcs, az amid A régió alacsony energiájú tartományában, 3334 cm^{-1} -nél az erős hidrogénkötésben résztvevő N-H nyújtási rezgéshez tartozik, a γ_{DL} konformer C-terminális amidcsoportjában.

A DMSO-ban felvett spektrumok amid A régiójában csak egy széles csúcs jelenik meg, melynek maximuma 3285 cm^{-1} -nél található. Bár a csúcs aszimmetrikus és néhány „váll” is megfigyelhető rajta 3266, 3243 és 3218 cm^{-1} -nél, a fentebb tárgyalt megfontolások értelmében e jellemzőket nem több konformer jelenlétének, hanem különböző oldószer-molekula kölcsönhatásoknak tulajdoníthatjuk.

Mátrixizolációs IR spektrumok

Az elvárásoknak megfelelően az Ac-Gly-NHMe argon- és kriptonmátrixban felvett spektrumai sokkal jobban megkülönböztethető csúcsokat tartalmaznak, mint az oldószeres spektrumok (**10. ábra**). Ráadásul, az általam felvett spektrumok az irodalomban közöltéknél nagyobb felbontásúak és kevesebb aggregátumot tartalmaznak.

A számítások alapján legkevesebb 3 jól megkülönböztethető csúcs várható a spektrumban (**3. táblázat**). 1721 cm^{-1} -nél a γ_{DL} konformer C-terminális amid-, 1724 cm^{-1} -nél a β_{DL} konformer szimmetrikus amid I rezgési módusát várjuk, ezekhez az argon- ill. kriptonmátrixban (Ar/Kr) felvett spektrumokban 1705 ill. 1704 cm^{-1} -nél található összeolvadt csúcsot rendelhetjük. Az 1692/1690 cm^{-1} -nél (Ar/Kr) a β_{DL} konformer szimmetrikus rezgési módusához tartozó csúcsot, 1683/1681 cm^{-1} -nél (Ar/Kr) pedig a γ_{DL} konformer N-terminális amidcsoportjának rezgési módusához tartozót azonosíthatjuk. Ez utóbbi erős hidrogénkötésben van, ez okozza a jelentős vöröseltolódást. A 1705 ill. 1704 cm^{-1} -nél található csúcs nagyfrekvenciájú oldalán egy kis intenzitású váll is felfedezhető. Mivel az amid I régió közel azonos Ar és Kr mátrix esetén is, a váll megjelenése nem tulajdonítható a mátrix hatásának. Továbbá az sem valószínű, hogy „forró sáv” vagy kombinációs sáv lenne, ugyanis az alacsonyfrekvenciás tartomány rezgési sávjai egy nagyságrenddel kisebb intenzitásúak, mint az amid I régióban. A számolások azt mutatják, hogy a δ_{DL} konformer mindkét amid I csúcsa a β_{DL} és γ_{DL} konformerek csúcsaihoz képest is magasabb frekvencián található. Mindezek miatt joggal tulajdoníthatjuk e vállat a δ_{DL} konformer jelenlétének.

Az amid I régió alacsonyfrekvenciás tartományában megfigyelhető egy 1663 cm^{-1} -nél található, kis intenzitású csúcs, melynek intenzitása a leválasztás körülményeitől függően változott. E csúcs a Grenie és munkatársai által közölt spektrumban (Grenie 1975) is megtalálható, ám jóval nagyobb intenzitással. Mindezek miatt e csúcsot aggregátumokhoz és/vagy vízzel alkotott komplexekhez rendelhetjük.

A három vizsgált amid rezgési módus közül az amid II régió asszignációja a legnehezebb. Ennek oka az amid II és a C-C nyújtási rezgések erős csatolódása, ami valamivel pontatlanabbá teszi az elméleti számításokat. A γ_{DL} konformer számolt- és mért amid II átmenetei jó egyezést mutatnak. A C-terminális amidcsoport 1555 cm^{-1} hullámszámának jószolt átmenetét az 1550/1548 cm^{-1} -nél (Ar/Kr) található csúcshoz rendelhetjük, az N-terminális amid 1506 cm^{-1} hullámszámának jószolt átmenetét pedig az 1505/1505 cm^{-1} -nél (Ar/Kr) találhatóhoz. A β_{DL} konformer amid II rezgéseit a számolások 1535 cm^{-1} és 1491 cm^{-1} hullámszámának becsülték. Ezek közül az utóbbit az 1491/1487 cm^{-1} -nél (Ar/Kr) található csúcshoz rendelhetjük. A másik rezgés a becsült intenzitások alapján, az 1540 cm^{-1} -nél található váll helyett valószínűleg a

mindkét mátrixban 1517 cm^{-1} -nél megjelenő csúcscért felelős. A számítások kisebb pontossága miatt, e régióban a δ_{DL} konformer jelenléte kevésbé egyértelmű, mint az amid I régióban. Az $1540/1537$ (Ar/Kr) ill. $1483/1479\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő kis intenzitású vállakat a δ_{DL} konformer C- és N-terminális amid II rezgéseinek tulajdonítjuk.

Az amid A régióban három, összetett csúcs található, melyek szerkezete argon- ill. kripton mátrixban eltér. A jobb felbontású spektrumok, az argon- és kripton mátrixban elvégzett mérések összehasonlítása, valamint a fejlettebb kvantumkémiaili számítások lehetővé tették a Grenie és munkatársai által javasolt asszignáció (Grenie 1975) kritikus elemzését és újragondolását.

Az első csúcs 3460 és 3500 cm^{-1} között található mindkét mátrixban, és egyszerű megfontolások alapján is a hidrogénkötésben nem résztvevő amid A (N-H nyújtási rezgés) módushoz rendelhető, mely elgondolás összhangban van a számolások és az oldószeres mérések eredményeivel is. Argonmátrixban e sáv 2 csúcscsá hasad 3487 ill. 3478 cm^{-1} hullámszámmal, valamint mindkét csúcshoz egy-egy, 3490 ill. 3475 cm^{-1} hullámszámú váll is tartozik. Grenie és munkatársai (Grenie 1975) az általuk felvett spektrumokban csak a két csúcscot tudták asszignálni, a két vállat nem. Azt tapasztalták, hogy a mátrix felengedésével és visszahűtésével a két csúcs aránya nem változott, tehát a felhasadás nem mátrixhatásnak tulajdonítható. Kizárták továbbá a két konformer jelenlétének lehetőségét is.

E megfigyeléssel ellentétben méréseim során komoly változást tapasztaltam a csúcsok relatív intenzitásában, ha a mátrix felengedésével, vízzel komplexáltam a vegyületet. E megfigyelés, a kémiai intuíció valamint a kvantumkémiaili számítások is arra utalnak, hogy ez a csúcs két különböző konformerhez tartozik. Számolásaim alapján a 3487 cm^{-1} -nél található csúcs a γ_{DL} konformer N-terminális amidcsoportjához, a 3478 cm^{-1} -nél található pedig a β_{DL} konformer C-terminális amidcsoportjához rendelhető.

A két vállat a δ_{DL} konformer két amid A módusa, illetve mátrix-felhasadás is okozhatja. A vállak intenzitása jóval nagyobb a δ_{DL} konformerre jósoltnál, emiatt a második lehetőség tűnik valószínűbbnek, amit megerősít az a tény is, hogy kriptonmátrixban felvéve a spektrumot, csak egy szerkezet nélküli csúcscot találunk 3479 cm^{-1} -nél. Ebben az esetben a jel alakja és intenzitása utal arra, hogy valójában két összeolvadt csúcscról van szó.

Az amid A régió következő sávja 3410 és 3425 cm^{-1} között található, argon- és kriptonmátrixban is. A számítások eredménye alapján e sávot a β_{DL} konformer *N*-terminális amidcsoportjának tulajdoníthatjuk. E csúcş ugyancsak 2 kisebb sávra bomlik mindkét mátrixban. Mivel az egyik váll 3420 cm^{-1} -nél megjelent az *N*-deuterált származékok spektrumában is, Grenie és munkatársai (Grenie 1975) ezt a sávot nem egy amid A rezgési módusnak tulajdonították. A nagyfrekvenciájú oldalon levő vállat pedig egy másik konformer vagy másik amidcsoport rezgésének asszignálták.

Ez a hozzárendelés a számolások-, és a vízzel kialakított komplexek mérési eredményeinek is ellentmond. A sáv finomszerkezetének magyarázata, ami egybevág a megfigyelésekkel is, egy Fermi-rezonancia, ami a β_{DL} konformer *N*-terminális amid A, és szimmetrikus amid I rezgési módusai között lép fel. A Fermi-rezonancia megjelenésére egyrészt azért számíthatunk, mert az amid I régióban a csúcşok intenzitása egy nagyságrenddel nagyobb, mint az amid A régióban, másrészt azért, mert a szimmetrikus amid I rezgési módus felhangja közel esik az amid A rezgés sávjához ($2 \times 1721 = 3442 \text{ cm}^{-1}$). A Fermi rezonancia következtében tehát két csúcş jelenik meg 3425 és 3419 cm^{-1} -nél argon-, ill 3426 és 3422 cm^{-1} -nél kriptonmátrixban. Mivel az alacsonyabb hullámszámú sávnak főleg amid I karaktere van, az *N*-deuterált származék spektrumában is megjelent, mint egy kisebb intenzitású és magasabb hullámszámú kombinációs sáv. A nagyfrekvenciájú oldalon található váll oka valószínűleg mátrix-felhasadás.

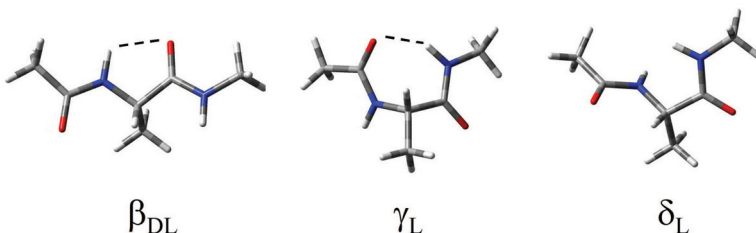
Az amid A régió legalacsonyabb energiájú sávját 3331 és 3390 cm^{-1} környékén találjuk mind argon-, mind kriptonmátrixban. A sáv alacsonyabb hullámszámát és kiszélesedését is az erős intramolekuláris hidrogénkötés okozza. Tehát, a számítások eredményeivel összhangban, a 3365 cm^{-1} -nél található sávot a γ_{DL} konformer *C*-terminális amidcsoportjához rendelhetjük. Ezen a csúcşon is találhatóék vállak, argon- és kriptonmátrixban is, melyeket Grenie és munkatársai (Grenie 1975) aggregátumokhoz rendeltek. Azonban, összevetve az általunk kapott és a Grenie által közölt spektrumok (Grenie 1975) amid I régióját, egyértelmű, hogy a mi spektrumainkban jóval kevesebb aggregátum található. Mindezek ellenére e sáv alakja megegyezik a Grenie és munkatársai által kapottal (Grenie 1975), tehát a vállak nem aggregátumokhoz rendelhetők. Mivel a csúcşalak mindkét mátrixban hasonló, valószínűleg ezeket a sávokat is Fermi rezonanciáknak tulajdoníthatjuk, nem pedig mátrix-felhasadásnak.

Végezetül, összevetve a számolt és mért relatív intenzitásokat, egyértelműen látszik, hogy a β_{DL} konformerhez tartozó sávok számolt intenzitása nagyobb a mért intenzitásoknál mindegyik régióban, a DFT számolások tehát túlbecsülték a β_{DL} konformer részarányát.

6.1.2 Az *N*-acetyl-*N'*-metil-L-alaninamid

Jalkanen és Suhai eredményeivel egyezően (Jalkanen 1996), B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten végzett számításaim alapján 6 minimumot azonosítottam az *N*-acetyl-*N'*-metil-alaninamid potenciális energia felületén. A glicinszármazékhoz hasonlóan 2 fő konformert azonosíthatunk, a C-5 ($\beta_{L(D)}$) és a C-7 (γ_L) konformereket (**11. ábra**). A bázis méretétől függően e két konformer előfordulási arányát a számolások 30 és 60% körülnek becsülték. A harmadik legnagyobb arányban jelenlevő konformer a δ_L , 3-4%-os előfordulási aránnyal, 343 K hőmérsékleten. A megmaradó 3 konformer együttes részaránya kisebb, mint 1%, ami közel lehetetlenné teszi azonosításukat a spektrumban, így elemzésükre e munkában nem térek ki (**4. táblázat**).

Mivel az amid A, I és II rezgési sávok mind oldószerben, mind argon- ill. kriptonmátrixban nagyon hasonlóak a glicinszármazék sávjaihoz, csak a különbségekkel és a főbb megállapításokkal foglalkozom részletesen.



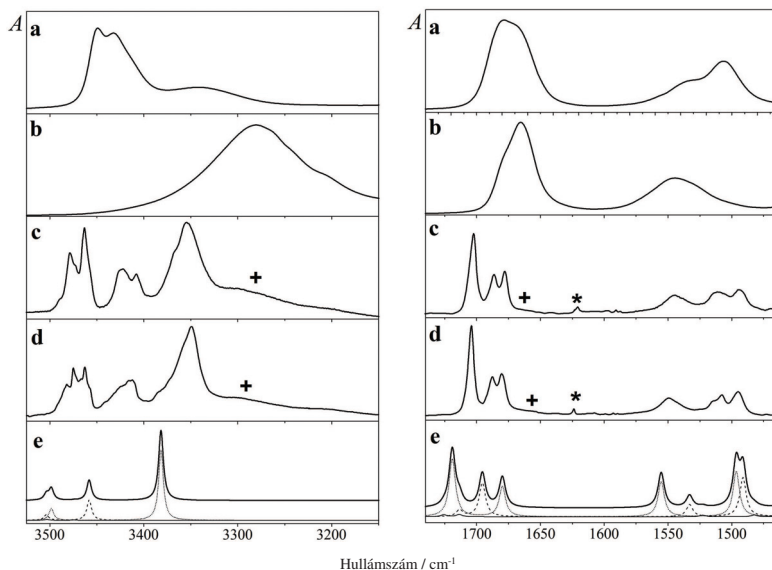
11. ábra: Az Ac-L-Ala-NHMe három legstabilabb térszerkezete, B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten számolva

4. táblázat: Az Ac-L-Ala-NHMe, spektrumban várható konformereire jellemző zéruspont korrigált ill. 343 K-re számolt szabadentalpia-értékek és előfordulási arányok (E.A.).

konformer	B3LYP/6-31G*			B3LYP/6-31++G**		
	ΔG^0 (0 K)	ΔG^0 (343 K)	E. A. (343 K)	ΔG^0 (0 K)	ΔG^0 (343 K)	E. A. (343 K)
$\beta_{L(D)}$	3,22	0,00	0,631	4,85	2,01	0,313
γ_L	0,00	1,92	0,321	0,00	0,00	0,633
δ_L	10,18	7,79	0,041	11,89	8,76	0,029
α_D	10,81	13,31	0,006	11,49	11,24	0,012
γ_D	11,20	18,30	0,001	11,49	11,26	0,012
δ_D	26,55	27,00	0,000	24,20	26,01	0,000

Oldószeres IR spektrumok

Az Ac-Gly-NHMe-hoz hasonlóan csak a két legstabilabb konformer azonosítható a DCM-ben felvett IR spektrumokban, és csak 1 domináns konformer mutatható ki a DMSO-ban felvettekben (12. ábra). A két modellpeptid DMSO-ban mért spektruma azonosnak tekinthető, DCM oldószer esetén azonban, bár a sávok elhelyezkedésében csak elhanyagolhatóan kis eltérések vannak, azok relatív intenzitása jelentősen eltér. Ez egybevág a B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számításokkal, melyek kisebb β_{DL} és γ_{DL} arányt jósolnak Ac-L-Ala-NHMe-ra, mint Ac-Gly-NHMe-ra. A relatív intenzitások változásai még inkább alátámasztják a glicinszármazék spektrumában található sávok asszignációját



12. ábra: Az Ac-L-Ala-NHMe IR spektrumának amid I (bal) és amid II (jobb) régiója DCM- és (a), DMSO oldószerekben (b), kripton- (c) és argonmátrixban (d) valamint B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számítások alapján (e). A nyomnyi mennyiségben jelenlévő víz jeleit *, az aggregátumokét + jelzi.

Mátrixizolációs IR spektrumok

Az alaninszármazék MI-IR spektrumának amid I régiója csaknem azonos a glicinszármazékéval (**12. ábra**). Azonban két kis eltérést tapasztalhatunk: a két fő konformerhez tartozó sávok relatív intenzitása eltér, valamint nincs kimutatható váll a legmagasabb hullámszámú amid I rezgési sáv nagyfrekvenciás oldalán, mely vállat a glicinszármazék esetén a δ_L származékhoz rendeltük. Ez utóbbi tulajdonság a δ_L konformer kisebb részarányával magyarázható. A δ_L konformer jelenléte tehát nem igazolható az Ac-L-Ala-NHMe spektrumának amid I régiója alapján.

5. táblázat: Az Ac-L-Ala-NHMe amid A, amid I és amid II régióit jellemző számolt (SQM B3LYP/6-31G*) és mért rezgési frekvenciák

Asszignáció	Számolt	Ar mátrix	Kr mátrix	DCM	DMSO ^g
Amid A					
$\beta_{L(D)}$ C-term	3505	3475, 3481 ^a	3479, 3473, 3489 ^a	3449 ^c	3280
δ_L C-term	3503				
γ_L N-term	3499	3463, 3457, 3467 ^a	3463	3449 ^c	
δ_L N-term	3474				
$\beta_{L(D)}$ N-term	3458	3413, 3422 ^d	3408, 3422 ^d	3432	3210 ^b
γ_L C-term	3382	3349, 3379 ^{b,d}	3354, 3366 ^{b,d}	3342	
Amid I					
δ_L N-term	1726				
γ_L C-term	1719	1704 ^c	1702 ^c	1681 ^c	
δ_L C-term	1714				
$\beta_{L(D)}$ symm.	1713	1704 ^c	1702 ^c	1681 ^c	1678 ^b
$\beta_{L(D)}$ asymm	1696	1688	1686	1666	1665
γ_L N-term	1680	1680	1678	1650 ^b	
Amid II					
γ_L C-term	1556	1549	1545	1556 ^b	
δ_L C-term	1523	1525 ^{b,c}			
$\beta_{L(D)}$ C-term	1533	1515	1510	1535	1546
γ_L N-term	1497	1508	1506	1507 ^c	
$\beta_{L(D)}$ N-term	1491	1495	1494	1507 ^c	1527 ^b
δ_L N-term	1483				

^amátrix felhasadás; ^bváll; ^cbizonytalan hozzárendelés; ^dfermi rezonancia; ^efelbontatlan sávok; ^ga DMSO oldószerben megfigyelt konformer jelentősen eltérhet a számolt β_{DL} szerkezettől az oldószer-molekula kölcsönhatások miatt

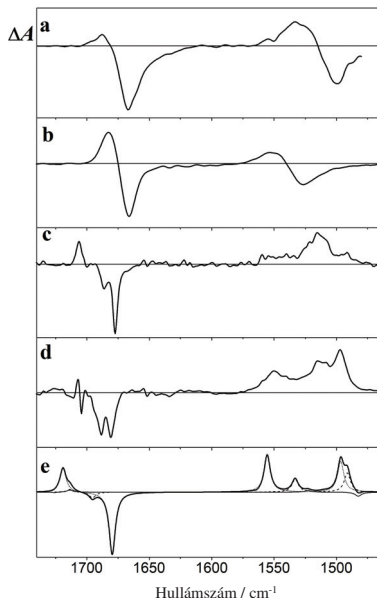
Az amid I régióhoz hasonlóan az amid II régió sávjait is a két fő konformerhez rendelhetjük (**5. táblázat**). A glicinszármazék esetével ellentétben a β_{DL} konformer *N*-terminális amidjához rendelt csúcs alacsonrfrekvenciás oldalán nem mutatható ki az a váll, melyet a glicinszármazék spektrumában a δ_L konformerhez rendeltem. Azonban az 1525 cm^{-1} -nél megjelenő váll egybeesik a δ_L konformer, elméleti számítások szerint 1523 cm^{-1} -nél várt csúcsával.

Az amid A régió sávjainak finomszerkezete a glicinszármazékéhoz hasonlóan összetett. A felhasadások okai is hasonló érvekkel magyarázhatók. Az egyetlen jelentős különbség az, hogy a $\beta_{L(D)}$ és γ_L konformerek szabad amidsoportjához tartozó csúcsok sorrendje felcserélődik. Az amid I és II régiókhoz hasonlóan e régióban sem mutatható ki a δ_L konformer jelenléte.

Oldatfázisú VCD spektrumok

Az IR spektrumok asszignációját megerősítendő, valamint, hogy megértsem a számolt és CCl_4 , CHCl_3 , D_2O oldószerben mért VCD spektrumok közötti eltérést, az Ac-L-Ala-NHMe VCD spektrumát DCM, DMSO oldószerekben, valamint argon- és kriptonmátrixban is felvettem (**13. ábra**). Az amid A régió kis rotátorerősségű átmenetei miatt jelen munkában csak az amid I és II régiókat tanulmányoztam.

A mért spektrumok amid I régiója jó egyezést mutat a számolási eredményekkel, melyek egy „*negative coupler*”-et, azaz egy pozitív-negatív sávpárt jósolnak $\beta_{L(D)}$ és γ_L konformerek esetén is. DMSO-ban, ahol csak egy domináns konformer van jelen, az azonosság egyértelmű. DCM-ben a két fő konformerhez tartozó sávpárok összeolvadnak, hasonló mintázatot eredményezve.



