

**IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie zur Analyse von
β-Faltblattstrukturmotiven an isolierten
Peptid-Clustern**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Andreas Gerlach
aus Düsseldorf

Düsseldorf 2004

Diese Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 2001 bis April 2004 im Institut für Physikalische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf angefertigt

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Privatdozent Dr. Markus Gerhards für die freundliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Vergabe des Themas und die hervorragende Betreuung

Herrn Professor Dr. Karl. Kleinermanns für die freundliche Aufnahme in seinem Institut

Meinen Kollegen Dr. Claus Unterberg, Dr. Andreas Jansen und Holger Fricke bei den Messungen, Rechnungen und dem freundschaftlichen Arbeitsklima

Allen Mitarbeitern des Institutes für die freundliche Arbeitsatmosphäre

Klaus Kelbert für die Hilfsbereitschaft und das Engagement bei der Lösung von elektronischen Problemen

Der Zentralwerkstatt Chemie für die stets prompte und qualifizierte Bearbeitung und Anfertigung der vielen benötigten Spezialanfertigungen

Meinen Eltern, meiner Schwester und meinem Schwager, die mich stets in meiner Entscheidung für dieses Studium unterstützt und bestärkt haben

Und besonders meiner Freundin Alex, die mir immer hilfreich und verständnisvoll zur Seite stand.

**Ich widme diese Arbeit meinen Eltern Ellen und Adolf Gerlach,
für Ihre Liebe und Hilfsbereitschaft**

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 2001 bis April 2004 am Institut für Physikalische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von Privatdozent Dr. Markus Gerhards angefertigt.

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent : Privatdozent Dr. Markus Gerhards

Koreferent: Professor Dr. Karl Kleinermanns

Tag der mündlichen Prüfung: 07.07.2004

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	7
Abbildungsverzeichnis	11
1 Einleitung	15
2 Theoretische Betrachtungen	19
2.1 Wasserstoffbrückenbindung.....	19
2.2 Biologisch relevante Moleküle und ihre Wasserstoffbrücken.....	21
2.3 DNA.....	21
2.4 Peptide.....	23
2.4.a Aufbau von Peptiden.....	24
2.4.b Der Ramachandranplot.....	28
2.4.c Die Seitenkette	33
2.4.d Motive	34
2.5 Vorbereitung auf die experimentellen Untersuchungen.....	36
3 Apparatur und Laser	39
3.1 Molekularstrahlapparatur	39
3.2 Laser.....	44
3.2.a UV-Laser	44
3.2.b IR-Laser.....	45
4 Spektroskopische Methoden.....	49
4.1 Spektroskopische Methoden im Neutralteilchen	50
4.1.a R2PI : (Resonant 2 Photon Ionisation).....	50
4.1.b Zweifarben-R2PI.....	51
4.1.c IR/R2PI-Spektroskopie (S_0)	52
4.2 MATI-Spektroskopie zur Analyse von Kationen	55
Einleitung Aminosäuren und Peptide	61
5 AcPheOMe	65
5.1 Stand der Forschung	65
5.2 R2PI-Spektrum des AcPheOMe.....	66
5.3 IR/R2PI-Spektren.....	68
5.3.a S_0 -Spektren im N-H-Bereich.....	68
5.3.b S_0 -Spektren im C=O-Bereich.....	69