13. ábra: Az Ac-L-Ala-NHMe VCD spektrumának amid I-II régiója DCM- és (a), DMSO oldószerekben (b), kripton- (c) és argonmátrixban (d) valamint B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számolások alapján (e)

Megjegyzendő, hogy mérési eredményeimtől eltérően, kloroformban egy „*positive couplet*”, azaz egy negatív-pozitív sávpárt azonosítottak. Bár megpróbáltam, reprodukálni e megfigyelést, kloroformban végzett méréseimben is pozitív-negatív sávpárt azonosítottam. Az ellentmondó korai eredményeket Jalkanen és Suhai (Jalkanen 1996) azzal magyarázták, hogy kloroformban főleg a δ_L konformer van jelen, ami az egyetlen olyan konformer mely viszonylag stabil, és melynek amid I sávjához negatív-pozitív sávpárt jósolnak a számítások.

Számolások alapján nehezebben értelmezhető az amid II régió kísérleti VCD spektruma. Mind a jelenlegi, mind korábbi számolások is pozitív csúcsokat rendelnek a β_{DL} és γ_{DL} konformerek amid II rezgéseikhez. Ezzel ellentétben DCM és DMSO oldószerekben felvett spektrumokban is egy pozitív-negatív sávpár figyelhető meg. Bár az eltérés származhatna aggregátumoktól, melyek rotátorerőssége nagyobb a monomerekénél, ez mégsem valószínű, ugyanis a 2-8 mg·ml⁻¹ koncentrációtartományban a VCD spektrumok azonosak voltak (8 mg·ml⁻¹ koncentrációnál az aggregátumok már tisztán láthatók az IR spektrumban). Egy másik lehetséges magyarázat, hogy az oldószer-molekulák koordinációja változtatja meg a rotátorerősséget. Mindazonáltal, PCM oldószermodellel végzett számolásokkal is pozitív sávokat kaptunk, így tehát e számolási módszer nem magyarázza az erősen koordináló oldószerekben felvett VCD spektrumok tulajdonságait. A probléma megoldásához dimerek és oldószer-molekula komplexek VCD spektrumainak számítására lenne szükség.

Mátrixizolációs VCD spektrumok

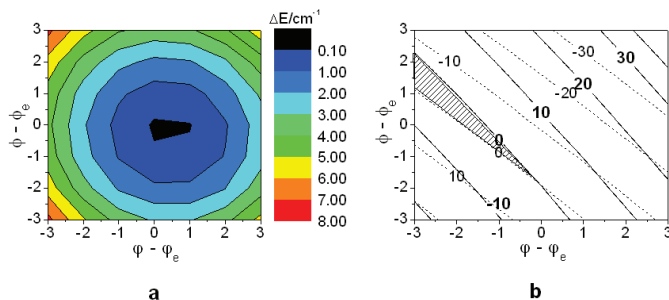
Már több mint egy évtizede javasolták Jalkanen és munkatársai (Jalkanen 1996), hogy a számolt- és oldószerben mért VCD spektrumok ellentmondásait nemesgáz mátrixokban felvett VCD spektrumokkal lehetne feloldani. Valóban, az argon- és kriptonmátrixokban felvett spektrumok sokkal jobb egyezést mutatnak a számolt VCD spektrummal, mint az oldószeres mérések, alátámasztva ezzel a MI-VCD mérések fontosságát. Néhány részlet azonban további elemzést igényel.

Először is tisztán látható, hogy az argon- és kriptonmátrixban felvett spektrumok VCD intenzitásai eltérnek. Mivel ezen eltérés reprodukálható volt, nem okozhatta őket a kísérletek pontatlansága, vagy a kísérleti körülmények esetleges kismértékű eltérése. A különbséget valószínűleg a két nemesgáz mátrix eltérő polarizálhatósága okozza. A VCD csúcsok előjelei azonban mindkét spektrumban, minden rezgési átmenetre azonosak.

Az amid I régióban a számolások alapján, mindkét domináns konformer ($\beta_{L(D)}$ és γ_L) jeleként egy pozitív-negatív sávpár várható. A mért VCD spektrumokban a két alacsonyfrekvenciás átmenet tökéletesen egyezik az elméleti kémiai számítások eredményeivel. Az amid I régió nagyfrekvenciás tartományában azonban a számolt és mért spektrum különbözik.

A számolások két pozitív csúcsot jósolnak, egyet a $\beta_{L(D)}$ és egyet a γ_L konformerhez. A nemesgáz mátrixban felvett spektrumokban azonban egy pozitív-negatív sávpárt láthatunk. A pozitív sávot 1706/1705 cm^{-1} -nél, (Ar/Kr) azaz a MI-IR spektrumban mért csúcsnál kissé magasabb hullámszámmal találjuk, a jóval kisebb intenzitású negatív csúcsot pedig 1704 cm^{-1} -nél, közel az összeolvadt MI-IR csúcs maximumához. Az eltérés magyarázhatná a δ_L konformer jelenlétével, amennyiben a hozzá tartozó rotátorerősség jóval nagyobb lenne a többi konformerénél. A számolások eredményei azonban nem támasztják alá, hogy a rotátorerősség nagysága kompenzálhatná a nagyon alacsony részarányt. Továbbá, bár mindkét δ_L konformerhez tartozó amid I rezgést erre a tartományra jósolják a számítások, az alacsonyabb frekvenciájú amid I sávnak pozitív előjelűnek kellene lennie.

Az ellentmondás feloldása céljából tanulmányoztam az amid I VCD átmenetek geometriától való függését $\beta_{L(D)}$ és γ_L konformerek esetében is, melynek eredményeként magyarázatot kaptam az eltérésre. A γ_L konformer amid I módusaihoz tartozó rotátorerősség nem érzékeny a geometria változására, ez azonban nem igaz a $\beta_{L(D)}$ konformerre. A 14. ábrán látható a $\beta_{L(D)}$ konformer szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgéseikhez tartozó potenciális energia (PEF) és rotátorerősség (REF) felszín.



14. ábra: Az Ac-L-Ala-NHMe β_{DL} egyensúlyi térszerkezete (φ_e, ψ_e) körüli szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgésekhez tartozó potenciális energia (a) és rotátorerősség (b) felszín (REF, $10^{44} \text{ amu}^2 \text{ cm}^2$ egységben). A folytonos vonalak a szimmetrikus, a szaggatott vonalak az antiszimmetrikus rezgési módusokhoz tartozó rotátorerősség-felszín szintvonalai. A sávozott régióban mindkét rezgés rotátorerőssége negatív, amint az az MI-VCD spektrumban is látható volt.

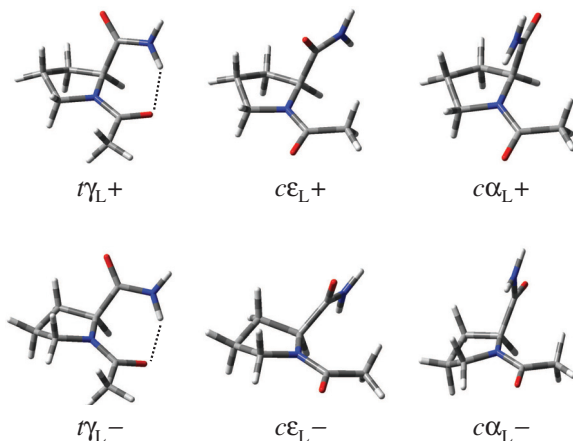
Látható, hogy mindkét amid I módus rotátorerőssége nagymértékben változik a φ és ψ gerinctorzíós szögek függvényében, valamint, hogy mindkét rezgéshez tartozó rotátorerősség előjelet vált az egyensúlyi térszerkezet közelében (φ_e és ψ_e). Ennek értelmében már a gerinckonformáció egyensúlyi térszerkezettől való pár fokos eltérése is jelentősen megváltoztathatja a VCD spektrum mintázatát a $\beta_{L(D)}$ konformerhez tartozó amid I régióban. A $\beta_{L(D)}$ konformer φ és ψ gerinctorzíós szögek függvényében ábrázolt potenciálfelülete viszonylag lapos az egyensúlyi térszerkezet környékén, ami miatt apró térszerkezeti változások várhatók, melyek azonban az előbb leírtak értelmében, jelentős hatással lehetnek a VCD spektrumra. A PEF és REF összevetésével azonosítható egy, az egyensúlyi geometriához közel álló térszerkezet, mely esetében mindkét amid I módusnak negatív előjele van. Lehetséges tehát, hogy a nemesgáz mátrixban izolált molekulák kismértékben eltérő gerinckonformációval rendelkeznek. Mivel a VCD sávok előjele már kis konformációváltozásra is nagymértékben változhat, elképzelhető, hogy a térszerkezetek statisztikus eloszlása miatt láthatunk pozitív-negatív sávpárt a spektrumban. Minden mérés és számolási eredmény egybevág ezzel a magyarázattal, még inkább alátámasztva a spektrumok asszignációját. Kezdeti számolási eredmények azt is mutatják, hogy a VCD spektrális mintázat gerinckonformációra való érzékenysége nemcsak az alanin, hanem valamennyi aminosav $\beta_{L(D)}$ konformerének sajátossága. Mindezek okán e konformerek VCD spektrumok alapján történő azonosítása nem megbízható.

Az amid II régióban a számolt és MI VCD spektrumok azonossága egyértelmű: a két fő konformerhez várt két, pozitív előjelű átmenet mindegyike megtalálható a spektrumban.

Sajnos nem találtunk olyan jelet az MI-VCD spektrumban, melyet egyértelműen a δ_L konformerhez rendelhetnénk. A számítási eredmények szerint a legmeggyőzőbb bizonyíték a két negatív sáv megjelenése lenne az amid I régió nagyfrekvenciás, illetve az amid II régió legalacsonyabb frekvenciájú tartományában. Bár a spektrumok amid I régiójában találunk kis negatív előjelű csúcsokat a várt hullámszám értékeknél, ezek intenzitása a zajjal összemérhető, kizárva az azonosítás lehetőségét.

6.1.3. Az *N*-acetyl-L-prolinamid

A Sahai és munkatársai által leközölt (Sahai 2005) B3LYP eredményekkel egybevágóan B3LYP/6-31G(d) és B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számításokkal is 6 minimumot azonosítottam az Ac-L-Pro-NH₂ potenciális energia felületén. E minimumok, ahogy a 15. ábrán is látható, 2 transz (γ_L+ és γ_L-) és 4 cisz ($c\epsilon_L+$, $c\epsilon_L-$, $c\alpha_L+$ és $c\alpha_L-$) konformerhez tartoznak (a HF módszerrel kapott energiafelületen egy hetedik, nagyenergiájú minimum is megjelenik, a α_L- konformer).



15. ábra: Az Ac-L-Pro-NH₂ hat legstabilabb térszerkezete, B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten számolva

A számolt szabadentalpia értékekből meghatározott Boltzmann-eloszlás alapján a 6 lehetséges térszerkezet közül csak 3 megjelenésére számíthatunk a mátrixizolációs spektrumban: a γ_L+ , γ_L- és $c\alpha_L+$ konformerekre. A $c\alpha_L-$ konformerre meghatározott előfordulási arány a detektálási határon van (6. táblázat). Összességében elmondható tehát, hogy az Ac-L-Pro-NH₂-nak két kisenergiájú gerinckonformációja van: a γ_L és a $c\alpha_L$.

6. táblázat: Az Ac-L-Pro-NH₂ spektrumban várható konformereire jellemző zéruspont korrigált ill. 345 K-re számolt szabadentalpia-értékek és előfordulási arányok.

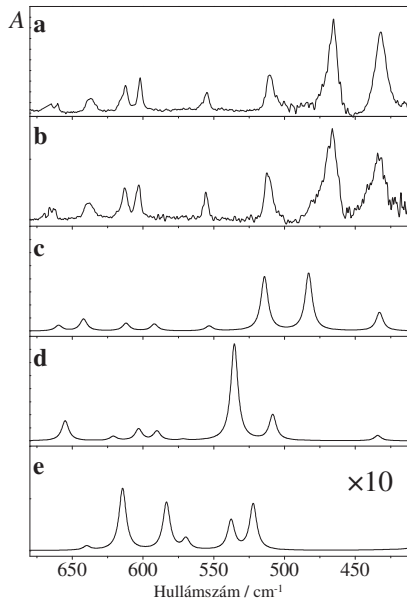
konformer	B3LYP/6-31G*			B3LYP/6-31++G**		
	ΔG^0 (0 K)	ΔG^0 (345 K)	E. A. (345 K)	ΔG^0 (0 K)	ΔG^0 (345 K)	E. A. (345 K)
γ_L+	0,00	0,00	0,848	0,00	0	0,834
γ_L-	5,41	5,08	0,144	5,22	5,16	0,138
$c\alpha_L+$	17,63	15,03	0,004	13,25	10,8	0,019
$c\alpha_L-$	21,07	17,34	0,002	16,47	13,79	0,007
$c\epsilon_L+$	27,12	19,77	0,001	23,55	18,12	0,002
$c\epsilon_L-$	29,46	22,75	0,000	25,48	20,66	0,001

A relatív szabadentalpia értékek mellett a belső konformációs átmenetek energiagátjai is fontosak, ugyanis ezek nagysága befolyásolhatja a magas energiájú térszerkezetek előfordulását a mátrixban. Gyakori jelenség, hogy ha a két konformer közötti energiagát csak néhány $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, a magasabb energiájú konformer az alacsonyabb energiájúvá alakul a kifagyás során. Ramek és munkatársai RHF/4-31G és RHF/6-31G(d) szinten végzett számításai alapján (Ramek 1995) a $\tau_{\text{L}+}$ és $\tau_{\text{L}-}$ formák közötti átalakulás energiagátja csak 2,47 ill. 3,44 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. E számításokat megismételve B3LYP/6-31G(d) és B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinteken ennél valamivel magasabb, 5,66 ill. 4,56 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ gátmagasságot kaptam, mely azonban még lehetővé teszi a konformációs átalakulást a kifagyás során. Emiatt elképzelhető, hogy a $\tau_{\text{L}-}$ forma nem jelenik meg a spektrumban. A cisz és transz formák közötti energiagát azonban 60 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, így nem számíthatunk e formák egymásba alakulására.

Mátrixizolációs IR spektrumok

A spektrum teljes asszignációja helyett csak azon régiók elemzésére szorítkoztam, ahol a különböző konformerek spektrális tulajdonsága a számítások alapján eltér. A számolt és mért spektrumok kiváló egyezése egyértelművé tette a sávok többségének azonosítását, beleértve a legkisebb intenzitású sávokat is melyek intenzitása alig háromszorosa a zajszintnek. Csak 5 nagyon kis intenzitású sáv hozzárendelése maradt kérdéses.

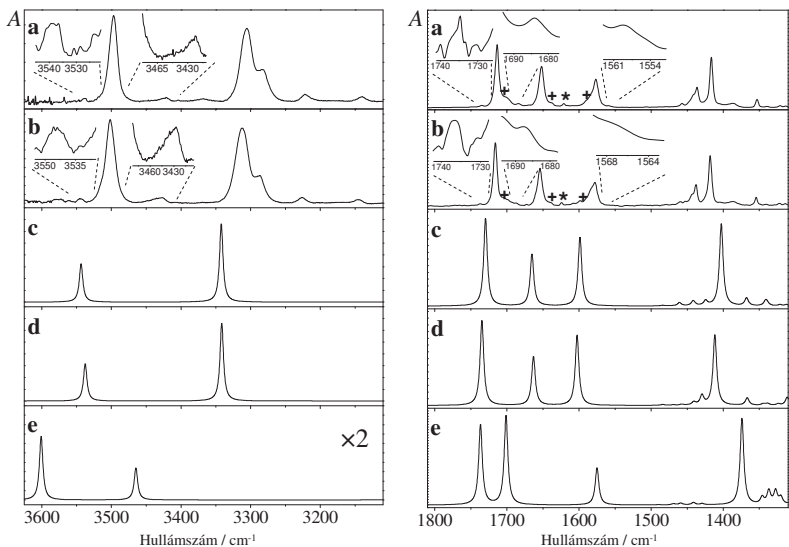
A mérések alapján egyértelműen látszik, hogy a spektrum jellegét a legnagyobb arányban jelenlevő $\tau_{\text{L}+}$ forma határozza meg. A második legnagyobb mennyiségben várt konformer a $\tau_{\text{L}-}$. A két forma számolt spektrumait összevetve a legnagyobb eltérés a 425-575 cm^{-1} -ig terjedő régióban található (**17. ábra**). Mindkét forma esetén 4 átmenetet várunk. A $\tau_{\text{L}+}$ forma átmenetei egyértelműen azonosíthatók, azonban a $\tau_{\text{L}-}$ forma egyik legintenzívebb csúcsa, amely egyértelműen elkülönül a $\tau_{\text{L}+}$ konformer spektrális átmeneteitől, nem található meg a spektrumban. E megállapítás a többi régióra is igaz, a spektrum teljes mértékben asszignálható a $\tau_{\text{L}-}$ konformer hiányát feltételezve. E megfigyelés alátámasztja, hogy a $\tau_{\text{L}-}$ konformer az alacsonyabb energiájú $\tau_{\text{L}+}$ formává alakul.



17. ábra: Az Ac-L-Pro-NH₂ IR spektrumának alacsonyfrekvenciás régiója kripton (a)- és argonmátrixban (b), valamint a τ_{L+} (c), τ_{L-} (d) és α_{L+} (e) konformereken, B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számolások alapján (e)

Az elvárásoknak megfelelően a cisz és transz forma közti különbségek legerősebben az amid vibrációs módusok esetén látszódnak, így e munka során az amid A, I és II régiók vizsgálatával próbáltam meg kimutatni a α_{L+} forma jelenlétét (18. ábra). Az amid A régió elemzésénél különös óvatossággal kell eljárunk, hisz, ahogy azt az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe spektrumok esetén is láttuk, e régióban a Fermi-rezonanciához és az amid I módusok kombinációs rezgéseikhez tartozó csúcsok is megjelenhetnek.

Miután számításba vettem a τ_{L+} konformer minden alaprezgését, Fermi-rezonanciáját és kombinációs rezgését, a 3546/3539 cm⁻¹-nél (Ar/Kr) található kis intenzitású sávhoz még mindig nem tudtam rezgést hozzárendelni (7. táblázat). Mivel e sáv 40-50 cm⁻¹-rel magasabb hullámszámnál található, és mivel a α_{L+} forma számolt spektrumának legmagasabb frekvenciájú csúcsa ~58 cm⁻¹-rel található nagyobb frekvencián, mint a τ_{L+} konformeré, e csúcsot a α_{L+} forma antiszimmetrikus amid A rezgési módusához rendelhetjük.



18. ábra: Az Ac-L-Pro-NH₂ IR spektrumának amid A (bal) és amid I-II (jobb) régiója kripton (a)- és argonmátrixban (b), valamint a t_{1L}+ (c), t_{1L}- (d) és c_{αL}+ (e) konformereken, B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számítások alapján (e). A nyomnyi mennyiségben jelenlévő víz jeleit *, az aggregátumokét + jelzi.

A c_{αL}+ konformer szimmetrikus amid A rezgési módusának számolt frekvenciája 3465 cm⁻¹. Az MI-IR spektrum amid A régiójában az egyetlen csúcs, melynek alakja nem szimmetrikus, 3400 és 3440 cm⁻¹ között található. Ahogy a 18. ábra kiemelt régiójában is látható, két csúcspot illeszthetünk ez alá a csúcs alá: a t_{1L}+ konformer ν₁₃ rezgési felhangját rendelhetjük az alacsonyabb frekvenciájúhoz, a c_{αL}+ forma antiszimmetrikus amid A rezgését pedig a magasabb frekvenciájúhoz. A c_{αL}+ forma kis intenzitású rezgési átmenetei az amid I és II régiókban is azonosíthatók. Ezt az 1450-1750 cm⁻¹-ig terjedő régiót a t_{1L}+ konformer három intenzív rezgési átmenete határozza meg. E csúcsokon kívül víznyomok, aggregátumok ill. vízzel alkotott komplexek jeleit is megfigyelhetjük³. Az amid A régióhoz hasonlóan a megmaradó kis intenzitású sávok 1737/1735, 1687/1684 és 1568/1559 cm⁻¹-nél (Ar/Kr) kiváló egyezést mutatnak a c_{αL}+ forma számolt átmeneteivel 1737, 1701 és 1575 cm⁻¹-nél.

³ E sávok intenzitása a leválasztás körülményeitől függően kismértékben változik

7. táblázat: Az Ac-L-Pro-NH₂ amid A, amid I és amid II régióit jellemző számolt (SQM B3LYP/6-31G*) és mért rezgési frekvenciák

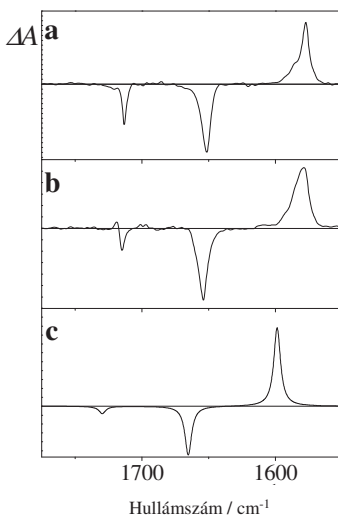
Asszignáció	Számolt	Ar	Kr	Asszignáció	Számolt	Ar	Kr
$c\alpha_4 + \nu_1$ (amide A <i>asym.</i>)	3601	3546	3539	$c\alpha_4 + \nu_{21}$ (amide III)	1374	1354	1353
$r_{\text{L}} + \nu_1$ (amide A <i>asym.</i>)	3543	3502	3497	$r_{\text{L}} + \nu_{23}$ ($\delta_{\text{sym}}\text{CH}_3$)	1341	1341 ^c	1339 ^c
$c\alpha_4 + \nu_2$ (amide A <i>sym.</i>)	3465	3436	3429	$r_{\text{L}} + \nu_{24}$ ($\delta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1339	1341 ^c	1339 ^c
$r_{\text{L}} + 2\nu_{13}$ (overtone)	-	3427	3421	$r_{\text{L}} + \nu_{25}$ ($\delta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1321	1322	1321
$r_{\text{L}} + \nu_{13} + \nu_{14}$ (combination band)	-	3370	3369	$r_{\text{L}} + \nu_{26}$ ($\delta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1312	1314	1313
$r_{\text{L}} + \nu_2$ (amide A <i>sym.</i>)	3342	3313	3305	$r_{\text{L}} + \nu_{27}$ ($\delta\text{C}^{\alpha}\text{H}$)	1291	1292	1291
$r_{\text{L}} + 2\nu_{14}$ (Fermi resonance with ν_4)	-	3287 ^b	3284 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{28}$ ($\delta\text{C}^{\alpha}\text{H}$)	1264	1271	1271
$r_{\text{L}} + \nu_{14} + \nu_{15}$ (combination band)	-	3227	3222	$r_{\text{L}} + \nu_{29}$ ($\gamma_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1241	1248	1249
$r_{\text{L}} + 2\nu_{15}$ (overtone)	-	3146	3139	$r_{\text{L}} + \nu_{30}$ ($\gamma_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1187	1189 ^c	1188 ^c
$r_{\text{L}} + \nu_5$ ($\nu_{\text{asym}}\text{CH}_3$)	3041	3025	3033 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{31}$ ($\gamma_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1178	1189 ^c	1188 ^c
$r_{\text{L}} + \nu_4$ ($\nu_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	3021	3021	3018	$r_{\text{L}} + \nu_{32}$ ($\gamma_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1149	1159	1159
$r_{\text{L}} + \nu_5$ ($\nu_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	2999	2991	2983	$r_{\text{L}} + \nu_{33}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{NH}_2 + \beta_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1119	1120	1118
n.a.	-	2979	2973	$r_{\text{L}} + \nu_{34}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{NH}_2 + \beta_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	1081	1083	1083
$r_{\text{L}} + \nu_6$ ($\nu_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	2982	2964	2961	$r\alpha_4 + \nu_{35}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{NH}_2$)	1120	1085	1085
$r_{\text{L}} + \nu_7$ (νCH)	2955	2947 ^c	2943 ^c	$r_{\text{L}} + \nu_{36}$ ($\delta_{\text{asym}}\text{CH}_3$)	1026	1036 ^c	1035 ^c
$r_{\text{L}} + \nu_8$ ($\nu_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	2951	2947 ^c	2943 ^c	$r_{\text{L}} + \nu_{37}$ ($\delta_{\text{asym}}\text{CH}_3$)	1016	1036 ^c	1035 ^c
n.a.	-	2900 ^b	2898 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{38}$	975	993	993
n.a.	-	2885 ^b	2882 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{39}$	939	960	959
$r_{\text{L}} + \nu_{12}$ ($\nu_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	2890	2877	2874	n.a.	-	924	923
$c\alpha_4 + \nu_{13}$ (C-term. amide I)	1737	1737	1735	$r_{\text{L}} + \nu_{40}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	904	908 ^c	908 ^c
$r_{\text{L}} + \nu_{13}$ (N-term. amide I)	1730	1716	1713	$r_{\text{L}} + \nu_{41}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	894	908 ^c	908 ^c
Aggregates ^d	-	1703 ^b	1704 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{42}$ ($\beta_{\text{asym}}\text{CH}_2$)	862	877 ^b	876 ^b
$c\alpha_4 + \nu_{14}$ (N-term. amide I)	1701	1687	1684	$r_{\text{L}} + \nu_{43}$	853	869	868
$r_{\text{L}} + \nu_{14}$ (C-term. amide I)	1665	1654	1652	$r_{\text{L}} + \nu_{44}$	772	791	791
Aggregates ^d	-	1642 ^b	1638 ^b	$r_{\text{L}} + \nu_{45}$ (amide V)	736	721	717
$r_{\text{L}} + \nu_{15}$ (amide II)	1598	1578	1576	$r_{\text{L}} + \nu_{46}$	660	660	660
$c\alpha_4 + \nu_{15}$ (amide II)	1575	1568	1559	$r_{\text{L}} + \nu_{47}$ (C-term. amide VI)	642	639	637
$r_{\text{L}} + \nu_{16}$ ($\beta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1484	1480	1480	$r_{\text{L}} + \nu_{48}$	612	613	612
$r_{\text{L}} + \nu_{17}$ ($\beta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1461	1459	1457	$r_{\text{L}} + \nu_{49}$ (N-term. amide VI)	592	603	602
$r_{\text{L}} + \nu_{18}$ ($\delta_{\text{asym}}\text{CH}_3$)	1442	1443 ^{b,c}	1441 ^{b,c}	$r_{\text{L}} + \nu_{50}$	553	556	555
$r_{\text{L}} + \nu_{19}$ ($\beta_{\text{sym}}\text{CH}_2$)	1441	1443 ^{b,c}	1441 ^{b,c}	$r_{\text{L}} + \nu_{51}$ ($\gamma_{\text{sym}}\text{NH}_2$)	514	512	510
$r_{\text{L}} + \nu_{20}$ ($\delta_{\text{asym}}\text{CH}_3$)	1424	1438	1436	$r_{\text{L}} + \nu_{52}$ ($\gamma_{\text{sym}}\text{NH}_2$)	483	466	465
$r_{\text{L}} + \nu_{21}$ ($\nu\text{CN} + \delta_{\text{sym}}\text{CH}_3$)	1402	1418	1416	$r_{\text{L}} + \nu_{53}$ ($\gamma_{\text{sym}}\text{NH}_2$)	433	434	432
$r_{\text{L}} + \nu_{22}$ (amide III)	1367	1387	1386				

^abizonytalan hozzárendelés; ^bváll; ^cfelbontatlan sáv; ^drészletekért ld. szöveg

Összefoglalásul tehát elmondható, hogy a t_{γ_L+} konformert és nyomokban a c_{α_L+} formát azonosítottuk a MI-IR spektrumban. Mindegyik, spektrumban található átmenetet hozzárendelhattük e két konformer egyikéhez. A számolások eredményeivel összhangban a c_{ϵ_L+} és c_{ϵ_L-} konformerek részaránya 350 K-en (a beeresztés hőmérsékletén) nem elég nagy, hogy kimutathatók legyenek a spektrumban. Az alacsony energiagát miatt a t_{γ_L-} konformer t_{γ_L+} konformerré, a c_{α_L-} pedig c_{α_L+} konformerré alakul a kifagyás során. Mindezeket figyelembe véve a t_{γ_L} és c_{α_L} konformer részaránya számolható az egyes + és – konformerek Boltzmann-egyűlthetőinek összege alapján. E részarányt, mely 0,972 ill. 0,026-nak adódott a t_{γ_L} és c_{α_L} konformerekre, használtuk súlyfaktorként a két konformer számolt spektrumának összeadásakor. Az 18. ábrán látható, hogy az így kapott spektrum nagyon jó egyezést mutat a mérési eredményekkel.

Mátrixizolációs VCD spektrumok

Az alaninszármazék esetéhez hasonlóan a prolinszármazék esetében is nagyon jó egyezés mutatkozott a számolt és mért mátrixizolációs VCD spektrumok között, a vizsgált 1775-1550 cm^{-1} régióban (19. ábra).



19. ábra: Az Ac-L-Pro-NH₂ IR spektrumának amid I-II régiója kripton (a)- és argonmátrixban (b) valamint az egyes konformerekre számolt spektrumok előfordulási arányokkal súlyozott összege (ld. szöveg), B3LYP/6-31++G(d,p) elméleti szinten végzett számolások alapján (c)

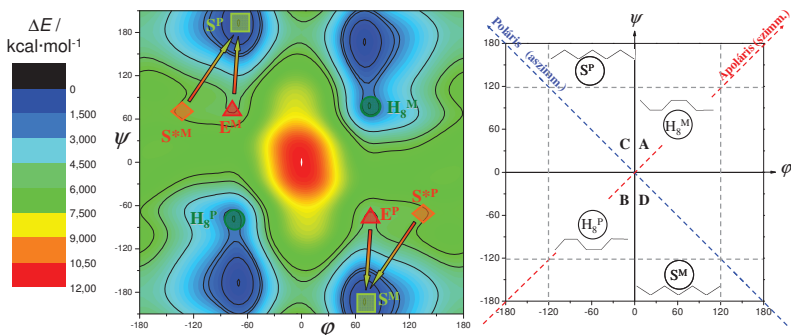
Az Ac-L-Pro-NH₂ nemesgáz mátrixban felvett VCD spektruma és az Ac-L-Pro-ND₂ D₂O-ban ill. deuterált alkoholokban felvett spektruma között (Oh 2006) egy érdekes eltérés tapasztalható. E protikus oldószerekben, a nemesgáz mátrixban felvett spektrumokhoz hasonlóan, az alacsonyabb frekvenciájú amid I rezgési módus negatív jelet ad 1608 és 1634 cm⁻¹ között. A magasabb frekvenciájú amid I rezgési módus sávja azonban pozitív előjelű, amely mind az MI-VCD spektrumoknak, mind a τ_L+ konformerre végzett számolásoknak ellentmond. Továbbá, a számolások szerint a 6 lehetséges Ac-L-Pro-NH₂ konformer egyikének sincs pozitív rotátorerősségű, magasfrekvenciás amid I rezgési módusa. Ez arra utal, hogy az Ac-L-Pro-NH₂ térszerkezete protikus oldószerekben eltér az izolált molekuláétól, és/vagy arra, hogy az oldószer-molekula kölcsönhatások jelentősen megváltoztatják a rotátorerősséget.

6.2 A β -aminosavak redős szerkezeteinek vizsgálata

Mivel kutatásom célja egy lehetséges redős szerkezet azonosítása volt, és a *gauche* állású μ torziós szöget tartalmazó térszerkezeteket már vizsgálták (Mandity 2009), vizsgálataim során csak *anti* állású μ torziós szöget tartalmazó konformereket tanulmányoztam.

6.2.1. Egyszálú rendszerek térszerkezeti tulajdonságai

A lehetséges nyújtott szerkezetű konformerek azonosítása céljából, melyek redős szerkezetek építőelemei lehetnek, elsőként az Ac- β -Ala-NHMe potenciális energia felületét vizsgáltam. Számolásaim alapján 8 lehetséges minimumot, azaz stabil térszerkezetet azonosítottam: a H_{8P}, H_{8M}, S_P, S_M, S*_P, S*_M, E_P, E_M konformereket. Hosszabb β -alaninból felépülő β -peptidek esetén azonban az E_M és S*_M konformerek S_P, az E_P és S*_P konformerek S_M konformerré alakulnak (20. ábra), tehát az elméletileg lehetséges 8 helyett csak 4 nyújtott szerkezetű építőelemet tételezhetünk fel. A belső szimmetria következményeként e 4 építőelem közül a két H₈- és a két S konformer egymás szerkezeti enantiomerjei (H_{8P} ill. H_{8M}, S_P ill. S_M). A H_{8PM} szerkezetek esetén a μ torziós szög 180°-ról 120°-ra tolódik (8. táblázat), ugyanis intramolekuláris hidrogénkötések alakulnak ki, melyek tovább növelik a szál stabilitását. E megnövekedett stabilitás miatt a redőképződést kísérő energiaváltozások megállapítása során a H_{8PM} szerkezeteket használtam egyszálú referenciarendszerként.



20. ábra: Az Ac- β -Ala-NHMe potenciális energia felszíne (bal) valamint annak sematikus ábrája a For-(β -Ala)_n-NH₂ szálak esetén megmaradó 4 lehetséges konformerral (jobb).

8. táblázat: Az Ac- β -Ala-NHMe lehetséges nyújtott szerkezeteinek tipikus térszerkezeti paraméterei

térszerkezet kódja	ideális torziós szögek			gerinckonformáció egybetűs kódja		
	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ
H ₈ ^P	75	180	75	g ⁺	a	g ⁺
H ₈ ^M	-75	-180	-75	g ⁻	a	g ⁻
E ^P	75	180	-75	g ⁺	a	g ⁻
E ^M	-75	180	75	g ⁻	a	g ⁺
S ^P	75	180	165	g ⁺	a	a ⁽⁺⁾
S ^M	-75	180	165	g ⁻	a	a ⁽⁻⁾
S ^{P*}	165	180	-75	a ⁽⁺⁾	a	g ⁻
S ^{M*}	-165	180	75	a ⁽⁻⁾	a	g ⁺

6.2.2 Kétszálú rendszerek térszerkezeti tulajdonságai

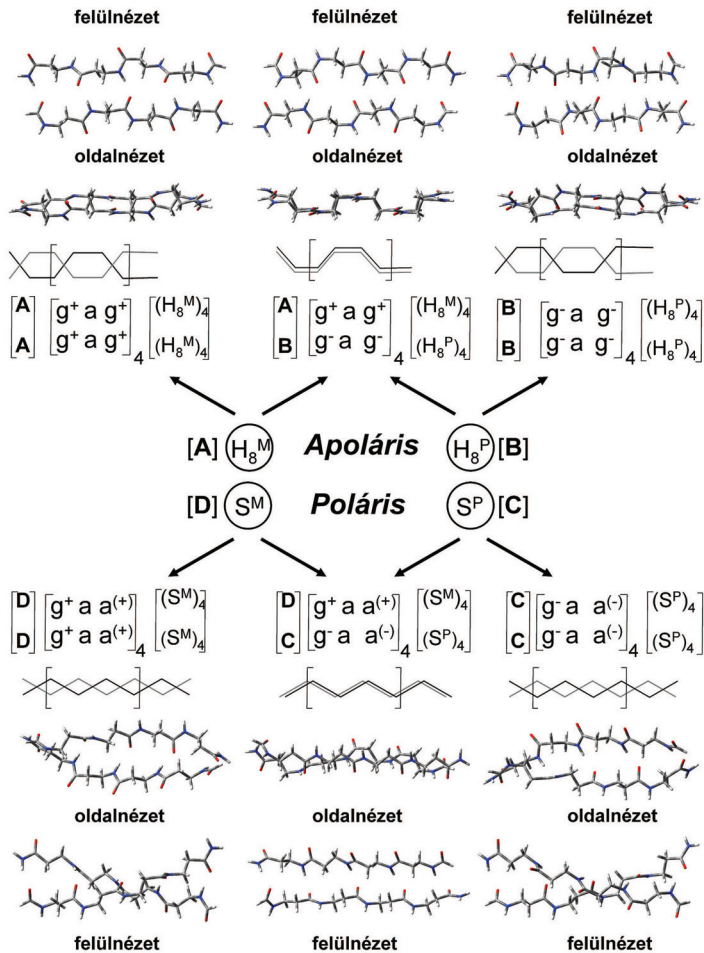
Ahogy az előző bekezdésben is láthattuk, β -aminosavakból felépülő antiparallel redők építőeleme csak következő 4 nyújtott konformer lehet: H₈^M(a továbbiakban A), H₈^P (a továbbiakban B), S_P (a továbbiakban C) illetve S_M (a továbbiakban D). Az A és B szálak apoláros redőket alakítanak ki, a C és D szálak pedig poláros redők építőelemei. E konformerek monomer és dimer formában is stabilak, 4 homodimer (AA, BB, CC, DD) és két heterodimer (AB, CD) térszerkezetet alakíthatnak ki (21. ábra).

A dimerizáció során az A és B szálak μ torziós szöge 180° felé tolódik, az intramolekuláris hidrogénhidak helyett intermolekuláris hidrogénhidak alakulnak ki, miközben a szál megtartja apoláros jellegét. Bár a poláros redők ideális építőeleme az E_P és E_M konformerek lennének, az előzőekben láthattuk, hogy hosszabb rendszerek esetén e térszerkezetek a spirális S_P ill. S_M konformerré alakulnak. Ennek köszönhető a poláros redők esetén megjelenő csavarodás. A kialakuló redők jellemzése során a redő csavarodását a rájuk jellemző torziós szögekből határoztam meg, az alábbi képletek alapján:

$$F = \varphi_1 + \varphi_4 - (\varphi_3 + \varphi_2), M = \mu_1 + \mu_4 - (\mu_3 + \mu_2), Y = \psi_1 + \psi_4 - (\psi_3 + \psi_2) \quad (24)$$

$$\text{és } T = \sqrt{F^2 + M^2 + Y^2}. \quad (25)$$

T^1 ill. T^2 jelöli az egyes alkotó szálak csavarodását, ezek összege pedig ($T^1 + T^2$) a kialakult redős szerkezetét (9. táblázat).



21. ábra: A β -aminosavakból felépülő apoláros (fent) és poláros(lent) redők szerkezete M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

9. táblázat: For-(β -Ala)₄-NH₂ szálaból felépülő apoláros és poláros redők gerinc torziós szögei és csavarodása, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

redő típusa ^a	szál fajtája ^b	Gerinc torziós szögek												T ^c	T ¹ + T ²					
		1.			2.			3.			4.					átlag				
		φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	F	M	Y				
apoláros	AA	A(H8 _A)	71	-131	63	71	-131	61	70	-132	64	70	-133	61	-1	-1	-1	2	51	
		„a szál”	71	167	137	78	177	56	80	168	145	78	163	50	-9	-14	-14	22		
		„b szál”	72	170	146	76	164	96	64	164	133	75	171	109	6	12	26	29		
	BB	B(H8 _B)	-71	131	-63	-71	131	-61	-70	132	-64	-70	133	-61	1	1	1	2	51	
		„a szál”	-71	-167	-137	-78	-177	-56	-80	-168	-145	-78	-163	-50	9	14	14	21		
		„b szál”	-72	-170	-146	-76	-164	-96	-64	-164	-133	-75	-171	-109	-6	-12	-26	29		
AB		„a szál”	74	174	106	74	172	130	69	170	92	71	167	146	2	-1	30	30	56	
	„b szál”	-80	-176	-138	-70	-170	-93	-72	-171	-130	-68	-170	-110	-6	-5	-25	26			
poláros	CC	C(S _M)	-72	-174	-143	-73	-175	-144	-74	-175	-144	-73	-175	-154	2	0	-8	9	134	
		„a szál”	-68	-171	85	-72	-167	78	-74	-164	71	-90	-174	172	-12	-13	109	110		
		„b szál”	-73	179	112	-76	177	115	-78	173	115	-75	172	142	7	2	23	24		
	DD	D(S _P)	72	174	143	73	175	144	74	175	144	73	175	154	-2	0	8	9	133	
		„a szál”	70	172	-88	74	167	-78	75	165	-78	102	172	-175	23	13	-107	110		
		„b szál”	73	-179	-112	76	-178	-117	79	-172	-118	75	-172	-144	-6	-1	-22	23		
	CD		„a szál”	-77	-178	69	-78	-188	63	-138	-182	161	-71	-172	154	69	20	-1	71	177
		„b szál”	73	-193	-162	143	-176	-121	128	-173	-130	109	-169	-145	-88	-13	-56	105		

^a lásd 21. ábra

^b A, B, C, D: egyszálú optimált térszerkezetek. „a” ill. „b” szál: a redő egyik ill. másik szála

^c T: egy szál csavarodása. A redőalkotó szálak csavarodásának összege (T¹ + T²) adja meg a redő csavarodását.

A monomer formák alacsony T értéke mutatja, hogy e térszerkezetekre csak kismértékű csavarodás jellemző (apoláros redő: 2°, poláros redő: 9°). Tehát hosszú, β -peptid szálak esetén sem várhatunk számottevő csavarodást.

A dimerizáció során azonban az apoláros és poláros szálak is nyújtottabb szerkezetet vesznek fel, a μ torziós szög értéke $\sim 120^\circ$ -ról $\sim 160^\circ$ -ra nő. A nyújtottabb szerkezetek elősegítik az intermolekuláris hidrogénkötések kialakulását, ugyanakkor e kötések kialakulása a redő csavarodásával jár, főleg poláros redők esetén. A **9. táblázat** adataiból megállapítható, hogy az apoláros redők csavarodása kevesebb, mint fele a poláros redőkének.

Négy aminosav-egységből álló, kanyarszerkezet nem tartalmazó poláros redők esetén kivétel nélkül a csavart szerkezet megjelenését tapasztaltam. Ezen eredmények látszólag ellentmondanak az irodalmi adatoknak, ahol a poláros redők esetén nem írtak le csavarodást. Mindegyik kísérlet fontos jellemzője azonban, hogy hajtű szerkezeteket vizsgáltak, melyekben a redő csak egy vagy két aminosav-egységre terjedt ki. Számolásaim alapján, a kanyarszerkezet jelenléte nélkül nem tudtam reprodukálni a csavarodásmentes poláros redős szerkezeteket. Ezek fényében tehát feltehető, hogy a kanyarszerkezet stabilizáló hatása, valamint a redős szerkezet rövidegsége miatt nem alakult ki az elméletileg várható csavart szerkezet.

E feltételezés összhangban van Lin és munkatársai (Lin 2002) megállapításával, mely szerint a poláros szálak alapvető tulajdonsága a megjelenő csavarodás, mely tulajdonság akár nanocső szerkezetek kialakulásához is vezethet (Beke 2006b). Mindkét tulajdonság megfigyelhető az általam számolt térszerkezeteken is: az egyik szál megtartja a nyújtott térszerkezetét, a másik, nanocső-szerűen köré csavarodik. Ezzel ellentétben az apoláros AA, BB és AB redők stabilizáló kanyarszerkezet hiányában is csavarodásmentes, nyújtott szerkezettel rendelkeznek.