5.4	Diskussion der Ergebnisse	71
5.5	AcPheOMe Dimer	77
5.6	R2PI-Spektrum des (AcPheOMe) ₂	77
5.7	IR/R2PI-Spektren	78
5.7.a	IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich.....	78
5.7.b	S ₀ -Spektren im C=O-Bereich	79
5.8	Diskussion der Ergebnisse	80
5.9	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	85
6	AcPheNHMe	87
6.1	Theoretische Überlegungen.....	87
6.2	R2PI-Spektrum des AcPheNHMe	88
6.3	Krauffeld- und ab initio Berechnungen.....	90
6.4	IR-Spektren des AcPheNHMe (S ₀).....	93
6.4.a	S ₀ -Spektren Isomer I.....	93
6.4.b	S ₀ -Spektren Isomer II	94
6.4.c	S ₀ -Spektren Isomer III	96
6.4.d	S ₀ -Spektren Isomer IV	97
6.5	AcPheNHMe Dimer.....	99
6.6	R2PI-Spektrum des (AcPheNHMe) ₂	102
6.7	IR/R2PI-Spektren des (AcPheNHMe) ₂ (S ₀)	102
7	AcTrpOMe	107
7.1	Theoretische Betrachtungen	107
7.2	R2PI-Spektrum des AcTrpOMe	108
7.3	IR/R2PI Spektren	110
7.3.a	IR/R2PI-Spektrum von AcTrpOMe im N-H-Bereich.....	110
7.3.b	IR/R2PI-Spektrum von AcTrpOMe im C=O-Bereich.....	111
7.4	AcTrpOMe Dimer	114
7.5	IR/R2PI-Spektrum des (AcTrpOMe) ₂ im N-H-Bereich.....	114
7.6	IR/R2PI-Spektrum des (AcTrpOMe) ₂ im C=O-Bereich	116
8	AcValPheOMe	121
8.1	Theoretische Betrachtungen	121
8.2	R2PI-Spektrum des AcValPheOMe	122
8.3	IR/R2PI-Spektren des AcValPheOMe	124

9	AcValTyr(Me)NHMe	129
9.1	Theoretische Betrachtungen.....	129
9.2	IR/R2PI-Spektren.....	129
10	AcPheOMe-Templat-Cluster	135
10.1	Theoretische Betrachtungen.....	135
10.2	AcPheOMe-Pyrazol-Cluster.....	136
10.3	R2PI-Spektrum des AcPheOMe-Pyrazol-Cluster.....	137
10.4	IR/R2PI-Spektrum N-H-Bereich.....	138
10.5	AcPheOMe-MAP-Cluster.....	140
10.6	R2PI des AcPheOMe-MAP-Cluster	141
10.7	IR/R2PI-Spektrum N-H-Bereich.....	143
11	AcValPheOMe MAP Cluster	147
11.1	Theoretische Betrachtungen.....	147
11.2	R2PI-Spektrum des AcValPheOMe MAP Clusters	147
11.3	IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich.....	148
11.4	Diskussion der Ergebnisse.....	149
12	AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster	153
12.1	Theoretische Betrachtungen.....	153
12.2	IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich.....	154
12.3	Diskussion der Ergebnisse.....	155
13	AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Cluster	159
13.1	Theoretische Betrachtungen.....	159
13.2	IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich.....	160
13.3	Diskussion der Ergebnisse.....	161
14	Aminophenol.....	165
14.1	Theoretische Betrachtungen.....	165
14.2	R2PI-Spektrum des 3-Aminophenol.....	167
14.2.a	MATI-Spektrum 3-Aminophenol Isomer A	169
14.2.b	MATI-Spektrum 3-Aminophenol Isomer B	170
14.3	4-Aminophenol.....	173
14.3.a	MATI Spektrum 4-Aminophenol	174
14.4	Vergleich der berechneten mit experimentell bestimmten IPs	176
15	Zusammenfassung der Ergebnisse	179

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	a) intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung der Salizylsäure und b) intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen des SS-Dimers	19
Abb. 2	a) Dreidimensionales Netz von Wasserstoffbrückenbindungen im flüssigen Wasser und b) klassische O-H...O- und N-H...O-Wasserstoffbrückenbindung im 4-Aminophenol Wassercluster.	21
Abb. 3	Die DNA Doppelhelix	22
Abb. 4	a) Allgemeiner Aufbau einer α -Aminocarbonsäure b) L- und c) D-Konfiguration einer α -Aminocarbonsäure	24
Abb. 5	a) Phenylalanin, b) Tyrosin und c) Tryptophan	25
Abb. 6	Kondensation zweier Aminosäuren a) Alanin und Valin unter Abspaltung von Wasser zum b) Peptid AlaVal unter Ausbildung einer Amidbindung CO-NHR.	26
Abb. 7	Notation der Winkel nach Ramachandran im Peptidrückgrat	29
Abb. 8	Definition für die Winkel a) ϕ, ψ, ω und für b+c) χ	30
Abb. 9	Ramachandranplot in der Auftragung der Standardeinheit	31
Abb. 10	cis-trans-Amidbindung anhand des Beispiels des N-Methylacetamid	32
Abb. 11	a) trans-Amidbindung und b) cis-Amidbindung beim Prolin	32
Abb. 12	Drei unterschiedliche Winkeleinstellungen der Seitenkette in Bezug auf das Peptidrückgrat der geschützten Aminosäure AcPheOMe a) -180° („anti“; -180°), b) g- („gauche minus“; -60°) und c) g+ („gauche plus“; $+60^\circ$)	33
Abb. 13	Rechtsgängige α -Helix, a) Seitenansicht und b) Aufsicht	34
Abb. 14	antiparallele β -Faltblattanordnung im Seidenprotein	36
Abb. 15	Apparativer Aufbau	41
Abb. 16	a) Verstellmöglichkeiten des Puldüsentisches, b) Geschwindigkeitsverteilung der Moleküle im Molekularstrahl nach Expansion ins Vakuum entlang der Z-Achse	42
Abb. 17	DMF1-, OPA- und DFM2-Einheit	46
Abb. 18	a) R2PI-Spektroskopie und b) IR/R2PISpektroskopie	54

Abb. 19	(A)Diabatische Absenkung des IPs durch die Trennungsspannung bei der MATI-Spektroskopie	57
Abb. 20	MATI-Spektroskopie	59
Abb. 21	R2PI-Spektrum des AcPheOMe	67
Abb. 22	IR/R2PI-Spektrum von 2800-3500 cm ⁻¹ im N-H-Bereich	69
Abb. 23	IR/R2PI-Spektrum im C=O-Bereich	70
Abb. 24	Struktur der beiden Isomere des AcPheOMe	73
Abb. 25	R2PI-Spektrum des (AcPheOMe) ₂	77
Abb. 26	IR/R2PI-Spektrum (AcPheOMe) ₂ im N-H-Bereich	78
Abb. 27	IR/R2PI-Spektrum (AcPheOMe) ₂ im C=O-Bereich	79
Abb. 28	Struktur des stabilsten doppelt H-Brücken gebundene AcPheOMe-Dimers in $[(\beta_L(g+)-\beta_L(g+))$ Anordnung	81
Abb. 29	a) gestreckte und b) intramolekular wasserstoffverbrückte γ_L -Struktur des AcPheNHMe	88
Abb. 30	R2PI-Spektrum des AcPheNHMe v	89
Abb. 31	IR-Spektren AcPheNHMe Isomer I	94
Abb. 32	IR-Spektren AcPheNHMe Isomer II	96
Abb. 33	IR-Spektren AcPheNHMe Isomer III	97
Abb. 34	IR-Spektren AcPheNHMe Isomer IV	98
Abb. 35	(AcPheNHMe) ₂ a) innengebundenen Dimer, b) aussengebundenen Dimer und c) gemischtes Dimer mit intramolekularer WBB, sie stellen Modellsysteme für c) parallele und a,b) antiparallele β -Faltblattmotive dar.	100
Abb. 36	R2PI-Spektrum des (AcPheNHMe) ₂	102
Abb. 37	IR/R2PI-Spektrum des (AcPheNHMe) ₂ im N-H-Bereich	103
Abb. 38	IR/R2PI-Spektrum des (AcPheNHMe) ₂ im C=O-Bereich	104
Abb. 39	R2PI-Spektrum des AcTrpOMe	109
Abb. 40	Die stabilsten β_L Strukturen des AcTrpOMe	110
Abb. 41	IR/R2PI-Spektrum des AcTrpOMe im N-H-Bereich	111
Abb. 42	IR/R2PI-Spektrum des AcTrpOMe im C=O-Bereich	112
Abb. 44	IR/R2PI-Spektrum des (AcTrpOMe) ₂ im N-H-Bereich	115
Abb. 45	Verschiedene Strukturen des (AcTrpOMe) ₂	116
Abb. 46	IR/R2PI-Spektrum des (AcTrpOMe) ₂ im C=O-Bereich	117