6.2.3 Egyszálú- és kétszálú rendszerek stabilitása

A számolt entalpia, entrópia és szabadentalpia adatokat felhasználva lehetőség nyílik a redőképződést kísérő termodinamikai változások leírására (10. táblázat). A monomer szálak és a redős szerkezetek adataiból, a redőképződést kísérő entalpia, entrópia és szabadentalpia változást az alábbi képlet alapján határoztam meg:

$$\Delta X = X_{dimer} - 2X_{monomer}, \text{ ahol } X = E, H, G \text{ vagy } TS. \quad (26)$$

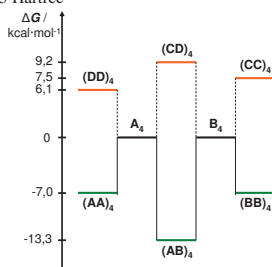
10. táblázat: A For-(β -Ala)_n-NH₂ szálakból felépülő apoláros és poláros redők képződését kísérő termodinamikai változások, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

redő típusa ^a	H8 _M	összetétel	$\Delta E^b /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta H^b /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta G^b /$ kcal·mol ⁻¹	$T\Delta S^b /$ kcal·mol ⁻¹
apoláros	H8 _M	monomer	0,0	0,0	0,0	0,0
	AA	dimer	-18,1	-18,7	-7,0	-11,7
	BB	dimer	-18,1	-18,7	-7,0	-11,7
	AD	dimer	-25,3	-25,9	-13,3	-12,6
poláros	CC	dimer	-2,9	-3,5	7,5	-10,9
	DD	dimer	-3,2	-3,8	6,1	-10,0
	CD	dimer	-1,0	-1,6	9,2	-10,8

^alásd 21. ábra

^ba képződési paramétereket a legstabilabb monomer szálhoz képest határoztam meg: H8_{PM};

E(H8 monomer) = -1159,0522885 Hartree



22. ábra: A For-(β -Ala)_n-NH₂ szálakból felépülő apoláros és poláros redők H8 szálakból történő kialakulását kísérő szabadentalpia változások energiadiagramja.

Az apoláros redők (AA és AB) képződése minden esetben energia és entalpianyereséggel járt, még a legstabilabb H8_{PM} térszerkezethez képest is (holott ebben az esetben a monomer formában is stabilizáló hidrogénkötések alakulnak ki). A poláros redők képződését kísérő energia- és entalpianyereség minden esetben jóval kisebb volt az apoláros redőknél kapottnál (poláros, DD: $\Delta E = -3,2$, $\Delta H = -3,8$ kcal·mol⁻¹ ill. apoláros, AA: $\Delta E = -18,1$, $\Delta H = -18,7$ kcal·mol⁻¹). A legstabilabb térszerkezettel az AB redő bír: $\Delta E = -25,3$ ill. $\Delta H = -25,9$ kcal·mol⁻¹.

Mint már utaltam rá, ezen eredmények ellentmondanak az irodalmi adatoknak. Ugyanakkor ismételtelen kiemelném, hogy az irodalomban vizsgált modellpeptidek csak egy-két aminosavegységből álló redős szerkezettel rendelkeztek, és egy stabilizáló kanyarszerkezetet is tartalmaztak. Jelen értekezés azonban 3 illetve 4 aminosavegységből álló redőket vizsgált, stabilizáló kanyarszerkezet nélkül. Eredményeim azt mutatják, hogy az AB redő képes a legstabilabb, kiterjedt redős szerkezetek kialakítására.

Bár az energia és entalpia értékek alapján a poláros és apoláros redők kialakulása is kedvezőnek bizonyult, a poláros redők kialakulását pozitív szabadentalpia-változás kíséri ($\Delta G_{CC} = +7,5$, $\Delta G_{DD} = +6,1$ ill. $\Delta G_{CD} = +9,2$ kcal·mol⁻¹; **22. ábra**). Az apoláros redők képződése azonban minden esetben szabadentalpia-nyereséggel jár: $\Delta G_{AA} = -7,0$, $\Delta G_{BB} = -7,0$ és $\Delta G_{AB} = -13,2$ kcal·mol⁻¹.

Az eltérés oka a poláros illetve apoláros redőket kísérő entalpiaváltozás különbségében keresendő. Poláros redőknél, a hidrogénkötések stabilizáló hatása a csavart szerkezet ellenére is kisebb, a kedvezőtlen elrendezés miatt, míg apoláros redők esetén ideális hidrogénkötés-rendszer alakul ki, nagymértékű stabilizációt eredményezve. Ebből következően a kétféle redő képződését kísérő entalpianyereség is eltér: $\Delta H_{AB} = -25,9$ kcal·mol⁻¹ ill. $\Delta H_{DD} = -3,8$ kcal·mol⁻¹. Ugyanakkor, mindkét rendszer kialakulása közepes entrópiavesztéssel ($T\Delta S_{AB} = -12,6$ kcal·mol⁻¹ ill. $T\Delta S_{CD} = -10,0$ kcal·mol⁻¹) jár, ami poláros redők esetén túlkompenzálja az entalpianyereséget, pozitív szabadentalpia-változást eredményezve ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$).

Továbbá, az elvárásoknak megfelelően az apoláros redők sokkal kisebb makrodipóllal rendelkeznek, ugyanis váltakozó térállású karbonilcsoportokat tartalmaznak. E rendszerek tehát valóban az α -aminosavak elterjedt másodlagos szerkezeti elemének, a β -redőzött réteg analógiáinak tekinthetők: ugyanis alternáló térállású karbonilcsoportokat tartalmaznak, kis makrodipóllal rendelkeznek, valamint térszerkezetük nem függ a C α szubsztitúciótól.

6.2.4 Három és négy β -aminosavat tartalmazó szálabból felépülő apoláros redők összehasonlítása

Ahhoz, hogy a dimerizáció lánchossztól való függését tanulmányozhassam, a tetrapeptid rendszerek mellett tripeptid rendszerekre is elvégeztem a fent említett számításokat. Ezáltal az egy „redőépítő elem” hozzáadásával járó stabilizálódás ill. destabilizálódás is vizsgálható (**11. táblázat**).

11. táblázat: A For-(β -Ala)₃-NH₂ ill. For-(β -Ala)₄-NH₂ szálabból felépülő felépülő apoláros redők gerinc torziós szögei és csavarodása, M05-2X/6-311++G(d,p)/M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

redő típusa ^a	szál fajtája ^b	Gerinc torziós szögek												T ^c	T ¹ + T ²				
		1.			2.			3.			4.					átlag			
		ϕ	μ	ψ	ϕ	μ	ψ	ϕ	μ	ψ	ϕ	μ	ψ	F	M	Y			
a p o l á r i s	A(H8 _M)	tri	71	-132	64	70	-132	64	71	-133	62	-	-	-	1	-1	-2	3	
		tetra	71	-131	63	71	-131	61	70	-132	64	70	-133	61	-1	-1	-1	2	
	AA „a szál”	tri	71	166	143	74	162	138	76	167	47	-	-	-	-1	9	-87	88	175
		tetra	71	167	137	78	177	56	80	168	145	78	163	50	-9	-14	-14	22	51
	AA „b szál”	tri	71	166	143	74	162	138	76	167	47	-	-	-	-1	9	-87	87	
		tetra	72	170	146	76	164	96	64	164	133	75	171	109	6	12	26	29	
	B(H8 _P)	tri	-71	132	-64	-70	132	-64	-71	133	-62	-	-	-	-1	1	2	3	
		tetra	-71	131	-63	-71	131	-61	-70	132	-64	-70	133	-61	1	1	1	2	
	BB	tri	-72	-167	-143	-74	-162	-139	-76	-167	-47	-	-	-	0	-9	88	89	177
		tetra	-71	-167	-137	-78	-177	-56	-80	-168	-145	-78	-163	-50	9	14	14	21	51
	BB „b szál”	tri	-72	-167	-143	-74	-162	-139	-76	-167	-47	-	-	-	0	-9	88	89	
		tetra	-72	-170	-146	-76	-164	-96	-64	-164	-133	-75	-171	-109	-6	-12	-26	29	
AB „a szál”	1st	79	175	136	69	168	96	71	167	146	-	-	-	13	5	90	91	182	
	2nd	74	174	106	74	172	130	69	170	92	71	167	146	2	-1	30	30	56	
AB „b szál”	1st	-79	-175	-136	-69	-168	-96	-71	-167	-146	-	-	-	-13	-5	-90	91		
	2nd	-80	-176	-138	-70	-170	-93	-72	-171	-130	-68	-170	-110	-6	-5	-25	26		

^a lásd 21. ábra

^b tri: tripeptid modellre kapott értékek, tetra: tetrapeptid modellre kapott értékek.

^c T: egy szál csavarodása. A redőalkotó szálab csavarodásának összege (T¹ + T²) megadja a redő csavarodását.

A redőket jellemző gerinckonformáció a rövidebb, tripeptid rendszerek esetén sem változott, a T értékek azonban nagyobbak, hisz rövidebb redő esetén nagyobb szerephez jut a terminális aminosavak viszonylagos konformációs szabadsága.

A különböző redők stabilitásának sorrendje tri és tetrapeptid rendszerek esetén is azonos maradt, a 4 aminosavból felépülő redők azonban egységesen ~2 kcal·mol⁻¹-al stabilabbnak bizonyultak. Ez arra utal, hogy a lánchossz növekedésével a redőképződés egyre inkább kedvezményezett (**12. táblázat, 23. ábra**).

12. táblázat: For-(β -Ala)₃-NH₂ ill. For-(β -Ala)₄-NH₂ szálakból felépülő felépülő apoláros redők képződését kísérő termodinamikai változások , M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

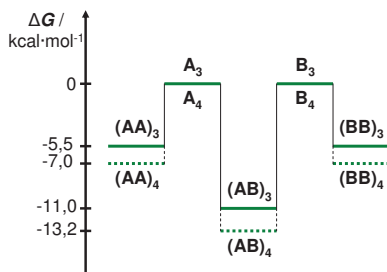
redő típusa ^a	összetétel	módszer ^b	$\Delta E^c /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta H^c /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta G^c /$ kcal·mol ⁻¹	$T\Delta S^c /$ kcal·mol ⁻¹
H8 _M	monomer	tri	0,0	0,0	0,0	0,0
		tetra	0,0	0,0	0,0	0,0
AA	dimer	tri	-18,0	-16,7	-5,5	-11,2
		tetra	-18,1	-18,7	-7,0	-11,7
BB	dimer	tri	-17,9	-16,7	-5,4	-11,3
		tetra	-18,1	-18,7	-7,0	-11,7
AB	dimer	tri	-23,5	-22,3	-11,0	-11,2
		tetra	-25,3	-25,9	-13,3	-12,6

^a lásd 21. ábra

^b *tri*: tripeptid modellre kapott értékek, *tetra*: tetrapeptid modellre kapott értékek.

^c a képződési paramétereket a megfelelő tagszámú szálhoz képest határoztam meg: H8_{PM};

E(H8monomer)=-911,8768604 Hartree a tripeptid-, *E*(H8 monomer)=-1159,0522885 Hartree a tetrapeptid szárla.



23. ábra: A tri- és tetra- β -peptidekből felépülő apoláros redők képződését kísérő szabadentalpiaváltozás energiadiagramja, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

6.2.5. A diszperziós erők hatása β -peptidek redős szerkezeteinek gerinckonformációjára és stabilitására

Mivel a β -aminosavak gerincében két metilénsoport található, várhatóan a diszperziós erők is fontos szerepet játszanak a redő stabilitásának meghatározásában. Mindezek miatt tripeptid modellek esetén, a fent említett számolásokat nemcsak a diszperziós erők leírására optimalizált M05-2X funkcióval, hanem az elterjedten használt, a diszperziós erőket azonban elhanyagoló, B3LYP funkcióval is elvégeztem (**13. táblázat**).

13. táblázat: A For-(β -Ala)₂-NH₂ szálaból felépülő felépülő apoláros redők gerinc torziós szögei és csavarodása, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) és B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken meghatározva

redő típusa ^a	szál fajtája ^b	Gerinc torziós szögek									átlag	T ^c	T ¹ + T ²			
		1.			2.			3.								
		ϕ	μ	ψ	ϕ	μ	ψ	ϕ	μ	ψ				F	M	Y
á r i s	A(H8 _{st})	b3lyp m052x	75 71	119 -132	53 64	75 70	121 -132	54 64	77 71	121 -133	52 62	2 1	-1 -1	3 -2	3 3	
	AA „a szál”	b3lyp m052x	83 71	167 166	65 143	100 74	164 162	119 138	76 76	162 167	138 47	-43 -1	2 9	-37 -87	57 88	114 175
	AA „b-szál”	b3lyp m052x	83 71	167 166	65 143	101 74	164 162	119 138	76 76	162 167	138 47	-44 -1	2 9	-36 -87	57 87	
	B(H8 _p)	b3lyp m052x	-75 -71	119 132	-53 -64	-75 -70	121 132	-54 -64	-77 -71	121 133	-52 -62	-2 -1	-1 1	3 2	3 3	0 1
	BB „a szál”	b3lyp m052x	-74 -72	-167 -167	-136 -143	-78 -74	-160 -162	-135 -139	-81 -76	-166 -166	-49 -47	-2 0	-13 -9	84 88	85 89	170 177
	BB „b szál”	b3lyp m052x	-74 -72	-167 -167	-136 -143	-78 -74	-160 -162	-135 -139	-81 -76	-166 -166	-49 -47	-2 0	-13 -9	84 88	85 89	
	AB „a szál”	b3lyp m052x	88 79	172 174	129 136	70 68	165 168	97 96	75 71	165 166	141 145	22 13	8 5	76 90	80 91	158 182
	AB „b szál”	b3lyp m052x	-88 -79	-172 -174	-129 -136	-70 -68	-165 -168	-97 -96	-75 -71	-165 -166	-141 -145	-22 -13	-8 -5	-76 -90	-78 -91	

^a lásd 21. ábra

^b b3lyp: B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten kapott térszerkezet;

m052x:M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten kapott térszerkezet

^c T: egy szál csavarodása. A redőalkotó szálak csavarodásának összege (T¹ + T²) megadja a redő csavarodását.

A kapott térszerkezetek mindkét módszerrel közel azonosnak bizonyultak, azonban a kialakult redők stabilitását az B3LYP funkcióval ~5 kcal·mol⁻¹-al alacsonyabbnak becsülte. Mindezek alapján tehát elmondható, hogy bár a diszperzió figyelembe vétele kevésbé befolyásolta a kialakuló redők térszerkezetét, hangsúlyos szerepet játszik azok stabilitásának meghatározásában (**14. táblázat**).

14. táblázat: A For-(β -Ala)₃-NH₂ szálakból felépülő felépülő apoláros redők képződését kísérő termodinamikai változások, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) és B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken meghatározva

redő típusa ^a	összetétel	módszer ^b	$\Delta E^c /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta H^c /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta G^c /$ kcal·mol ⁻¹	$T\Delta S^c /$ kcal·mol ⁻¹
H8 _M	monomer	b3lyp m052x	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0	0,0 0,0
AA	dimer	b3lyp m052x	-7,7 -16,1	-8,4 -16,7	0,4 -5,5	-8,7 -11,2
BB	dimer	b3lyp m052x	-9,2 -16,1	-9,8 -16,7	-1,0 -5,4	-8,8 -11,3
AB	dimer	b3lyp m052x	-16,6 -21,7	-15,0 -22,3	-5,2 -11,0	-9,8 -11,2

^a lásd 21. ábra

^b b3lyp: B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten kapott értékek;

m052x: M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten kapott értékek

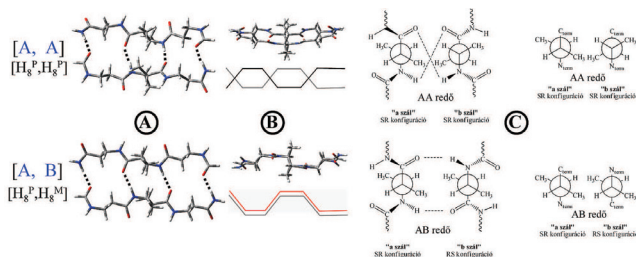
^c a képződési paramétereket a megfelelő elméleti szinten számolt legstabilabb szintet képest határoztam meg: H8_{PM}; $E(\text{H8 monomer}) = -911,876860$ Hartree B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) ill.

$E(\text{H8 monomer}) = -911,752827$ Hartree M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten.

A redős szerkezetekkel ellentétben, a diszperziós erők figyelembe vételének hiánya a referenciaként használt monomer (H8_{PM}) szerkezet torzulásához vezetett, B3LYP funkcióállal végzett optimalások esetén: a μ torziós szög *gauche* orientációba fordulásával egy csavartabb struktúra alakul ki, mely azonban ugyanannyi belső hidrogénnel rendelkezik.

6.2.6 A kiralitás hatása β -aminosavakból felépülő apoláros redők stabilitására

Mint azt az előző fejezetben láthattuk, a β -peptidek képesek egy stabil, csavarodásmentes redő, az apoláros β -redő kialakítására. Bár a redőre jellemző térszerkezeti tulajdonságokat már elemeztem, a szubsztitúció hatásának vizsgálata is fontos, hisz az oldallánc kölcsönhatások fontos szerepet játszhatnak fehérjék racionális tervezésében. Mint azt láthattuk, a poláros redők (CC, DD, CD) csavarodott, nanocső-szerű szerkezetet vesznek fel. Mivel e munka célja redős szerkezetek elemzése, a továbbiakban főként az apoláros redők (AA (és BB), AB) elemzésére térek ki (24. ábra).



24. ábra: A β -peptidekből felépíthető apoláros redők térszerkezete (A, B) valamint a középső aminosav μ torziós szögének Newman projekció képe (C)

6.2.7 A szubsztitúció hatása AA redők térszerkezetére és stabilitására

A szubsztitúció hatása AA redők térszerkezetére

A „Seebach-szabály” (Seebach 2004) felülvizsgálata céljából, heterokiralisan, homokiralisan és vegyesen diszubsztituált redőket vizsgáltam. Általánosságban elmondható, hogy a kapott redők térszerkezete csak kismértékben tér el a szubsztituátlanokétól. E kismértékű eltérések okozója a szubsztitúció gerinc torziós szögekre tett lokális hatása: A C β szénatom kiralitása a φ -, a C α szénatomé pedig a ψ torziós szög értékét befolyásolja.

Az R és S szubsztitúció ellenkező hatással bír az adott torziós szög értékére: C β szubsztitúció esetén az S konfiguráció negatívabb, az R pozitívabb értékek felé tolja el a φ torziós szöget ($\sim \pm 20$ fokos eltérés a szubsztituátlan redőhöz képest). A ψ torziós szög értéke hasonló irányba és mértékben változik S- ill. R-C α szubsztitúció esetén. Érdekes módon a két redőalkotó szál kiralitása egymástól függetlenül hat a szálak térszerkezetére, megtartva a redős elrendezést. Ezt igazolja a **15. táblázat** is, ahol megállapítható, hogy a 6 lehetséges kiralitást 4 különböző torziós szög-mintázat jellemzi. (pl. mindegyik „SR” konfigurációjú szál közel azonos torziós szögekkel rendelkezik).

15. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők gerinc torziós szögeire: A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid diszubsztituált egységének torziós szögei. M05-2X/6-311+G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) ill. B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) (zárójeles értékek) elméleti szinteken meghatározva

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{rel}^a / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	SR	60 (63)	160 (160)	118 (126)	59 (63)	160 (160)	155 (126)	0,00 (0,00)
SR	RS	60 (64)	160 (161)	141 (124)	104 (114)	165 (168)	82 (78)	0,45 (0,67)
SR	SS	60 (64)	163 (166)	133 (137)	84 (86)	151 (154)	137 (116)	1,62 (0,91)
RS	SS	103 (111)	173 (166)	84 (83)	81 (82)	151 (149)	123 (120)	2,41 (1,06)
SS	SS	88 (88)	159 (155)	131 (130)	88 (88)	159 (155)	131 (130)	3,69 (1,73)
SS	RR	82 (82)	146 (146)	135 (118)	73 (79)	154 (164)	101 (90)	5,71 (6,83)

^aa legstabilabb térszerkezetű AA redő értékéhez képest: SRSR ($E = -1981,385062$ Hartree)

Heterokirális diszubsztitúció esetén a két metilcsoport *anti* állásba kerül, ami minimalizálja a vicinális metilcsoportok közötti taszítást. Beke és munkatársai kimutatták (Beke 2004), hogy a φ torziós szög számára a *gauche*, a ψ szög számára az *anti* állás kedvezőbb. Ezzel magyarázható a két heterokirális AA redő: az SRSR és az SRRS közötti stabilitáskülönbség. SRSR esetben mindkét C β atom kiralitása S, azaz mindkét szál φ torziószöge *gauche* irányba tolódik, ami a stabilitás szempontjából kedvező. Hasonlóképp, a C α atom kiralitása R, ami viszont *anti* irányú változást okoz a ψ torziós szög értékében, ami megint csak kedvező. Az SRRS konfiguráció esetén az egyik szál kiralitása ellentétes, a φ szög *anti*, a ψ szög *gauche* irányba, azaz a számukra kedvezőtlen irányba, tolódik, ami a stabilitás kismértékű csökkenését eredményezi. Az SRSR konfiguráció stabilitását növeli az a tény is, hogy a két szál azonossága miatt a hidrogénkötések elrendeződése ideális.

Homokirális diszubsztitúció esetén a metilcsoportok szükségképpen *gauche* állásba kerülnek, ami a stabilitás csökkenésével jár a vicinális metilcsoportok között fellépő taszítás miatt. Seebach elméletével ellentétben (Seebach 2004), homokirális szubsztitúció esetén sincs elméleti akadálya a redő kialakulásának, a kapott redő torziós szögei hasonlóak a szubsztituálatlan redőre jellemzőkhöz. Mindegyik apoláros redő esetén létezik olyan homokirális diszubsztitúció, melynél a metilcsoportok a hidrogénkötés-rendszerrel ellenkező irányba állnak. Ez esetben a szálakat összetartó hidrogénkötés-rendszer nem gyengül meg, a redő stabil marad, ám a metilcsoportok közt fellépő taszítás így is ~ 3 kcal·mol⁻¹ destabilizációt okoz. Természetesen e szubsztitúció meggátolja többszálú redők kialakulását, hisz a metilcsoportok térigénye akadályozza egy esetleges harmadik szál kapcsolódását.