Abb. 47	Struktur des Dipeptid AcValPheOMe, dargestellt in einer gestreckten $\beta^V(g^-)\text{-}\beta^P(g^+)$ Anordnung.	122
Abb. 48	R2PI-Spektrum des AcValPheOMe	123
Abb. 49	IR/R2PI-Spektrum des AcValPheOMe im N-H-Bereich	125
Abb. 50	IR/R2PI-Spektrum im C=O-Bereich	126
Abb. 51	AcValTyr(Me)NHMe mit Torsionswinkel der Peptideinheiten	129
Abb. 52	IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich	130
Abb. 53	IR/R2PI-Spektrum in C=O-Bereich	131
Abb. 54	Struktur AcValTyr(Me)NHMe in der stabilsten $\beta^V(g^-)\beta^T(a)^+$ Struktur	134
Abb. 55	Strukturen a) des Pyrazols und zwei tautomere MAP-Strukturen b) MAP1 und c) MAP2	136
Abb. 56	AcPheOMe-Pyrazol-Cluster in β_L -Anordnung	137
Abb. 57	R2PI-Spektrum des AcPheOMe-Pyrazol-Cluster	138
Abb. 58	IR/R2PI-Spektrum AcPheOMe-Pyrazol-Cluster im N-H-Bereich	139
Abb. 59	Strukturen der verschiedenen mögliche AcPheOMe-MAP Cluster	141
Abb. 60	R2PI-Spektrum des AcPheOMe-MAP-Clusters	142
Abb. 61	IR/R2PI-Spektren im N-H-Bereich der AcPheOMe-MAP-Cluster a) Isomer I und b) Isomer II von $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$	144
Abb. 62	R2PI-Spektrum des AcValPheOMe-MAP-Clusters	148
Abb. 63	IR/R2PI-Spektrum im N-H Bereich	149
Abb. 64	Struktur des AcValPheOMe-MAP-Clusters in $V_{\beta(a)}P_{\beta(a)}$ Anordnung	151
Abb. 65	a) Struktur des AcValTyr(Me)NHMe und b+c) unterschiedliche Anordnung des MAP im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster	153
Abb. 66	IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich	154
Abb. 67	Konformation im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster, zwei intramolekulare WBB zum MAP und eine intramolekulare WBB im Tyrosinteil, der eine γ_L -Konformation einnimmt	156
Abb. 68	Struktur von Trifluoracet-methylaminopyrazol (TFMAP)	160
Abb. 69	IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich	161
Abb. 70	Struktur des AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Clusters	163
Abb. 71	a) 3-Aminophenol Isomer A, b) Isomer B und c) 4-Aminophenol	166
Abb. 72	R2PI-Spektrum des 3-Aminophenol	168
Abb. 73	MATI-Spektrum des 3-Aminophenols, Isomer A	170

Abb. 74	MATI-Spektrum des 3-Aminophenols, Isomer B ¹	171
Abb. 75	R2PI-Spektrum des 4-Aminophenol	173
Abb. 76	MATI-Spektrum 4-Aminophenol	175

1 Einleitung

Im Rahmen meiner Doktorarbeit habe ich mich mit der Untersuchung von Wasserstoffbrückenbindungen (WBB) biologisch relevanter Systeme in der Gasphase beschäftigt.

Aktuelle Bedeutung erlangte die Betrachtung von WBB in β -Faltblättern und α -Helices durch Untersuchungen von Krankheiten wie Creutzfeldt-Jakob und BSE. Sie gehören zur Gruppe der Prionenkrankheiten. Bei diesen und ähnlichen Krankheiten lagern sich, verursacht durch krankhafte Veränderungen im Protein und katalysiert durch bereits gebildete β -Faltblätter, α -Helices in Proteinen in eben genannte β -Faltblätter um^{1,2}. β -Faltblätter und α -Helices stellen Sekundärstrukturen von Peptidsträngen dar. Die Entstehung und Stabilisierung von diesen Strukturen erfolgt dabei durch die Ausbildung von unterschiedlichen Wasserstoffbrückenbindungen.

Das Verständnis der Ursachen dieser Umlagerung ist dabei ein möglicher Ansatz zur Entwicklung von Medikamenten und somit auch zur medikamentösen Bekämpfung der Folgen einer solchen Erkrankung oder sogar der Krankheit selbst.

Um ein besseres Verständnis für die Triebkräfte bei der Ausbildung von β -Faltblattstrukturen zu erlangen, ist es nötig diese Strukturen auf molekularer Ebene ohne Wechselwirkung mit der Umgebung zu untersuchen.

Gasphasenexperimente an Peptiden und an Peptidaggregaten bieten die nötigen Voraussetzungen für solche Studien.

Für die Betrachtung benötigt man zuerst einmal geeignete Modellsysteme, welche entsprechende Zustände im β -Faltblatt bestmöglich beschreiben. Ein solches System stellen die Komplexe (Cluster) von Peptiden dar. Bis zum Beginn dieser

Arbeit wurden noch keine Sekundärstrukturen von Aminosäuren und Peptiden in der Gasphase untersucht. Gasphasenuntersuchungen bieten den Zugang zu massen-, isomeren- und zustandsselektiven, experimentellen Daten. Eine Analyse mittels IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie von Peptiden, die auch Erkenntnisse über die sekundäre Struktur der untersuchten System zulässt, wurde erst im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt. Zu Beginn wurden die Strukturen einfacher Systeme untersucht, die das Ziel der Analyse von β -Faltblattmodellen anstrebten. Angefangen bei geschützten Aminosäuren, die durch geeignete Wahl der Schutzgruppen als Modelle für Peptide und Dipeptide stehen, wurde die Struktur eingehend mittels IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie untersucht.

Unter Zuhilfenahme von hochwertigen Rechnungen sind wir in der Lage, die erhaltenen Daten eindeutigen Strukturen zuzuordnen und die gewonnenen Erkenntnisse auf andere, größere Systeme zu übertragen. Zu diesen Systemen gehören auch die Dimere der untersuchten geschützten Aminosäuren. Durch die Ausbildung von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen können diese Modelle für β -Faltblätter bilden.

Diese Untersuchungen wurden in Kooperation mit Arbeitsgruppe von T. Schrader (Organischen Chemie, Uni Marburg) durchgeführt. Diese beschäftigt sich auch mit der Darstellung und Untersuchung von Templatmolekülen auf der Basis von Aminopyrazolen. Template zeigten in verschiedenen experimentellen Studien eine Inhibition der katalytischen Wirkung von β -Faltblattstrukturen.

Es entstand die Idee, geeignete Template zu finden, die mit den hier untersuchten Systemen einen stabilen Komplex bilden. Auch in diesen Systemen ist dann die sekundäre Struktur des Peptids zu bestimmen. Weiterhin sind die Anzahl und die relativen Stärken der H-Brücken zu identifizieren, auch die Selektivität der Ausbildung ist von großem Interesse. Wie zuvor soll auch hier wieder bei kleinen Systemen begonnen werden und die gewonnenen Erkenntnisse bei der

Interpretation nachfolgend untersuchter, komplexerer Systeme einbezogen werden. Aus den hieraus erhaltenen Ergebnissen sollen dann molekulare Modelle entwickelt werden, welche die Wirkungsweise dieser und anderer Template beschreiben können. Durch gezielte Anpassung der verwendeten Templatmoleküle sollen in einem weiteren Schritt die Anzahl und die Bindungsstärken der H-Brücken im Peptid-Templat-Komplex beeinflusst werden.

.

2 Theoretische Betrachtungen

2.1 Wasserstoffbrückenbindung

Wasserstoffbrückenbindungen sind in der Natur allgegenwärtig. Sie beeinflussen entscheidend das Verhalten, Reaktivität und Stabilität der involvierten Substanzen und bestimmen oft biologische und chemische Prozesse. Die so genannte Wasserstoffbrückenbindung ist das Resultat der elektrostatischen Anziehung zwischen einem kovalent gebundenen Wasserstoff und dem freien Elektronenpaar eines stark elektronegativen Atoms³. Der Wasserstoff befindet sich dabei in einer protonendonierenden Gruppe (O-H, N-H, azides C-H Atom).