Vegyes diszubsztitúció (egy homokirális és egy heterokirális szál dimerizációja) esetén, hasonló viselkedést tapasztalunk, mint heterokirálisan diszubsztituált esetben: mindkét szál a rajta levő szubsztituensek kiralitásának megfelelő torziós szög-értékeket vesz fel.

Szubsztitúció hatása AA redők stabilitására

A fent említett térszerkezeti tulajdonságokat áttekintve lehetőségünk nyílik az eltérő módon diszubsztituált redők közötti stabilitáskülönbség magyarázatára.

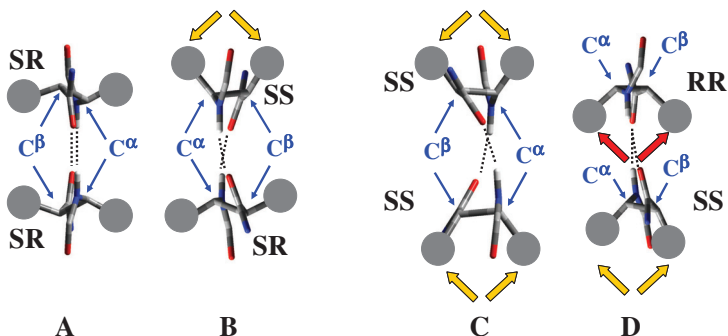
A **16. táblázat** alapján egyértelműen megállapítható, hogy Seebach megfigyeléseivel egyezően, a heterokiralísan diszubsztituált redők rendelkeznek a legnagyobb relatív stabilitással ($\Delta G_{\text{SRSR}} = 0,00 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ill. $\Delta G_{\text{SRRS}} = 0,60 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). A már említett *anti* térállás miatt a metilcsoportok közti tasztítás minimális. Az SRSR és SRRS konfigurációjú redők közti stabilitáskülönbséget pedig a már szintén említett lokális térszerkezeti hatásokkal magyarázhatjuk.

16. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid termodinamikai paraméterei M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) és B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) (zárójeles értékek) elméleti szinteken meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szám	b-szám	$\Delta E_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta H_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta G_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$T\Delta S_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹
SR	SR	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,80)	0,00 (-0,80)
SR	RS	0,45 (0,67)	0,35 (0,51)	0,60 (0,00)	-0,25 (0,51)
SR	SS	1,62 (0,91)	1,86 (0,89)	2,10 (1,81)	-0,24 (0,92)
RS	SS	2,41 (1,06)	2,65 (1,01)	3,28 (2,29)	-0,63 (-1,28)
SS	SS	3,69 (1,73)	3,95 (1,91)	5,17 (3,38)	-1,22 (-1,47)
SS	RR	5,71 (6,83)	6,10 (6,93)	6,88 (8,16)	-0,78 (-1,23)

^aa legstabilabb térszerkezetű AA redő értékéhez képest: SRSR (M05-2X: $E = -1981,385062$ Hartree, $H = -1980,605368$ Hartree, $G = -1980,74093$ Hartree; B3LYP: $E = -1981,63758274$ Hartree, $H = -1980,870425$ Hartree, $G = -1981,008856$ Hartree)

Homokirálisan diszubsztituált redők esetén a *gauche* állású metilcsoportok között fellépő sztérikus taszítás miatt csökken a stabilitás. E hatás még erősebb abban az esetben, mikor a metilcsoportok a hidrogénkötés-rendszer irányába állnak ($\Delta G_{SSSS} = 5,17 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ill. $\Delta G_{SSRR} = 6,88 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). E tapasztalat is összhangban van a korábbi eredményekkel, ugyanakkor, a korábbi megállapítással ellentétben a homokirális konfiguráció ténye önmagában még nem akadályozza meg a redő kialakulását, a metilcsoportok térállását is figyelembe kell venni (25. ábra).



25. ábra: Oldalláncok között fellépő sztérikus taszítások heterokirálisan (A), vegyesen (B) valamint homokirálisan (C,D) diszubsztituált β -aminosavakból felépülő apoláros redőkben. A sárga nyílak gyenge, a piros nyílak erős destabilizációt jelölnek.

Vegyesen diszubsztituált redők esetén is hasonló megállapításokat tehetünk: amennyiben a *gauche* állású metilcsoportok a hidrogénkötés-rendszerrel ellenkező irányba néznek, a stabilitáscsökkenés minimális, ellenkező esetben azonban hangsúlyosabb. Az SRSS és RSSS redők közti különbség okát ($\Delta G_{SRSS} = 2,10 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ill. $\Delta G_{RSSS} = 3,28 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$) a heterokirálisan diszubsztituált redőknél már tárgyaltuk.

6.2.8 A szubsztitúció hatása AB redők térszerkezetére és stabilitására

A szubsztitúció hatása AB redők térszerkezetére

Az AB redők egyik legfontosabb eltérése az AA redőktől, hogy a redőt alkotó két szál egymás tükörképi párja, tehát például az *R-C α* - és *S-C β* szubsztitúció hatása az egyik szálra ugyanaz, mint az *S-C α* és *R-C β* szubsztitúcióé a másikra (17. táblázat).

17. táblázat: A pontkiralítás hatása az AB redők gerinc torziós szögeire: A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid diszubsztituált egységének torziós szögei. M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) ill. B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) (zárójeles értékek) elméleti szinteken meghatározva

Kiralitás		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{rel}^a /$ kcal·mol ⁻¹
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	RS	58 (60)	161 (159)	117 (119)	-58 (-60)	-161 (-159)	-117 (-119)	0,00 (0,00)
SR	SR	56 (56)	158 (156)	123 (125)	-99 (-103)	-160 (-157)	-78 (-78)	3,26 (2,31)
SR	RR	57 (60)	161 (161)	117 (120)	-83 (-81)	-163 (-154)	-110 (-111)	3,98 (2,56)
RS	RR	98 (104)	163 (163)	77 (76)	-79 (-79)	-154 (-150)	-114 (-110)	5,99 (3,63)
SS	RR	83 (82)	159 (154)	112 (112)	-83 (-82)	-160 (-154)	-112 (-112)	7,98 (5,18)
SS	SS	80 (79)	156 (148)	116 (114)	-70 (-77)	-149 (-152)	-91 (-94)	8,70 (6,84)

^aa legstabilabb térszerkezetű AB redő értékéhez képest: SRRS ($E = -1980,7836989$ Hartree)

Ennek értelmében az AB redő legstabilabb térszerkezete SRRS konfigurációjú, az SRSR konfiguráció kisebb stabilitással bír az AA redőknél már említett okokból kifolyólag. E különbségen szem előtt tartva, az AA redőnél tárgyalt térszerkezeti jellemzők az AB redőkre is érvényesek.

A szubsztitúció hatása AB redők stabilitására

A stabilitásban megfigyelt trendek is azonosak az AA redőknél megfigyelttel. A heterokirális redők rendelkeznek a legnagyobb stabilitással ($\Delta G_{\text{SRRS}} = 0,00$ kcal·mol⁻¹ ill. $\Delta G_{\text{SRSR}} = 1,55$ kcal·mol⁻¹), a homokirális redők a legalacsonyabbal ($\Delta G_{\text{SSRR}} = 7,85$ kcal·mol⁻¹ ill. $\Delta G_{\text{SSSS}} = 9,12$ kcal·mol⁻¹), ugyanakkor megtartják redős szerkezetüket. A vegyesen diszubsztituált redők stabilitása a homokirálisan- ill. heterokirálisan diszubsztituált redők közé esik ($\Delta G_{\text{SRRR}} = 3,01$ kcal·mol⁻¹ ill. $\Delta G_{\text{RSRR}} = 5,10$ kcal·mol⁻¹). A kiralitás lokális hatásának köszönhető stabilitáskülönbségek magyarázata (pl. SR ill. RS szál) ehelyütt is érvényes (**18. táblázat**).

18. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid termodinamikai paramétereit M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) és B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) (zárójeles értékek) elméleti szinteken meghatározva.

Kiralitás		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	$\Delta E_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta H_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$\Delta G_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹	$T\Delta S_{\text{rel}}^a /$ kcal·mol ⁻¹
SR	RS	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)
SR	SR	3,26 (2,19)	3,10 (2,10)	1,55 (1,96)	1,55 (0,15)
SR	RR	3,98 (2,79)	3,88 (2,75)	3,02 (2,34)	0,86 (0,41)
RS	RR	5,99 (3,63)	5,88 (3,48)	5,10 (2,61)	0,79 (0,88)
SS	RR	7,98 (5,71)	8,15 (5,79)	7,85 (5,68)	0,30 (0,11)
SS	SS	8,70 (7,03)	8,61 (7,02)	9,12 (6,49)	-0,51 (0,24)

^aa legstabilabb térszerkezetű AB redő értékéhez képest: SRRS (M05-2X: $E = -1980,7836989$ Hartree, $H = -1980,003438$ Hartree, $G = -1980,135712$ Hartree; B3LYP: $E = -1981,649983$ Hartree, $H = -1980,882350$ Hartree, $G = -1981,016132$ Hartree)

6.2.9 A szubsztitúció hatása CC és CD redők térszerkezetére és stabilitására

Bár a korábbi eredmények alapján kiválglott, hogy a poláros redők csavart szerkezetet vesznek fel, a teljesség kedvéért ezen esetekben is vizsgáltam a kiralitás térszerkezetre ill. stabilitásra tett hatását. Bár a legstabilabb redőt ez esetben is az SRSR konfiguráció alkotta, a második legstabilabb konfigurációnak a homokiralis SSSS redő bizonyult ($\Delta E = 4,0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), ami ellentmond a korábbi megfigyeléseknek. E rendellenesség oka a csavart szerkezetek sokféleségében keresendő: már a szubsztituátlan redős szerkezetek stabilitása közötti különbség is oly mértékű, amely összemérhető a szubsztitúció kiralitásának tulajdonítható különbségekkel, így az utóbbira vonatkozó trendek nem figyelhetők meg egyértelműen (19. és 20. táblázat).

19. táblázat: A pontkiralitás hatása a CC redők gerinc torziós szögeire: A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid diszubsztituált egységének torziós szögei. M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{\text{rel}} / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	SR	-158	-173	126	-98	167	158	0,00
SS	SS	-132	-173	102	-78	165	158	3,97
SR	RS	-67	-174	-116	-149	154	158	7,52
SR	SS	-148	168	-165	-107	158	144	8,23
SR	SR	-158	-173	126	-98	167	158	0,00
SS	SS	-132	-173	102	-78	165	158	3,97

20. táblázat: A pontkiralitás hatása a CD redők gerinc torziós szögeire: A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid diszubsztituált egységének torziós szögei. M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{\text{rel}} / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
RS	SR	-97	-178	113	146	-171	-151	0,00
SR	SR	-160	-179	122	64	-171	-89	2,41
RS	RS	-87	-167	86	157	-172	-151	3,14
RR	RR	-85	177	77	93	-168	-121	6,05
SR	RR	-90	178	61	62	180	-75	11,28
RS	SR	-97	-178	113	146	-171	-151	0,00

6.2.10 A szubsztitúció hatása apoláros redők stabilitására, poláros és apoláros oldószerekben

Azért, hogy jobb leírást kaphassak valós rendszerek viselkedéséről, a vákuumban végzett számolásokat IEF-PCM oldószermodellrel használva is megismételtem, víz és heptán közegben. Ez utóbbi jól reprezentálja az apoláros közeget, ami például egy lipid kettősrétegre jellemző (Stenberg 1999).

Érdekes módon az implicit oldószermodell alkalmazása nem változtatta meg számottevően az AA redő különböző sztereoizomereinek stabilitás-sorrendjét (**21. táblázat**).

21. táblázat: Apoláros ill poláros oldószer hatása diszubsztituált AA redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid termodinamikai paraméterei vákuum, víz és heptán közegben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva^a

Diszubsztitúció kiralitása		ΔE / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔH / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔG / kcal·mol ⁻¹ ^b		
a-szál	b-szál	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán
SR	SR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SR	RS	0,45	0,29	0,54	0,35	0,19	0,44	0,60	0,45	0,70
SR	SS	1,62	4,76	3,04	1,86	5,00	3,29	2,10	5,24	3,52
RS	SS	2,41	6,38	4,18	2,65	6,62	4,42	3,28	7,25	5,05
SS	SS	3,69	8,52	6,36	3,95	8,78	6,63	5,17	10,01	7,85
SS	RR	5,71	6,51	5,75	6,10	6,91	6,15	6,88	7,69	6,93

^avákuumban optimált térszerkezetekre, oldószermodellben számoltam *single point* energiákat

^ba legstabilabb térszerkezetű AA redő értékéhez képest: SRSR (vákuum: $E = -1981,385062$ Hartree, $H = -1980,605368$ Hartree, $G = -1980,74093$; víz: $E = -1981,41099$ Hartree, $H = -1980,631298$ Hartree, $G = -1980,76686$ Hartree; heptán: $E = -1981,391012$ Hartree, $H = -1980,611318$ Hartree, $G = -1980,74688$ Hartree)

A **21. táblázat** adataiból látható, hogy bár az SRSR továbbra is a legstabilabb térszerkezettel bíró konfiguráció, vizes közegben az SRRS konfiguráció stabilitása is csaknem azonos. Poláros- és apoláros oldószerekben is felerősödött a vicinális metilcsoportok között fellépő tasztítás destabilizáló hatása, mely a homokiralisan és vegyesen szubsztituált redők stabilitását is csökkentette a heterokiralisan szubsztituáltakhoz képest (pl. SRSS: $\Delta G = 2,10$ kcal·mol⁻¹ vákuumban, $\Delta G = 5,24$ kcal·mol⁻¹ vízben, $\Delta G = 3,52$ kcal·mol⁻¹ heptánban). Ez egy igen fontos észrevétel, ugyanis, míg a vákuumban kapott eredmények alapján a 6 lehetséges sztereoizomer közül 5 lenne alkalmas AA redők kialakítására, az oldószermodellek esetén tapasztalt differenciálódás jobban kihangsúlyozza a heterokiralisan diszubsztituált rendszerek redőképzésre való hajlamát. Az SSSS (minden metilcsoport a hidrogénkötés-rendszerrel ellenkező irányba áll), és az SSRR (az egyik metilcsoport-pár a hidrogénkötés-rendszer felé néz) származékok sorrendje is felcserélődött.

Hasonló megkülönböztetést tehattunk a redőképzés szempontjából ideális és nem ideális konfigurációk között, különböző konfigurációjú AB redők oldószermodellben kapott stabilitásai alapján (22. táblázat).

22. táblázat: Apoláros ill poláros oldószer hatása diszubsztituált AB redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid termodinamikai paraméterei vákuum, víz és heptán közegben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva^a

Diszubsztitúció kiralitása		ΔE / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔH / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔG / kcal·mol ⁻¹ ^b		
a-szál	b szál	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán
SR	RS	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
SR	SR	3,26	2,49	2,92	3,10	2,32	2,75	1,55	0,77	1,21
SR	RR	3,98	5,65	4,71	3,88	5,55	4,61	3,02	4,70	3,75
RS	RR	5,99	8,02	6,82	5,88	7,91	6,71	5,10	7,12	5,92
SS	RR	7,98	6,90	7,01	8,15	7,06	7,17	7,85	6,77	6,87
SS	SS	8,70	11,33	9,87	8,61	11,24	9,78	9,12	11,75	10,29

^avákuumban optimált térszerkezetekre, oldószermodellben számoltam *single point* energiákat

^ba legstabilabb térszerkezetű AB redő értékéhez képest: SRRS (vákuum: $E = -1981,397979$ Hartree, $H = -1980,617718$ Hartree, $G = -1980,749992$ Hartree; víz: $E = -1981,420424$ Hartree, $H = -1980,640163$ Hartree, $G = -1980,772437$ Hartree; heptán: $E = -1981,401774$ Hartree, $H = -1980,621513$ Hartree, $G = -1980,753787$ Hartree)

A 22. táblázat alapján megállapítható, hogy míg a két legstabilabb térszerkezetű, heterokirális konfiguráció között mindhárom oldószer esetén mindössze $\sim 1-1,5$ kcal·mol⁻¹ az eltérés, a második és harmadik legstabilabb között vákuumban $1,5$ kcal·mol⁻¹, vízben 4 kcal·mol⁻¹, heptánban $2,5$ kcal·mol⁻¹. A kapott eredmény megerősíti, hogy eltérő kiralitású redők képződését az oldószer különböző mértékben befolyásolja: a metilcsoportok között fellépő tasztítás destabilizáló hatása e redő esetében is felerősödik. Az AA redővel ellentétben a legkevésbé stabil térszerkezet mindegyik közeg esetén azonos. Azonban egy eltérés a vákuumban tapasztalt sorrendtől itt is megfigyelhető: Az RSRR és SSRR konformer sorrendje megcserélődik. Mindezek ellenére levonható az a következtetés, hogy a stabilitási sorrend kvalitatíve azonos maradt mindhárom környezet esetén, tehát a vákuumban kapott eredmények is elegendőnek bizonyultak az eltérő kiralitású szálakból felépülő apoláros redők stabilitásának jóslásához.

6.2.11 A szubsztitúció hatása apoláros redők képződésére, poláros és apoláros oldószerekben

Mivel kutatásom fő célja annak megválaszolása volt, hogy mely β -aminosavakat lehet felhasználni β -redők racionális tervezésére, főleg a különféle konfigurációjú redők egymáshoz képesti stabilitására koncentráltam. Ugyanakkor az is hasznos információ, hogy a redőalkotó dimer kialakulása termodinamikailag kedvezményezett-e? Ezen okból az AA és AB redők képződését kísérő termokémiai változásokat is vizsgáltam.

A szubsztituátlan modellekhez hasonlóan itt is a $H8_{PM}$ szálakat tekintetem monomereknek, minthogy ezek a legnagyobb stabilitásúak, és ezek hasonlítanak leginkább az apoláros redőket alkotó szálak térszerkezetére. Kiszámoltam tehát a négyféle lehetséges kiralitású $H8_P$ (A) és $H8_M$ (B) szálakat, melyek legfőbb eltérése a redőt alkotó szálaktól, hogy a μ torziós szög 160° -ról 120° -ra toódik, az intramolekuláris hidrogénhidak kialakulása miatt. E helikális jelleg miatt a homokiralisan diszubsztituált $H8_P$ (A) és $H8_M$ (B) szálak stabilitása nagyobb a heterokiralisan diszubsztituáltakhoz képest.

A monomerekre és dimerekre számolt termodinamikai mennyiségek (ΔX , $X=E$, G , H) segítségével meghatározható a redő képződését kísérő változás, az alábbi egyenlet alapján:

$$\Delta X_{\text{dimer}} = X_{Y_1 Y_2} - [X_{Y_1(a)} + X_{Y_2(b)}], \text{ ahol } Y=A(H8_P) \text{ vagy } B(H8_M) \quad (27)$$

Az egyenletben szereplő „a” és „b” a redőt alkotó egyik, illetve másik szálát jelenti, hiszen a megfelelő konfigurációjú monomer szálak felhasználásával kell „létrehozni” az adott konfigurációjú redős szerkezetet. Az SRSS konfigurációjú AA redő képződését kísérő energiaváltozást például az alábbi egyenlet segítségével kaphatjuk:

$$\Delta X_{\text{dimer}} = X_{AA}(\text{SRSS}) - [X_A(\text{SR}) + X_A(\text{SS})] \quad (28)$$

Vákuumban végzett számításaim alapján az AA és AB redő képződése is termodinamikailag kedvező (23. táblázat, 26. ábra). Oldószermodell alkalmazása esetén azonban az entalpia- és szabadentalpia-nyereség jelentős (3-5 kcal·mol⁻¹) csökkenését tapasztaltam.

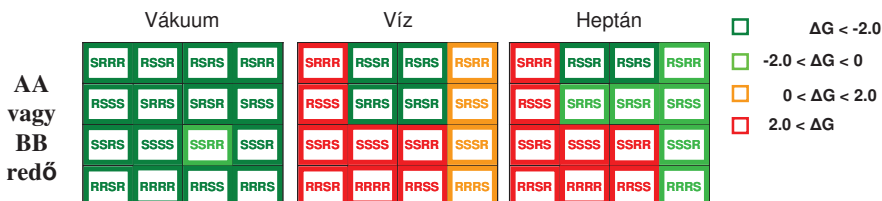
E csökkenés miatt AA redők esetén, vízben, csak a két, heterokiralis redő (SRSR, SRRS) képződése bizonyult termodinamikailag kedvezményezettnek. Heptán esetén ez a csökkenés kisebb mértékű (2-4 kcal·mol⁻¹), így a stabilabb vegyes kiralitású redő is kialakulhat (SRSR, SRRS, SRSS). A kapott stabilitás-sorrend összhangban van az előző fejezetben kapottakkal.

23. táblázat: Apoláros ill poláros oldószer hatása diszubsztituált AA redők képződésére. A hat egymástól független konfigurációjú For-β-Ala-β³-hAla-β-Ala-NH₂ modellpeptid H8_{PM} monomer szálakból történő képződését kísérő termodinamikai változások vákuum, víz és heptán közegben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva^a

Diszubsztitúció kiralitása		ΔE / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔH / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔG / kcal·mol ⁻¹ ^b		
a-szál	b szál	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán
SR	SR	-16,99	-13,73	-12,87	-16,38	-13,13	-0,59	-7,38	-4,12	-3,26
SR	RS	-15,68	-12,31	-11,45	-15,01	-11,65	1,14	-5,45	-2,09	-1,23
SR	SS	-16,82	-8,86	-10,40	-15,85	-7,89	2,93	-6,73	1,23	-0,31
RS	SS	-15,16	-6,11	-8,39	-14,04	-4,98	5,35	-4,22	4,83	2,55
SS	SS	-16,20	-4,98	-7,65	-15,09	-3,87	6,51	-5,10	6,12	3,45
SS	RR	-10,93	-6,17	-6,63	-8,91	-4,15	7,62	-0,29	4,48	4,01

^avákuumban optimált térszerkezetekre, oldószermodellben számoltam *single point* energiákat

^baz adott kiralitású redő felépítéséhez szükséges kiralitású H8_p szálak stabilitásának összegéhez képest



26. ábra: Különböző konfigurációjú diszubsztituált β-aminosavakból felépülő AA (ill. BB) redők képződési szabadentalpiái vákuum, víz és heptán közeg esetén, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

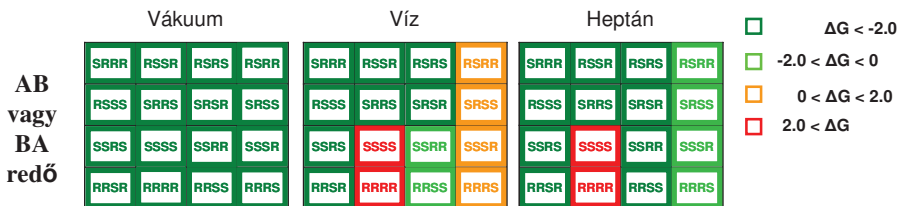
AB redők esetén, vízben, a két heterokirális (SRRS, SRSR), és kisebb energiájú vegyesen diszubsztituált (SRRR) redő mellett a hidrogénkötés-rendszerrel ellentétes irányba álló metilcsoportokat tartalmazó, SSRR konfigurációjú, homokirális redő kialakulása is termodinamikailag kedvezményezett. Ez esetben is kisebb destabilizáló hatást tapasztaltam heptán oldószer esetén: ekkor csak a legkevésbé stabil homokirális konfigurációjú redő kialakulását kísérte pozitív szabadentalpia-változás (24. táblázat, 27. ábra).

24. táblázat: Apoláros ill poláros oldószer hatása diszubsztituált AB redők képződésére. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid H_{8PM} monomer szálaból történő képződését kísérő termodinamikai változások vákuum, víz és heptán közegben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva^a

Diszubsztitúció kiralitása		ΔE / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔH / kcal·mol ⁻¹ ^b			ΔG / kcal·mol ⁻¹ ^b		
a-szál	b-szál	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán	vákuum	víz	heptán
SR	RS	-25,09	-19,65	-19,62	-24,13	-18,69	-6,99	-13,06	-7,62	-7,59
SR	SR	-20,97	-16,04	-15,83	-20,01	-15,08	-2,94	-10,19	-5,26	-5,05
SR	RR	-22,57	-13,88	-15,49	-21,59	-12,90	-2,14	-11,49	-2,81	-4,41
RS	RR	-19,69	-10,39	-12,50	-18,56	-9,25	1,25	-8,09	1,21	-0,91
SS	RR	-20,01	-12,52	-13,76	-18,65	-11,16	0,66	-8,11	-0,62	-1,86
SS	SS	-16,04	-7,27	-9,26	-14,15	-5,38	4,86	-3,74	5,03	3,04

^avákuumban optimált térszerkezetekre, oldószermodellben számoltam *single point* energiákat

^baz adott kiralitású redő felépítéséhez szükséges kiralitású H_{8P} és H_{8M} szálab stabilitásának összegéhez képest



27. ábra: Különböző konfigurációjú diszubsztituált β -aminosavakból felépülő AB (ill. BA) redők képződési szabadentalpiái vákuum, víz és heptán közeg esetén, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Fontos kiemelni, hogy ezen eredmények segítségével megjósolhatjuk, hogy milyen redők kialakulása várható különféle oldószerekben. Például, összevetve a 23. és 24. táblázat értékeit, megállapítható, hogy két rövid, SR vagy RS kiralitású szakaszt tartalmazó szál, készségesen alakít ki AA vagy AB típusú redőt, valószínűleg az utóbbit előnyben részesítve SRSR ($\Delta\Delta G = -1,12$ kcal·mol⁻¹ az AB redő javára) és SRRS ($\Delta\Delta G = -5,03$ kcal·mol⁻¹ az AB redő javára) kiralitás esetén is. Hasonló megfontolások alapján a többi lehetséges konfiguráció redőképzési hajlamát is megbecsülhetjük. Reményeim szerint egy ilyen áttekintő elemzés megkönnyíti speciális térszerkezettel rendelkező β -peptidek racionális tervezését.

7. Összefoglalás

Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe mátrixizolációs IR spektrumai alapján egyértelműen kimutattam a γ_{DL} ill. γ_L és β_{DL} ill. $\beta_{L(D)}$ konformerek jelenlétét. Bár ezen eredmény egybevág Grenie és munkatársai eredményeivel, néhány spektrális jellemző asszignációját felülvizsgáltam, főleg az amid A régióban. Továbbá, az általam felvett spektrumok nagyobb felbontása, a kevesebb aggregátum, az argon- és kriptonmátrixban elvégzett mérések összehasonlítása és a megbízható kvantumkémiai számítások lehetővé tették, hogy az esetlegesen kis mennyiségben jelenlevő konformereket is megpróbálhassam kimutatni. Bár az Ac-Gly-NHMe spektrumaiban a δ_{DL} konformer jelenléte nem egyértelmű, néhány sáv mégis valószínűleg e konformerhez rendelhető. Az Ac-L-Ala-NHMe esetében a δ_L konformer jelenlétét nem sikerült kimutatni.

Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe DCM oldószerben felvett spektrumaiban is csak a két fő konformer (γ_{DL} ill. β_{DL}) volt azonosítható, mely eredmény egybevág Ginzburg Ac-L-Ala-NHMe-n, CCl_4 -ban végzett méréseivel (Ginzburg 1982). Ezzel ellentétben, a jobban koordináló DMSO oldószer esetén csak egy konformer jelenlétét tapasztaltam. E konformer valószínűleg egy nyújtott, β_{DL} vagy ϵ_L konformer lehet, hisz az amidsoportokat erősen koordinálhatják az oldószermolekulák. A korábban, $CHCl_3$ -ban felvett spektrumok is csak egy konformer jelenlétére utaltak. A VCD spektrumok amid I régiója megerősítette a fenti megállapításokat DCM és DMSO esetén is. Azonban az amid II régióban ellentmondást tapasztaltam a számolt és mért jelek előjele között, mely eltérést valószínűleg az oldószermolekulák koordinációjának tulajdoníthatjuk, ami megváltoztathatta a rotátorerősség értékeket.

A fenti ellentmondás megértése érdekében mátrixizolációs VCD méréseket is végeztem az Ac-L-Ala-NHMe modellpeptiden, argon- és kriptonmátrixban. E spektrumok nemcsak alátámasztják az MI-IR spektrumok alapján tett asszignációt, de a kvantumkémiai számításokkal is sokkal jobban összevethetők, mint az oldószerben felvettek. Az amid II régióban, az oldószeres mérések esetén tapasztaltakkal ellentétben, nem volt eltérés a számolt és mért csúcsok előjele között. Az amid I régióban azonban a β_L konformerhez tartozó egyik csúcs előjele eltért. Számításokkal igazoltam, hogy ezen eltérés oka a szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgések rotátorerősségének gerinckonformációra való érzékenységében keresendő. Mivel az egyensúlyi térszerkezet környezetében a potenciális energia felület viszonylag lapos, nincs

akadálya a térszerkezet kismértékű változásának, mely azonban már egészen kis változások esetén is nagy hatással lehet a VCD spektrum sávjaira.

A számolások szempontjából tehát a $\beta_{L(D)}$ konformációjú dipeptidek VCD spektroszkópiás vizsgálata esetén minden lehetséges perturbációt figyelembe kell venni, valamint a rotátorerősség-értékeket is érdemes a rezgési átlagolt térszerkezetre számolni az egyensúlyi térszerkezet helyett.

Bár az MI-VCD spektrumok alapján sem tudtam azonosítani a δ_L konformert, a számolt VCD spektrum arra utal, hogy a jel-zaj arány javításával és jobb alapvonal-korrekciónal az MI-VCD spektrum segíthetne e konformer kimutatásában.

Az Ac-L-Pro-NH₂ MI-IR és MI-VCD spektrumaiban egy nagy mennyiségben jelenlevő (t_{γ_L+}) és egy kis mennyiségben jelenlevő (c_{α_L+}) konformer volt azonosítható (>1% részarány). A szintén nagy arányban jelenlevőnek jóslott t_{γ_L-} konformerhez tartozó sávok nem jelentek meg a spektrumban, ugyanis e konformer a t_{γ_L+} konformerré alakul át a kifagyás során, az átalakulás alacsony energiagátja miatt. A számolások alapján hasonló viselkedés várható a c_{α_L+} konformer esetében is. A számolt és mért spektrumok nagyon jó egyezést mutatnak. A transz formára kapott nagy részarány összhangban van a korábbi, különböző polaritású oldószerekben végzett mérésekkel, melyek apoláros közegben a transz-forma domináns jelenlétét mutatták ki, ami azonban az oldószer polaritásának növekedésével folyamatosan csökken a cisz forma javára. Az a megfigyelés, hogy a t_{γ_L} formán kívül a prolin-diamid más jelentős stabilitású konformerrel nem rendelkezik, nemcsak ezen aminosav nagy merevségét, hanem hélix-törő és redőtörő tulajdonságát is igazolja, mely utóbbi fontos szerepet játszik β -fehérjék aggregációjának megakadályozásában.

Monomer, β -peptid szálak nyújtott szerkezetét vizsgálva Ac- β -Ala-NHMe, For-(β -Ala)₃-NH₂ és For-(β -Ala)₄-NH₂ modellpeptideken, 4 lehetséges redőképző térszerkezetet azonosítottam: a H_{8P}, H_{8M}, S_P, S_M konformereket. A dimerizáció során e szálakból egy nyújtottabb szerkezet alakul ki, amely elősegíti az intermolekuláris hidrogénkötések kialakítását.

Az S_P (C) és S_M (D) szálak poláris redők kialakítására képesek, melyekben a karbonilsoportok azonos irányba állnak. E redők kivétel nélkül nanocső-szerű szerkezetet vettek fel, melyekben az egyik szál a másik köré csavarodott (amit a **9. táblázat** T adatai alapján ellenőrizhetünk), ellentmondva a korábbi irodalmi adatoknak. Bár a korábbi munkák a poláris redők létezése mellett foglalnak állást, fontos megjegyezni, hogy csak rövidebb, kanyarszerkezettel összetartott modellpeptideket vizsgáltak. E modellekben a kanyar egy térszerkezet-stabilizáló elem, és a redőalkotó régió is túl rövid ahhoz, hogy a már említett csavarodás megjelenjen.

Bár a vákuumban végzett energia-számítások stabilisnak jósolják a poláros redőt ($\Delta E \sim 3$ kcal.mol⁻¹), a frekvenciaszámolások segítségével kapott pozitív szabadentalpia-értékek alapján kiviláglik, hogy e redők kialakulása termodinamikailag nem kedvezményezett.

A H_{8P} (B) és H_{8M} (A) térszerkezetek felhasználásával egy korábban még nem leírt redős szerkezetet, az apoláros redőt alakíthatjuk ki. E térszerkezetekben, az α -aminosavak β -redőzött rétegeihez hasonlóan, alternáló karbonilsoportokat találunk. A poláros redőkkel összevetve megfigyelhető a jóval kisebb mértékű csavarodás ($T=53$ vö. $T=148$), mely e térszerkezeteket alkalmasabbá teszi planáris redők kialakítására. Továbbá, a poláros redőkhöz képest, jóval nagyobb stabilitással rendelkeznek ($\Delta\Delta E \sim 15$ kcal.mol⁻¹), és dimerizációjuk is termodinamikailag kedvezményezett ($\Delta G < 0$).

Eredményeim azt is igazolják, hogy a monomer szálak hosszának növelésével a redőképződés is egyre kedvezményezettebbé válik. E tényt B3LYP/6-31G(d) és M05-2X/6-31G(d) elméleti szinteken végzett számításokkal is igazoltam. Bár ez utóbbi módszer megfelelőbb a diszperziós kölcsönhatások leírására, a redők egymáshoz képesti stabilitását mindkét módszer azonosnak jósolta.

Megfelelő körülmények között tehát az apoláros β -redők a β -aminosavak egy új konformációs osztályát képezhetik. Az α -peptidekre jellemző β -redőzött réteg szerkezetéhez való hasonlatosságuk, minimális csavarodással rendelkező szerkezetük, ideális építőelemmé teszi őket redős vagy hajtó szerkezetek tervezéséhez. Természetesen, mivel e modellek oldallánccal nem rendelkeznek, a szubsztitúció stabilitásra gyakorolt hatásának vizsgálata is szükséges.

A szubsztitúció hatásának vizsgálatához a diszubsztituált For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -Ala- β --Ala-NH₂ modellpeptidet választottam. A 6 lehetséges független kiralitású térszerkezet elemzéséből kiviláglott, hogy a korábbi jóslatokkal egyezően a heterokirálisan diszubsztituált származékok rendelkeznek a legnagyobb redőképző hajlandósággal. (ΔG_{--11} kcal·mol⁻¹ AB redőre, és ΔG_{--7} kcal·mol⁻¹ AA redő esetén).

Ellentmond azonban a korábbi hipotéziseknek az a tény, miszerint homokirálisan diszubsztituált szálak is képesek redők kialakítására, amennyiben a metilcsoportok orientációja kedvező. Természetesen e redők stabilitása kisebb, mint a heterokirálisan diszubsztituáltaké, hisz míg az előbbi redőben a metilcsoportok *anti*, az utóbbi esetben a *gauche* állásúak, tehát sztérikus tasztítás lép fel a két vicinális helyzetű metilcsoport között. Az S-C α , S-C β konfiguráció esetén a metilcsoportok térrállása kedvező, hisz a hidrogénkötés-rendszerrel ellentétes irányba állnak, R- C α , R- C β konfigurációnál azonban a hidrogénkötés-rendszer felé néznek, mely annak meggyengüléséhez vezet, jelentős mértékű destabilizációt okozva.

A vegyesen diszubsztituált redők stabilitása a várakozásoknak megfelelően a hetero- és homokirálisan diszubsztituált redők közé esik, hisz csak az egyik szálon lép fel a metilcsoportok közötti sztérikus tasztítás.

A fenti megállapítások nemcsak vákuumban, de poláros és apoláros oldószerben (víz ill. heptán) végzett számolások esetén is igaznak bizonyultak. A redők stabilitás-sorrendje is túlnyomórészt változatlan maradt. A heterokirálisan diszubsztituált redők esetén a kialakuló dimerek mindkét oldószerben nagy stabilitással rendelkeznek, a *gauche* állású metilcsoportok közötti tasztítás destabilizáló hatása azonban oldószermodellek alkalmazása esetén felerősödött. Mindezek ellenére AB redő esetén a homokirális redő kialakulása még poláros és apoláros oldószerek esetén is termodinamikailag kedvezményezettnek bizonyult. E tulajdonság valószínűleg tovább erősíthető megfelelő oldalláncok alkalmazásával, ez esetben ugyanis a homokirálisan diszubsztituált szálak is redőket alkotnának, melyek hajtú szerkezetek ideális építőelemei lennének, hisz a metilcsoportok sztérikus gátlása megakadályozná további szálak aggregációját (egy esetleges harmadik szál esetén a vicinális metilcsoportok a harmadik szál hidrogénkötés-rendszere felé állnának, jelentősen csökkentve a potenciális háromszálú redő stabilitását.)

Poláros, CC és CD redők esetében nem voltak megfigyelhetők hasonló összefüggések. Ennek oka valószínűleg az, hogy a csavart szerkezetek stabilitás-különbsége összemérhető a kiralitás miatt fellépővel, így ez utóbbi elemzése nehézkes.

A redők stabilitása nemcsak a metilcsoportok térállásától, hanem a szubsztitúció lokális hatásától is függ, a kiralitás ugyanis hatással van a torziós szögekre: *R* szubsztitúció esetén *anti*, *S* szubsztitúció esetén *gauche* irányba tolnának. Az egyes szálak torziós szögei függetlenek a redőt alkotó másik szálétól. Emiatt a redők stabilitását főként a gerinc torziós szögek határozzák meg: hasonlóan szubsztituált szálak torziós szögei is hasonlóak, így olyan redőket alakíthatnak ki, melyben a hidrogénkötések helyzete ideális. A fent említett okok miatt az *S* konfigurációjú C β szénatommal rendelkező redők stabilitását nagyobbak találtam az *R* konformációjú C β szénatommal rendelkezőkénél. Továbbá a kapott eredmények azt is mutatják, hogy a C β szubsztitúció kiralitása nagyobb hatással van a redők stabilitására, mint a C α szubsztitúcióé. Ez összhangban van Beke és munkatársai (Beke 2004) megállapításával, miszerint a φ torziós szög (melyre a C β szubsztitúció hat) viszonylag merev, a ψ torziós szög (melyre a C α szubsztitúció hat) azonban viszonylag nagy konformációs szabadsággal rendelkezik.

Eredményeimet megerősítendő, valamint, hogy igazoljam, hogy a tapasztalt stabilitáskülönbségek valóban a diszubsztitúció kiralitásának, és nem a szélső aminosavak eltérő stabilizáló hatásának köszönhetőek, For- $\beta^{2,3}$ -Ala-NH₂ dimereken is elvégeztem a számításokat. A megfigyelt trendek egyeztek a hosszabb rendszerekre kapottal, így elmondhatjuk, hogy a stabilitásban tapasztalt különbségek valóban a kiralitáshoz köthetők (ld. Függelék).

Az összes lehetséges konfigurációjú apoláros redő stabilitását összefoglalja a **26.** és **27. ábra**. Mivel az AA és AB redők, és tükröképi párjaik, a BB és BA redők egyforma valószínűséggel alakulhatnak ki, az enantiomer konfigurációkat is feltüntettem (pl. az SRSR konfiguráció a legkedvezőbb az AA redő számára, az RSRS pedig a BB redő számára, és a két konformer stabilitása azonos, hisz enantiomerpárok. Emiatt, mivel a két redő alapváz stabilitása azonos, konfigurációtól függően az AA vagy a BB redő fog kialakulni). Reményeim szerint e két áttekintő ábra iránymutatóul szolgálhat preparatív kémiával foglalkozó vegyészeknek is β -redőzött rétegeket- illetve hajtú szerkezeteket tartalmazó β -peptidek racionális tervezéséhez.

Irodalom

- Akiyama 1994: Akiyama, M.; Phtani, T.; Furuta, Y.; Watanabe, E. *Spectrochimica Acta*, **1994**, *50A*, 1675.
- Albinsson 1996a: Albinsson, B.; Michl, J., *J.Phys.Chem.*, **1996**, *100*, 3418
- Albinsson 1996b: Albinsson, B.; Teramae, H.; Plitt, H.S.; Gross, L.M.; Schimbour, H.; Michl, J., *J.Phys.Chem.*, **1996**, *100*, 8681
- Albrecht 2008: Albrecht, M.; Rice, C. A.; Suhm, M. A. *J.Phys.Chem. A*, **2008**, *112*, 7530
- Andrews 1969: Andrews, L., *J. Chem. Phys.*, **1969**, *50*, 4288
- Asplund 2000: Asplund, M. C.; Zanni, M. T.; Hochstrasser, R. M. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2000**, *97*, 8219
- Avignon 1969: Avignon, M.; Huong, P. V.; Lascombe, J.; Marraud, M.; Neel, J. *Biopolymers*, **1969**, *8*, 69
- Baker 1998: Baker, J.; Jarzecki, A. A.; Pulay, P., *J. Phys. Chem. A.*, **1998**, *102*, 1412
- Bakker 2003: Bakker, J. M.; Aleese, L. M.; Mejer, G.; Helden, G. von., *Phys. Rev. Lett.* , **2003**, *91*, 203003
- Bakker 2005: Bakker, J. M.; Plützer, C.; Hünig, I.; Haber, T.; Compagnon, I.; Helden, G. von; Mejer, G.; Kleinermanns, K., *Chem Phys. Chem.*, **2005**, *6*, 120
- Baldauf 2008: Baldauf, C.; Pisabarro, M. T., *J. Phys. Chem. B*, **2008**, *112*, 7581
- Baquero 2008: Baquero, E. E.; James III, W. H.; Choi, S. H.; Gellman, S. H.; Zwier, T. S, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 4795
- Bazso 2011: Bazso, G.; Tarczay, G.; Fogarasi, G.; Szalay, P. G. *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2011**, *13*, 6799
- Becke 1993: Becke, A. D., *J. Chem. Phys.*, **1993**, *98*, 5648
- Beke 2004: Beke, T.; Csizmadia, I. G.; Perczel, A., *J.Comp.Chem.*, **2004**, *25*, 287
- Beke 2006a: Beke, T.; Somlai, Cs.; Perczel, A.; Toward a rational design of β -peptide structures *J. Comp. Chem.*, **2006**, *27*, 20
- Beke 2006b: Beke, T.; Csizmadia, I. G.; Perczel, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 5158
- Beke 2008: Beke, T.; Czajlik, A., Bálint, B.; Perczel, A., *ACS Nano*, **2008**, *2*, 545