Als Akzeptorgruppen mit hoher Elektronegativität für starke Wasserstoffbrücken kommen nur F, O und N in Betracht. Schwache Brücken können sich auch noch zu den Atomen Cl, S, C und P ausbilden. Die klassische O-H...O-Wasserstoffbrückenbindung bildet sich stets zwischen dem Wasserstoff einer Hydroxylgruppe auf der einen und einem freien Elektronenpaar eines (häufig doppelt) gebundenen Sauerstoffatoms auf der anderen Seite aus. Grundsätzlich können sich WBB entweder intramolekular (innerhalb eines Moleküls) oder intermolekular (zwischen zwei verschiedenen Molekülen) ausbilden (Abb. 1)

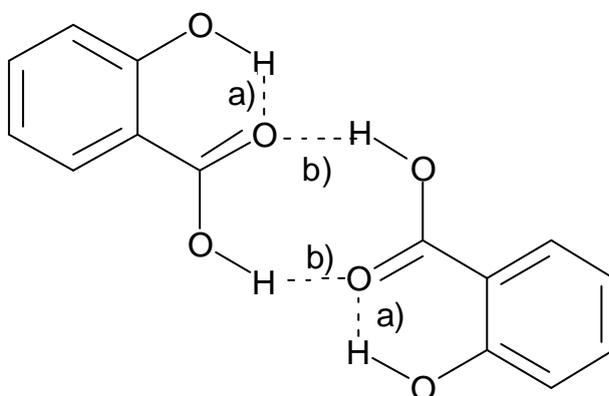


Abb. 1 a) intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung der Salizylsäure und b) intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen des SS-Dimers

Die meisten Wasserstoffbrücken sind asymmetrisch; sind jedoch beide an der Brücke beteiligten Bindungen gleich lang, so ist dies ein Indiz für eine besonders starke WBB (F-H...F, O-H...O).

Das bekannteste und elementarste Beispiel einer Wasserstoffbrückenbindung, stellt das Wasser selbst dar. Wie entscheidend dabei die Stärke der Wasserstoffbrückenbindung ist, lässt sich anhand der Folgen abschätzen, wenn Wasser, die Basis allen Lebens auf der Erde, wie H₂S, ein chemisch recht ähnliches Molekül, gasförmig wäre. Das H₂O im starken Kontrast zum H₂S bei Raumtemperatur und Normaldruck flüssig ist, liegt einzig und allein an den stark ausgebildeten Wasserstoffbrücken (Elektronegativität O>>S). Diese bilden sich jeweils zwischen den beiden Wasserstoffatomen eines Wassermoleküls und den Sauerstoffatomen zweier anderen Wassermoleküle aus, wobei der Sauerstoff des ersten Moleküls noch eine weitere Brücke zu dem Wasserstoff eines vierten Wassermoleküls aufbauen kann. Durch diese Bindungen bildet sich ein dreidimensionales Netz von verbrückten Wassermolekülen aus (siehe Abb. 2a). Typische Werte für eine klassische Wasserstoffbrücke (am Beispiel des Wassers) sind eine Länge von 3-4 Å und einem X-H...X Winkel von 180°. Die Bindungsenergie einer solchen WBB liegt in der Größenordnung von 40 kJ/mol³.

Ein Beispiel für eine andere WBB wird z.B. im 3- und 4-Aminophenol Wasser-Cluster beobachtet. Dort bildet sich die Bindung zwischen einem Wasserstoffatom der NH₂ Gruppe des Aminophenols als Protonendonator und dem freien Elektronenpaar des H₂O-Sauerstoffes als Akzeptor aus (Abb. 2b).