- Beke 2009: Beke, T.; Somlai, C.; Magyarfalvi, G.; Perczel, A.; Tarczay, G., *J. Phys. Chem. B*, **2009**, *113*, 7918
- Blanco 2004: Blanco, S.; Lesarri, A.; López, J. C.; Alonso, J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 11675
- Boys, 1950: Boys, S. F., *Proc. Roy. Soc. (London) Ser. A.*, **1950**, *200*, 542
- Boys, 1970: Boys, S. F.; Bernardi, F., *Mol. Phys.*, **1970**, *19*, 553
- Chin 2004: Chin, W.; Dognon, J. P.; PiuZZi, F.; Tardivel, B.; Dimicoli, I., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, *6*, 2700
- Chin 2005a: Chin, W.; Mons, M.; Dognon, J. P.; Mirasol, R.; Chass, G.; Dimicoli, I.; PiuZZi, F.; Butz, P.; Tardivel, B.; Compagnon, I.; von Helden, G.; Meijer, G., *J. Phys. Chem. A*, **2005**, *109*, 5281
- Chin 2005b: Chin, W.; Dognon, J. P.; PiuZZi, F.; Tardivel, B.; Dimicoli, I.; Mons, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 707
- Chin 2005c: Chin, W.; Dognon, J. P.; Canuel, C.; PiuZZi, F.; Dimicoli, I.; Mons, M., *J. Chem. Phys.*, **2005**, *122*, 054317
- Chin 2005d: Chin, W.; PiuZZi, F.; Dognon, J. P.; Canuel, C.; Dimicoli, I.; Mons, M., *J. Chem. Phys.*, **2005**, *123*, 084301
- Chung 2000: Chung, Y. J.; Huck, B. R.; Christianson, L. A.; Stanger, H. E.; Krauthauser, S.; Powell, D. R.; Gellman, S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 3995
- Compagnon 2005: Compagnon, I.; Oomens, J.; Bakker, J.; Meijer, G.; von Helden, G., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 13
- Cradock, 1975: Cradock, S.; Hinchcliffe, A. J., *Matrix Isolation* Cambridge University Press, London, **1975**
- Császár 1999: Császár, A. G.; Perczel, A. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **1999**, *71*, 243
- Császár, 1992: Császár, A. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 9568
- Daura 2001: Daura, X.; Gademann, K.; Schafer, H.; Jaun, B.; Seebach, D.; van Gunsteren, W. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 2393
- Dian 2002: Dian, B. C.; Longarte, A.; Mercier, S.; Evans, D. A.; Wales, D. J.; Zwier, T. S., *J. Chem. Phys.*, **2002**, *117*, 10688

- Dian 2004a: Dian, B. C.; Longarte, A.; Winter, P. R.; Zwier, T. S., *J. Chem. Phys.*, **2004**, *120*, 133
- Dian 2004b: Dian, B. C.; Florio, G. M.; Clarkson, J. R.; Longarte, A.; Zwier, T. S., *J. Chem. Phys.*, **2004**, *120*, 9033
- Disney 2005: Disney, M. D.; Hook, D. F.; Namoto, K.; Seeberger, P.; Seebach, D., *Chem. Biodiv.*, **2005**, *2*, 1624
- Dobrowolski 2007: Dobrowolski, J. Cz.; Jamróz, M. H.; Kołos, R.; Rode, J. E.; Sadlej, J., *ChemPhysChem*, **2007**, *8*, 1085
- Dobrowolski 2010: Dobrowolski, J. Cz.; Jamroz, M. H.; Kolos, R.; Rode, J. E.; Cyranski, M. K.; Sadlej, J. *Phys.Chem.Chem.Phys*, *2010*, *12*, 10818
- Dobson 2006: Dobson, C. M., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2006**, *13*, 295
- Dorman 1973: Dorman, D. E.; Bovey, F. A. *J. Org. Chem.* **1973**, *37*, 2379
- Dunkin 1998: Dunkin, I. R.: *Matrix-Isolation Techniques: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, 1998
- Espinoza 2010: Espinoza, C.; Szczepanski, J.; Vala, M.; Polfer, N. C. *J.PhysChem A*, **2010**, *114*, 5919
- Fausto 1995: Fausto, P.; Kulbida, A.; Schrems, O. *J.Chem.Soc. Faraday Trans.*, **1995**, *91*, 3755
- Fischer 1994: Fischer, S.; Dunbrack, R.; Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 11931
- Frackenpohl 2001: Frackenpohl, J.; Arvidsson, P.I.; Schreiber, J. V.; Seebach, D. *Chembiochem*, **2001**, *2*, 445
- Fricke 2004: Fricke, H.; Gerlach, A.; Unterberg, C.; Rzepecki, P.; Schrader, T.; Gerhards, M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, *6*, 4636
- Fricke 2006: Fricke, H.; Gerlach, A.; Gerhards, M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2006**, *14*, 1660
- Ge 2002: Ge, N.-H.; Zanni, M. T.; Hochstrasser, R. M. *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 962
- Gerhards 2004: Gerhards, M.; Unterberg, C.; Gerlach, A.; Jansen, A., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, *6*, 2682
- Ginzburg 1982: Ginzburg, I. M. *Zh. Obshch. Khim.*, **1982**, *52*, 1635
- Glickson 1971: Glickson, J. D.; Applequist, J.; *J.Am.Chem.Soc.*, **1971**, *93*, 3276

- Góbi S.; Knapp, K.; Vass, E.; Majer, Z.; Magyarfalvi, G.; Hollósi, M.; Tarczay, G., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**, *12*, 13603
- Godfrey 1993: Godfrey, P. D.; Firt, S.; Hatherley, L. D.; Brown, R. D.; Pierlot, A. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 9687
- Godfrey 1996: Godfrey, P. D.; Brown, R. D.; Rodgers, F. M., *J. Mol. Struct.*, **1996**, *376*, 65
- Grenie 1970: Grenie, Y.; Lassegues, J.-C.; Garrigou-Lagrange, C., *J. Chem. Phys.*, **1970**, *53*, 2980
- Grenie 1975: Grenie, Y.; Garrigou-Lagrange, C., *J. Mol. Struct.*, **1975**, *24*, 293
- Günther 2001: Günther, R.; Hofmann, H.-J.; Kuczera, K., *J. Phys. Chem B*, **2001**, *105*, 5559
- Hamuro 1999: Hamuro, Y.; Schneider, J. P.; DeGrado, W. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 12200
- Higashimija 1977: Higashimija, T.; Tasumi, M.; Miyazawa, T. *Biopolymers*, **1977**, *16*, 1259
- Hintermann 1997: Hintermann, T.; Seebach, D., *Chimia*, **1997**, *51*, 244
- Horne 2007: Horne, W. S.; Price, J. L.; Keck, J. L.; Gellman, S. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 4178
- Hudaky 2002: Hudaky, I.; Baldoni, H. A.; Perczel, A. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **2002**, *582*, 233
- Huisken 1999: Huisken, F.; Werhahn, O.; Ivanov, A. Y.; Krasnokutski, S. A., *J. Chem. Phys.*, **1999**, *111*, 2978
- Hünig 2004: Hünig, I.; Kleinermans, K., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, *6*, 2650
- Ilyushin 2005: Ilyushin, V. V.; Alekseev, E. A.; Dyubko, S. F.; Motiyenko, R. A.; Lovas, F. J., *J. Mol. Struct.*, **2005**, *231*, 15
- Ivanov 1999: Ivanov, A. Y.; Sheina, G. G.; Blogoi, Yu. P., *Spectrochim. Acta A*, **1999**, *55*, 219
- Jalkanen 1996: Jalkanen, K. J.; Suhai, S., *Chem. Phys.*, **1996**, *208*, 81
- Jarmelo 2005: Jarmelo, S.; Lapinski, L.; Nowak, M. J.; Carey, P. R.; Fausto, R., *J. Phys. Chem. A*, **2005**, *109*, 5689
- Jhon 1999: Jhon, J. S.; Kang, Y. K. *J. Phys. Chem.*, **1999**, *103*, 5436

- Kaczor 2006: Kaczor, A.; Reva, I. D.; Proniewicz, L. M.; Fausto, R., *J. Phys. Chem. A*, **2006**, *110*, 2360
- Kaczor 2007: Kaczor, A.; Reva, I. D.; Proniewicz, L. M.; Fausto, R., *J. Phys. Chem. A*, **2007**, *111*, 2957
- Kang 1996: Kang, Y. K. *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 11589
- Kang 2002: Kang, Y. K.; Park, H. S. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **2002**, *593*, 55
- Kang 2004a: Kang, Y. K.; Choi H. Y. *Biophys. Chem.*, **2004**, *111*, 135
- Kang 2004b: Kang, Y. K. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **2004**, *675*, 37
- Kang 2004c: Kang, Y. K. *J. Phys. Chem. B*, **2004**, *108*, 5463
- Kang 2006: Kang, Y. K. *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 21338
- Karle 2002: Karle, I.; Gopi, H. N.; Balaram, P., **2002**, *99*, 5160
- Koca 1994: Koca, J.; Kriz, Z.; Carlsen, P. H. J. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **1994**, *306*, 157
- Koyama 1977: Koyama, Y.; Uchida, H.; Oyama, S.; Iwaki, T.; Harada, K. *Biopolymers*, **1977**, *16*, 1795
- Krauthauser 1997: Krauthauser, S.; Christianson, L. A.; Powell, D. R.; Gellman, S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 11719
- Lambie 2003: Lambie, B.; Ramaekers, R.; Maes, G., *Spectrochim. Acta A*, **2003**, *59*, 1387
- Lambie 2004: Lambie, B.; Ramaekers, R.; Maes, G., *J. Phys. Chem. A*, **2004**, *108*, 10426
- Lee 1988: Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G., *Phys. Rev. B*, **1988**, *37*, 785
- Lee 2002a: Lee, K. T.; Sung, J.; Lee, K. J.; Park, Y. D.; Kim, S. K., *Angew. Chem. Int Ed.*, **2002**, *41*, 4114
- Lee 2002b: Lee, K. T.; Sung, J.; Lee, K. J.; Kim, S. K., *Chem. Phys.*, **2002**, *116*, 8251
- Lee 2003: Lee, K. T.; Sung, J.; Lee, K. J.; Kim, S. K.; Park, Y. D., *Chem. Phys. Lett.*, **2003**, *368*, 262
- Lee 2006: Lee, K.-K.; Hahn, S.; Oh, K.-I.; Choi, J.-S.; Joo, C.; Lee, H.; Han, H.; Cho, M., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 18834
- Lesarri 2002: Lesarri, A.; Mata, S.; Cocinero, E. J.; Blanco, S.; López, J. C.; Alonso, J. L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 4673

- Lesarri 2004: Lesarri, A.; Cocinero, E. J.; López, J. C.; Alonso, J. L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, 605
- Liang 1992: Liang, G-B.; Rito, C. J.; Gellman, S. H., *Biopolymers*, **1992**, *32*, 293
- Lin 2002: Lin, J-Q.; Luo, S-W.; Wu, Y-D., *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 1551
- Lindenger 1999:Lindenger, A.; Toennies, J. P.; Vilesov, A. F., *J. Chem. Phys.*, **1999**, *110*, 1429
- Linder 2005: Linder, R.; Nispel, M.; Häber, T.; Kleinermanns, K., *Chem. Phys. Lett.*, **2005**, *409*, 260
- Madison 1969a: Madison, V.; Schellman, J., *Biopolymers*, **1969**, *9*, 65
- Madison 1969b: Madison, V.; Schellman, J., *Biopolymers*, **1969**, *9*, 511
- Madison 1977: Madison, V., *Biopolymers*, **1977**, *16*, 2671
- Madison 1980: Madison, V.; Kopple, K. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 4855
- Madison 1983: Madison, V.; Delaney N. G., *Biopolymers*, **1983**, *22*, 869
- Magyarfalvi 2011: Magyarfalvi, G.; Tarczay, G.; Elemér, Vass, *WIREs Comp.Mol.Sci.*, **2011**, *1*, 403
- Mandity 2009: Mandity I.M.; Weber E.; Martinek T. A.; Olajos G.; Tóth G. K.; Vass, E.; Fülöp, F., *Angew.Chem.Int.Ed.*, **2009**, *48*, 2171
- Martinek 2002: Martinek, T. A. ; Tóth, G. K.; Vass, E.; Hollósi, M.; Fülöp, F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1718
- McDonald 1996: McDonald, Q.; Still, W. C., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 1385
- Milligan 1967: Milligan, D. E.; Jacox, M. E., *J. Chem. Phys.*, **1967**, *47*, 5146
- Miyazawa 1996: Miyazawa, M.; Inouye, K.; Hayakawa, T.; Kyogoku, Y.; Sugeta, H., *Applied Spectroscopy*, **1996**, *50*, 644
- Mizushima 1952: Mizushima, S.; Shimanouchi, T.; Tsuboi, M.; Sugita. T.; Kurosaki, K.; Mataga, N.; Souda, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, *74*, 4639
- Momany 1975: Momany, F. A.; McGuire, R. F.; Burgess, A. W.; Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem.*, **1975**, *79*, 2362
- Möhle 1999: Möhle, K.; Günther, R.; Thormann, M.; Sewald, N.; Hofmann, H-J., *Biopolymers*, **1999**, *50*, 167

Némethy 1992: Némethy, G.; Gibson, K. D.; Palmer, K. A.; Yoon, C. N.; Paterlini, G.; Zagari, A.; Rumsey, S.; Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem.*, **1992**, *96*, 6472

Nowak 1996: Nowak, M.J.; Lapinski, J.S.; Kwiatkowski, J.S.; Leszczynski, J., *J.Phys.Chem.*, **1996**, *100*, 3527

Oh 2006: Oh, K.-I.; Han, J.; Lee, K.-K.; Hahn, S.; Han., H.; Cho, M., *J. Phys. Chem. A*, **2006**, *110*, 13355

Oldziej 2003: Oldziej, S.; Kozłowska, U.; Liwo, A.; Scheraga, H. A., *J. Phys. Chem. A*, **2003**, *107*, 8035

Park 2006: Park, J.; Hochstrasser, R. M., *Chem. Phys.*, **2006**, *323*, 78

Perczel 2000: Perczel, A.; Csizmadia, I. G., *J. Comput. Chem*, **2000**, *21*, 882

Perczel, 1991: Perczel, A.; Ángyán, J. G.; Kajtár, M.; Viviani, W.; Rivail, J.-L.; Marcoccia, J.-F.; Csizmadia, I. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 6256

Perczel, 1993: Perczel, A.; McAllister, M. A.; Császár, P.; Csizmadia, I. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4849

Peterson, 1983: Peterson, M. R.; Csizmadia, I. G.; Sharpe, R. W., *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **1983**, *16*, 1043

Pimentel 1954: Whittle, E.; Dows, D. A.; Pimentel, G. C., *J. Chem. Phys.*, **1954**, *22*, 1943

Pohl 2006: Pohl, G.; Beke, T.; Borbély, J.; Perczel, A. *J.Am.Chem.Soc.*, **2006**, *128*, 14548

Porter 2000: Porter, E. A.; Wang, X.; Lee, H.; Weisblum, B.; Gellmann, S. H., *Nature*, **2000**, *404*, 565

Porter 2002a: Porter, E. A.; Weisblum, B.; Gellmann, S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *123*, 7324

PQS 3.2: PQS version 3.2, Parallel Quantum Solutions, 2013 Green Acres Rd., Fayetteville, AR 72703

Pulay 1983: Pulay, P.; Fogarasi, G.; Pongor, G.; Boggs, J. E.; Vargha, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 7037

Ramaekers 2005: Ramaekers, R.; Pajak, J.; Rospenk, M.; Maes, M., *Spectrochim. Acta A*, **2005**, *61*, 1347

Ramek 1995: Ramek, M.; Kelterer, A.-M.; Teppen, B. J.; Schafer, L., *J. Mol. Struct.*, **1995**, *352*, 59

- Rankin 2002: Rankin, K. N.; Boyd, R. J., *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 11168
- Reva 1994: Reva, I. D.; Stepanian, S. G.; Plokhotnichenko, A. M.; Radchenko, E. D.; Sheina, G. G.; Blagoi, Yu P., *J. Mol. Struct.* **1994**, *318*, 1
- Reva 1995: Reva, I. D.; Plokhotnichenko, A. M.; Stepanian, S. G.; Ivanov, A. Yu.; Radachenko, E. D.; Sheina, G. G.; Blagoi, Yu. P., *Chem. Phys. Lett.*, **1995**, *232*, 141; *Erratum, Chem. Phys. Lett.*, **1995**, *235*, 617
- Rosas 1990: Rosas, R. I.; Cooper, C.; Laane, J., *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*, 1830
- Rubtsov 2002: Rubtsov, I. V.; Hochstrasser, R. M., *J. Phys. Chem. B*, **2002**, *106*, 9165
- Rubtsov 2003: Rubtsov, I. V.; Wang, J.; Hochstrasser, R. M., *J. Phys. Chem. B*, **2003**, *107*, 3384
- Sagan 2003: Sagan, S.; Milcent, T.; Ponsinet, R.; Convert, O.; Tasseau, O.; Chas-Saing, G.; Lavielle, S.; Lequin, O., *Eur. J. Biochem.*, **2003**, *3*, 257
- Sahai 2005: Sahai, M. A.; Kehoe, T. A. K.; Koo, J. C. P.; Setiadi, D. H.; Chass, G. A.; Viskolecz, B.; Penke, B.; Pai, E. F.; Csizmadia, I. G., *J. Phys. Chem. A*, **2005**, *109*, 2660
- Schmitt 2007: Schmitt, M. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 417
- Schreiber 2002: Schreiber, J. V.; Frackenpohl, J.; Moser, F.; Fleischmann, T.; Kohler, H.-P.; Seebach, D., *ChemBioChem*, **2002**, *3*, 424
- Seebaach 2001b: Seebach, D.; Rueping, M.; Arvidsson, P. I.; Kimmerlin, T.; Micuch, P.; Noti, C.; Langenegger, D.; Hoyer, D., *Helv. Chim. Acta*, **2001**, *84*, 3503
- Seebach 1996: Seebach, D.; Overhand, M.; Kühle, F.N.M.; Martinoni, B.; Oberer, L.; Hommel, U.; Widmer, H., *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 913
- Seebach 1999: Seebach, D.; Abele, S.; Gademann, K.; Jaun, B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 1595
- Seebach 2001a: Seebach, D.; Albert, M.; Arvidsson, P. I.; Rueping, M.; Schreiber, J. V., *Chimia*, **2001**, *55*, 345
- Seebach 2004: Seebach, D.; Beck, A. K.; Bierbaum, D. J., *Chem. Biodiv.*, **2004**, *1*, 1111 és az ottani hivatkozások
- Sheina 1988: Sheina, G. G.; Radchenko, E. D.; Ivanov, A.Y.; Stepanyan, S. G.; Blagoi, Yu. P., *Zh. Fiz. Khim.* **1988**, *62*, 985
- Siemion 1988: Siemion, I. Z.; Picur, B., *Biophysical Chemistry*, **1988**, *31*, 71

- Snoek 2001: Snoek, L. C.; Kroemer, R. T.; Hockridge, M. R.; Simons, J. P., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2001**, *3*, 1819
- Stepanian 1998: Stepanian, S. G.; Reva, I. D.; Radchenko, E. D.; Adamowicz, L., *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 4623
- Stepanian 1998: Stepanian, S. G.; Reva, I. D.; Radchenko, E. D.; Rosado, M. T. S.; Duarte, M. L. R. S.; Fausto, R.; Adamowicz, L., *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 1041
- Stepanian 1999: Stepanian, S. G.; Reva, I. D.; Radchenko, E. D.; Adamowicz, L., *J. Phys. Chem. A*, **1999**, *103*, 4404
- Stepanian 2001: Stepanian, S. G.; Reva, I. D.; Radchenko, E. D.; Adamowicz, L., *J. Phys. Chem. A*, **2001**, *105*, 10664
- Stephens 1994: Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J., *J. Phys. Chem.*, **1994**, *98*, 11623
- Stimson 1977: Stimson, E. R.; Zimmerman, S. S.; Scheraga, H. A., *Macromolecules*, **1977**, *10*, 1049
- Suenram 1980: Suenram, R. D.; Lovas, F. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 7180
- Sul 2006: Sul, S.; Karaiskaj, D.; Jiang, Y.; Ge, N-H., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 19891
- Tarczay 2006: Tarczay, G.; Magyarfalvi, G.; Vass, E., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 1775
- Tarczay 2009: Tarczay, G.; Gobi, S.; Vass, E.; Magyarfalvi, G. *Vib.Spect.*, **2009**, *50*, 21
- Taylor 2003: Taylor, C. M.; Hardre, R.; Edwards, P. J. B.; Park, J. H., *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 4413
- Tomasi 1994: Tomasi, J.; Persico, M., *Chem. Rev.*, **1994**, *94*, 2027
- Torchia 1971: Torchia, D. A., *Macromolecules*, **1971**, *4*, 440
- Torres 2009: Torres, E.; Gorrea, E.; Da Silva, E.; Nolis, P.; Branchadell, V.; Ortuno, R. M. *Org.Lett.*, **2009**, *11*, 2301
- Tsuboi 1959: Tsuboi, M.; Shimanouchi, T.; Mizushima, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 1406
- Túlio 1997: Túlio, M. T. S.; Duarte, M. L. R. S.; Fausto, R., *J. Mol. Struct.*, **1997**, *410*, 343
- Unterberg 2003: C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 8296
- Vasquez 1983: Vasquez M.; Némethy, G.; Scheraga H. A., *Macromolecules*, **1983**, *16*, 1043

- Veszprémi, 2002: Veszprémi, T.; Fehér, M., *A kvantumkémia alapjai és alkalmazása*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, **2002**
- Wedemeyer 2002: Wedemeyer, W. J.; Welker, E.; Scheraga, H. A. , *Biochemistry*, **2002**, *41*, 14637
- Wiegand 2002: Wiegand, H.; Wirz, B.; Schweitzer, A.; Camenisch, G. P.; Rodriguez Perez, M. I.; Gross, G.; Woessner, R.; Voges, R.; Arvidsson, P. I.; Frackenhohl, J.; Seebach, D., *Biopharm. Drug. Dispos.*, **2002**, *23*, 251
- Wu 1998: Wu, Y-D; Wang, D-P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 13485
- Zanni 2001a: Zanni, M. T.; Ge, N.-H.; Kim, Y. S.; Hochstrasser, R. M., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2001**, *98*, 8219
- Zanni 2001b: Zanni, M. T.; Gnanakaran, S.; Stenger, J.; Hochstrasser, R. M., *J. Phys. Chem. B*, **2001**, *105*, 6520
- Ziegelbauer 1998a: Ziegelbauer, K., *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **1998**, *42*, 1581
- Ziegelbauer 1998b: Ziegelbauer, K.; Babczinski, P.; Schönfeld, W., *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **1998**, *42*, 2197
- Zimmerman 1977: Zimmerman S. S.; Pottle M. S.; Némethy, G.; Scheraga, H. A., *Macromolecules*, **1977**, *10*, 1
- Zhao 2006: Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G., *J. Chem. Theory Comput.*, **2006**, *2*, 364

Kivonat

A fehérjék térszerkezetének ismerete a globuláris fehérjék működésének vizsgálatához és bizonyos fehérjék mesterséges előállításának (pl. selyem) szempontjából is fontos. A fehérjealkotó aminosavak közül a glicin a legegyszerűbb akirális, az alanin a legegyszerűbb királis aminosav, a prolin pedig, gyűrűs oldallánca miatt redő- és hélixterő elem.

Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe mátrixizolációs IR spektrumai alapján két fő konformer (γ_L és β_L) jelenlétét mutattam ki. Az Ac-Gly-NHMe spektrumaiban a kis részarányú δ_{DL} konformert is azonosítottam melyet azonban az alaninszármazék esetén nem sikerült kimutatnom. A mért és számolt konformerarányok jó egyezést mutattak.

Az Ac-L-Ala-NHMe mért és számolt MI-VCD spektruma a β_L konformerhez tartozó egyik csúcs előjelében eltért. Számításaim igazolták, hogy a szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgések rotátorerőssége már a szerkezet kis torzulása esetén is nagyban változhat. E jelenség komolyan befolyásolja α -aminosavak VCD spektrumait.

Az Ac-L-Pro-NH₂ MI-IR és MI-VCD spektrumaiban egy fő- (τ_{L+}) és egy kis részarányú (α_{L+}) konformert azonosítottam. A τ_{L-} a kifagyás során τ_{L+} konformerré alakul. A τ_{L+} konformer domináns jelenléte, igazolja a prolin merevségét és hélixterő tulajdonságát.

A β -aminosavak az utóbbi időben egyre több tanulmány tárgyát képezik, ugyanis, kedvező tulajdonságaik miatt ígéretes peptidalapú gyógyszerek lehetnek.

For-(β -Ala)₄-NH₂ modellpeptiden végzett számításaimmal 4 redőképző térszerkezetet találtam: a H_{8M} (A), H_{8P} (B), S_P (C), S_M (D) konformereket. A C és D szálak azonos állású karbonilcsoportokat tartalmazó poláris redőket (CC, CD) alakítanak ki, melyek kivétel nélkül nanocső szerkezetet veszek fel. Az A és B szálak egy korábban még le nem írt, alternáló karbonilcsoportokat tartalmazó apoláros redőt (AA, AB) alkotnak. Az apoláros redők a β -aminosavak új konformációs osztályát alkotják, β -redőzött réteghez való hasonlóságuk és sík szerkezetük, redős vagy hajtű szerkezetek ideális építőelemévé teszi őket.

A For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ peptiden végzett számolásaim a korábbi jóslatokkal egyezően, a heterokirális származékokból felépülő redőket találták ideálisnak. Ugyanakkor a korábbi hipotézisekkel ellentétben a homokirális szálak is képesek lehetnek redők kialakítására, nemcsak vákuumban, de poláros és apoláros oldószerekben (víz ill. heptán) is.

Eredményeimet összefoglalva egy átfogó modellt alkottam, amely reményeim szerint a preparatív kémiával foglalkozó vegyészeknek is iránymutatóul szolgálhat β -redőzött rétegeket illetve hajtű szerkezeteket tartalmazó β -peptidek racionális tervezéséhez.

Abstract

In order to study the functions of enzymes or the possibilities of the artificial synthesis of certain proteins (e.g. silk) it is important to study their structural properties. Glycine and alanine are the smallest achiral and chiral building blocks of proteins, while the unique structure of proline makes it a helix or β -sheet breaker structural element.

Two major conformer, γ_L and β_L , were identified in the matrixisolated IR spectra of Ac-Gly-NHMe and Ac-L-Ala-NHMe. In the case of the glycine derivative, a third minor conformer, δ_{DL} was also found. Experimental and computed spectra were in good correlation.

In the experimental and computed MI-VCD spectra of Ac-L-Ala-NHMe one of the peaks of the β_L conformer had opposite sign. Theoretical calculations have shown, that the rotatory strengths of the symmetric and antisymmetric vibrational modes of the β_L conformer are very sensitive to small variations in backbone geometry. This phenomenon has to be taken into the account during the analysis of VCD spectra of α -aminoacids.

One major, τ_{L+} and one minor, c_{L+} conformer was identified in the MI-IR and MI-VCD spectra of Ac-L-Pro-NH₂. The predicted τ_{L-} conformer is converted to τ_{L+} during the decomposition to the cold window. The presence of only one major conformer further confirms the rigid structure and α -helix or β -sheet breaker properties of proline.

Recently, β -peptides were subjects of an increasing number of studies as their unique characteristics make them promising candidates in drug design.

Four possible sheet forming strand structure was identified with computational analysis of the For-(β -Ala)₄-NH₂ model peptide: H8_M (A), H8_P (B), S_P (C), S_M (D). In the case of C and D strands polar sheets are formed, with carbonyl groups facing same spatial orientation. Polar sheets were found to adopt a twisted nanotube structure. A and B strands however form novel apolar sheet structures with alternating carbonyl groups, not described in previous publications. These apolar sheets belong to a new conformational group of β -peptides, and their planar structure makes them ideal sheet forming structural elements.

In accordance with previous results, computations on For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ model peptides have shown that heterochirally disubstituted derivatives have the greatest tendency of sheet forming. However, in contrast to previous hypotheses, it has been shown that homochirally disubstituted strands can also form sheet structures, not only in vacuum but also in polar and apolar solvents. Based on these results, an easy-to-use guide is offered for the rational design of hairpin or sheet containing β -peptides.

Függelék

I. A kiralitás hatása [For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂]₂ szálakból felépülő apoláros β -redők térszerkezetére, M052X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva

Ahhoz, hogy a szubsztituátlan aminosavak esetleges zavaró hatását kizárva is tanulmányozhassam a kiralitás térszerkezetre gyakorolt hatását, „single point” energiaszámításokat végeztem a hat lehetséges konfigurációjú For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂ modellpeptidből felépülő apoláros redőre, M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten (**F1.** és **F2.** táblázat). A dimer térszerkezetét a vele azonos konfigurációjú tripeptid dimer középső aminosavegységére kapott térszerkezettel azonosnak tételeztem fel.

E feltételezés jogosságát a legnagyobb stabilitású, SRSS és a legstabilabb homokirális, SSRR konfigurációjú For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂ szálakból felépülő AB redők geometria optimalizálásával igazoltam, amit szintén az M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten végeztem el (**F3.** táblázat). A két optimállással kapott szerkezet energiája közötti különbség megegyezik a „single point” energiaszámításokkal kapottal

A mono- és tripeptid dimerek stabilitáskülönbségeinek hasonlósága alátámasztja, hogy a tripeptid modellek esetén tett megfigyelések valóban a szubsztitúció kiralitásának, és nem a szélső aminosavak esetlegesen eltérő térszerkezetének tulajdonítható.

F1. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők stabilitására: A hat egymástól független konfigurációjú For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂ modellpeptid „single point” energia értékei M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva. A gerinc torziós szögek megegyeznek a For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid középső aminosavegységének torziós szögeivel.

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{\text{rel}} / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	SR	58	159	121	58	159	121	0,00
SR	RS	58	165	123	100	165	72	0,95
SR	SS	58	165	124	83	160	109	2,21
RS	SS	101	179	66	82	153	122	3,22
SS	SS	83	161	115	83	161	115	5,29
SS	RR	74	139	125	73	165	76	5,64

F2. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására: A hat egymástól független konfigurációjú For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂ modellpeptid „single point” energia értékei M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva. A gerinc torziós szögek megegyeznek a For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ modellpeptid középső aminosavegységének torziós szögeivel.

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{\text{rel}} / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	RS	58	164	123	-58	-164	-123	0,00
SR	SR	58	162	132	-98	-162	-81	2,60
SR	RR	58	165	122	-85	-165	-118	2,82
RS	RR	100	173	75	-78	-146	-126	4,73
SS	RR	85	166	117	-85	-166	-117	5,99
SS	SS	58	118	134	-73	-166	-77	6,11

F3. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására: A legstabilabb heterokiralis- (SRRS) és homokiralis (SSRR) konfigurációjú For- $\beta^{2,3}$ -hAla-NH₂ modellpeptidek M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározott térszerkezeteit jellemző gerinc torziós szögek és relatív energia értékek..

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			$\Delta E_{\text{rel}} / \text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	
SR	RS	58	164	123	-58	-164	-123	0,00
SS	SS	58	118	134	-73	-166	-77	5,99

II. A For-(β -Ala)₄-NH₂, és For-(β -Ala)₃-NH₂ modellpeptidek H_{8M} szál- valamint AA, BB, AB, CC, DD és CD redő szerkezeteinek termodinamikai paramétere, M05-2X/6-31G(d) és B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken meghatározva.

A relatív termodinamikai paraméterek meghatározásához felhasznált energia, entalpia, szabadentalpia és entrópia értékeket szobahőmérsékleten (298,15 K), 1 atm nyomású rendszerre határoztuk meg (F4-F7. táblázat). A kapott optimált térszerkezetek egyikét se jellemezte negatív frekvencia, mindegyik valódi minimum a potenciális energia felszínén.

F4. táblázat: A For-(β -Ala)₄-NH₂ H_{8M} szál- és lehetséges redős szerkezeteinek energia-, entalpia-, szabadentalpia- és entrópia értékei M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten számolva

redő típusa ^a	összetétel	Termodinamikai paraméterek				
		<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree	
apolar	H ₈ ^{PM}	monomer	-1159,052288	-1158,630937	-1158,715156	0,084219
	AA	dimer	-2318,136150	-2317,291672	-2317,441412	0,149740
	BB	dimer	-2318,136150	-2317,291675	-2317,441471	0,149796
	AB	dimer	-2318,147616	-2317,303102	-2317,451472	0,148370
polar	CC	dimer	-2318,110960	-2317,267405	-2317,418411	0,151006
	DD	dimer	-2318,111432	-2317,267959	-2317,420544	0,152585
	CD	dimer	-2318,107149	-2317,264384	-2317,415655	0,151272

^a lásd 21. ábra

F5. táblázat: A For-(β -Ala)₄-NH₂ H_{8M} szál- és lehetséges apoláros redő szerkezeteinek energia-, entalpia-, szabadentalpia- és entrópia értékei B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten számolva

redő típusa ^a	összetétel	Termodinamikai paraméterek				
		<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree	
apolar	H ₈ ^{PM}	monomer	-1159,206523	-1158,792268	-1158,875655	0,083383
	AA	dimer	-2318,430974	-2317,60074	-2317,75455	0,153814
	BB	dimer	-2318,430927	-2317,600738	-2317,754569	0,153831
	AB	dimer	2318,4398419	-2317,609466	-2317,7611	0,151634

^a lásd 21. ábra

F6. táblázat: A For-(β -Ala)₃-NH₂ H_{8M} szál- és lehetséges redős szerkezeteinek energia-, entalpia-, szabadentalpia- és entrópia értékei M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten számolva

redő típusa ^a		összetétel	Termodinamikai paraméterek			
			<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
apolar	H ^{PM}	monomer	-911,752827	-911,423935	-911,494196	0,070261
	AA	dimer	-1823,534261	-1822,87446	-1822,99722	0,122757
	BB	dimer	-1823,534243	-1822,874406	-1822,996986	0,122580
	AB	dimer	-1823,543156	-1822,883362	-1823,005982	0,122620

^a lásd 21. ábra

F7. táblázat: A For-(β -Ala)₄-NH₂ H_{8M} szál- és lehetséges apoláros redő szerkezeteinek energia-, entalpia-, szabadentalpia- és entrópia értékei B3LYP/6-31G(d) elméleti szinten számolva

redő típusa ^a		összetétel	Termodinamikai paraméterek			
			<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
apolar	H ^{PM}	monomer	-911,876860	-911,553615	-911,623437	0,069823
	AA	dimer	-1823,769840	-1823,12047	-1823,24633	0,125863
	BB	dimer	-1823,771447	-1823,122777	-1823,248436	0,125659
	AB	dimer	-1823,780192	-1823,131194	-1823,255181	0,123987

^a lásd 21. ábra

III. A [For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂]₂ modellpeptidek apoláros AA ill. AB redő szerkezeteinek termodinamikai paraméterei, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva, vákuum, víz illetve heptán közegben.

A relatív termodinamikai paraméterek meghatározásához felhasznált energia, entalpia, szabadentalpia és entrópia értékeket szobahőmérsékleten (298,15 K), 1 atm nyomású rendszerre határoztuk meg. Az M05-2X/6-31G(d) szinten optimált térszerkezetekre M05-2X/6-311++G(d,p) szinten végeztem „single point” energiaszámítást (**F8-F13. táblázat**). A magasabb bázison meghatározott entalpia, entrópia és szabadentalpia értékek meghatározásához az M05-2X/6-31G(d) elvégzett frekvenciaszámolás eredményeit vettem alapul (az entrópiát változatlanak tekintve).

F8. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paraméterei vákuumban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1981,385062	-1980,605368	-1980,740930	0,135562
SR	RS	-1981,384347	-1980,604814	-1980,739968	0,135154
SR	SS	-1981,382485	-1980,602400	-1980,737584	0,135184
RS	SS	-1981,381217	-1980,601144	-1980,735703	0,134559
SS	SS	-1981,379181	-1980,599069	-1980,732684	0,133615
SS	RR	-1981,375970	-1980,595644	-1980,729962	0,134318

F9. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paraméterei vákuumban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	RS	-1981,397979	-1980,617718	-1980,74093	0,132274
SR	SR	-1981,392781	-1980,612784	-1980,739968	0,134741
SR	RR	-1981,391642	-1980,611536	-1980,737584	0,133639
RS	RR	-1981,388428	-1980,608343	-1980,735703	0,133525
SS	RR	-1981,385254	-1980,60473	-1980,732684	0,13275
SS	SS	-1981,384112	-1980,603995	-1980,729962	0,131469

F10. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paramétereit vízben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1981,41099	-1980,631298	-1980,76686	0,135562
SR	RS	-1981,41053	-1980,631	-1980,76615	0,135154
SR	SS	-1981,40341	-1980,62333	-1980,75851	0,135184
RS	SS	-1981,40082	-1980,62075	-1980,75531	0,134559
SS	SS	-1981,39741	-1980,6173	-1980,75091	0,133615
SS	RR	-1981,40061	-1980,62029	-1980,7546	0,134318

F11. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paramétereit vízben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	RS	-1981,42042	-1980,64016	-1980,77244	0,132274
SR	SR	-1981,41646	-1980,63647	-1980,77121	0,134741
SR	RR	-1981,41142	-1980,63131	-1980,76495	0,133639
RS	RR	-1981,40764	-1980,62756	-1980,76108	0,133525
SS	RR	-1981,40943	-1980,62891	-1980,76166	0,13275
SS	SS	-1981,40237	-1980,62225	-1980,75372	0,131469

F12. táblázat: A pontkiralitás hatása az AA redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paramétereit heptánban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1981,391012	-1980,611318	-1980,74688	0,135562
SR	RS	-1981,390148	-1980,610615	-1980,745769	0,135154
SR	SS	-1981,386165	-1980,60608	-1980,741264	0,135184
RS	SS	-1981,384351	-1980,604278	-1980,738837	0,134559
SS	SS	-1981,380871	-1980,600759	-1980,734374	0,133615
SS	RR	-1981,381851	-1980,601525	-1980,735843	0,134318

F13. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők stabilitására. A hat egymástól független konfigurációjú For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ termodinamikai paraméterei heptánban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	RS	-1981,401774	-1980,621513	-1980,753787	0,132274
SR	SR	-1981,397122	-1980,617125	-1980,751866	0,134741
SR	RR	-1981,394273	-1980,614167	-1980,747806	0,133639
RS	RR	-1981,390909	-1980,610824	-1980,744349	0,133525
SS	RR	-1981,390605	-1980,610081	-1980,742831	0,13275
SS	SS	-1981,386039	-1980,605922	-1980,737391	0,131469

IV. A [For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂]₂ modellpeptidek termodinamikai paramétereinek változása apoláros AA ill. AB redők H_{8M} szálakból történő kialakulása során, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva, vákuum, víz illetve heptán közegben.

A most következő táblázatokban az AA és AB redők kialakulásában részt vevő H_{8M} monomerek energia, entalpia, entrópia és szabadentalpia értékeit mutatom be (F14-F16. táblázat). Az adott kiralitású redő képződését kísérő változások meghatározásához, ugyanis a vele egyező kiralitású monomereket jellemző termodinamikai paraméterek összegére van szükségünk. A H_{8p} és H_{8M} hélixek egymás szerkezeti enantiomerjei, ezért elegendő a H_{8p} szerkezetekre jellemző értékek meghatározása, ugyanis egy adott konfigurációjú H_{8p} hélix energiája megegyezik az ellentétes konfigurációjú H_{8M} hélixével..

F14. táblázat: A For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ két, adott kiralitású H_{8PM} térszerkezetét jellemző termodinamikai paraméterek összege vákuumban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralitása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1981,357993	-1981,389112	-1981,37051	-0,01860
SR	RS	-1981,359366	-1981,390909	-1981,3719	-0,01901
SR	SS	-1981,35568	-1981,389295	-1981,369594	-0,01970
RS	SS	-1981,357053	-1981,391092	-1981,370984	-0,02011
SS	SS	-1981,353367	-1981,389478	-1981,368678	-0,02080
SS	RR	-1981,358544	-1981,390781	-1981,371283	-0,01950

F15. táblázat: A For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ két, adott kiralítású H8_{PM} térszerkezetét jellemző termodinamikai paraméterek összege vízben, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralítása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1980,579257	-1980,610377	-1980,591775	-0,01860
SR	RS	-1980,580894	-1980,612437	-1980,593428	-0,01901
SR	SS	-1980,577136	-1980,610751	-1980,591050	-0,01970
RS	SS	-1980,578773	-1980,612812	-1980,592704	-0,02011
SS	SS	-1980,575015	-1980,611126	-1980,590326	-0,02080
SS	RR	-1980,581438	-1980,613675	-1980,594177	-0,01950

F16. táblázat: A For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ két, adott kiralítású H8_{PM} térszerkezetét jellemző termodinamikai paraméterek összege heptánban, M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten meghatározva.

Diszubsztitúció kiralítása		Termodinamikai paraméterek			
a-szál	b-szál	<i>E</i> / hartree	<i>H</i> / hartree	<i>G</i> / hartree	<i>TS</i> / hartree
SR	SR	-1980,729171	-1980,760291	-1980,741689	-0,01860
SR	RS	-1980,731282	-1980,762825	-1980,743816	-0,01901
SR	SS	-1980,726863	-1980,760478	-1980,740777	-0,01970
RS	SS	-1980,728974	-1980,763013	-1980,742905	-0,02011
SS	SS	-1980,724555	-1980,760666	-1980,739866	-0,02080
SS	RR	-1980,729501	-1980,761738	-1980,742240	-0,01950

Mint már említettem, az entalpia és szabadentalpia értékek kiszámolásakor azt feltételeztem, hogy az M05-2X/6-311++G(d,p) és M05-2X//6-31G(d) szinten meghatározott térszerkezetek entrópiája azonos (azaz csak elhanyagolható mértékben változik).

A közelítés jóságának ellenőrzésére, két kiválasztott szerkezet esetén elvégeztem a teljes geometriaoptimalást és frekvenciaszámolást is M05-2X/6-311++G(d,p) elméleti szinten, vizes közegben, az IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával. Ahogy az **F17. táblázatban** is látható, a kétféle módon kapott stabilitáskülönbség eltérése a kémiai pontosság nagyságrendjébe esik ($\sim 1,5 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$). A „single point” energia számolások tehát alkalmasak az általunk vizsgált rendszerek leírására, a nagy erőforrás-igényű M05-2X/6-311++G(d,p) szinten végzett számítások alkalmazása nem indokolt.

F17. táblázat: A pontkiralitás hatása az AB redők térszerkezetére és stabilitására. A legstabilabb egymástól heterokirális konfigurációjú (SRRS) és a legstabilabb homokirális konfigurációjú (SSRR) For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ szárlakból felépülő AB redő gerinc torziós szögei és termodinamikai paraméterei vízben, M05-2X/6-311++G(d,p) elméleti szinten meghatározva. Zárójelekben az M05-2X/6-311++G(d,p)//M05-2X/6-31G(d) elméleti szinten számolt értékeket is feltüntettem.

Diszubsztitúció kiralitása		torziós szögek „a-szál”			torziós szögek „b-szál”			termodinamikai paraméterek (kcal·mol ⁻¹)			
a-szál	b-szál	φ	μ	ψ	φ	μ	ψ	ΔE_{rel}	ΔH_{rel}	ΔG_{rel}	$T\Delta S_{\text{rel}}$
SR	RS	59	165	122	-59	-165	-122	0,00	0,00	0,00	0,00
		(58)	(161)	(114)	(-58)	(-161)	(-114)	(0,00)	(0,00)	(0,00)	(0,00)
SS	RR	88	169	114	88	169	114	6,96	8,06	8,27	-0,21
		(83)	(159)	(112)	(-83)	(-160)	(-112)	(6,90)	(7,06)	(6,77)	(0,30)