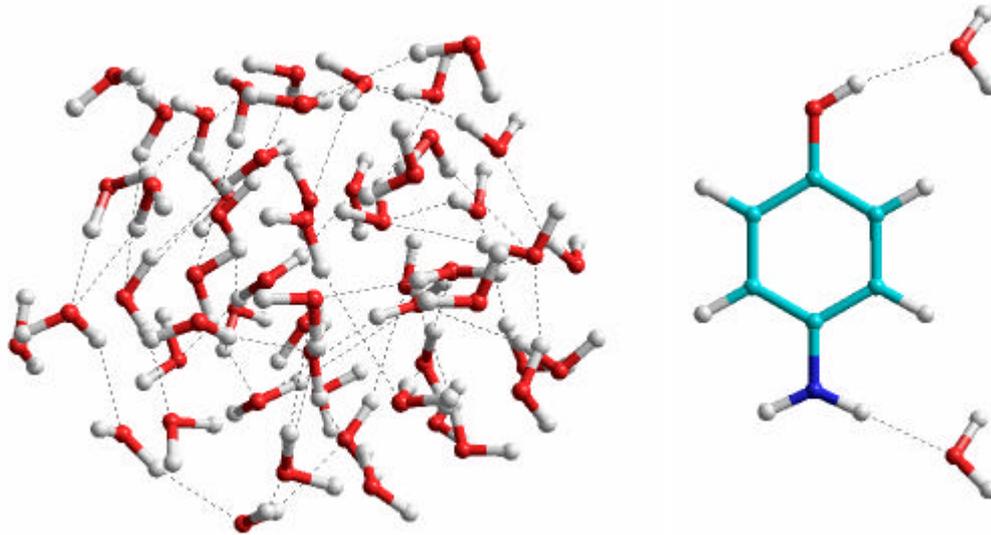


Abb. 2 a) Dreidimensionales Netz von Wasserstoffbrückenbindungen im flüssigen Wasser und b) klassische O-H...O- und N-H...O- Wasserstoffbrückenbindung im 4-Aminophenol Wassercluster.

2.2 Biologisch relevante Moleküle und ihre Wasserstoffbrücken

Auch in biologisch relevanten Systemen beeinflussen Wasserstoffbrückenbindungen das Verhalten der beteiligten Substanzen entscheidend. Ein weiteres prominentes Beispiel für die Ausbildung von Wasserstoffbrücken ist die DNA.

2.3 DNA

Die DNA ist Erbgutträger eines jeden Lebewesens. Sie besteht aus zwei umeinander verdrillten, helikalen Strängen. Die Stränge selbst bestehen dabei aus einem Zucker-Phosphat Rückgrat und Purin-Pyrimidinbasen als Träger der Erbinformation (siehe Abb. 3). Die Struktur jeder der beiden Stränge wird dabei

wieder durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen, ausgebildet über die integrierten Basenpaare (Adinin-Thymin und Guanin-Cytosin), stabilisiert.

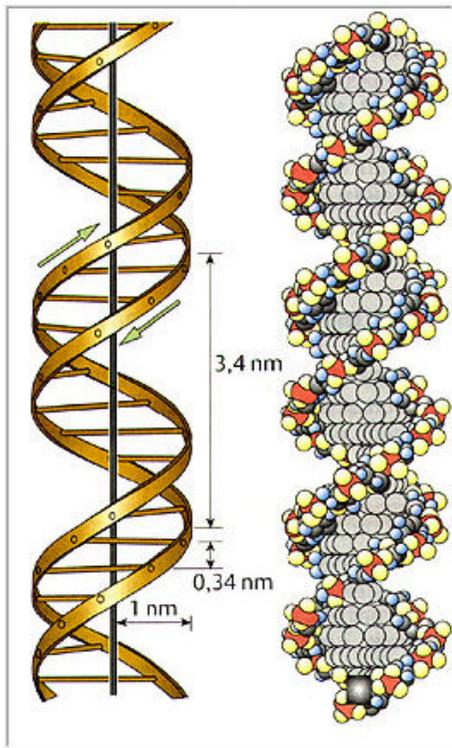


Abb. 3 Die DNA Doppelhelix, Träger der Erbinformationen, wird stabilisiert von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basenpaaren

2.4 Peptide

Auch die Struktur von Peptiden und Proteinen wird durch WBB stabilisiert. Proteine steuern den Ablauf unterschiedlichster Prozesse und Funktionen auch im menschlichen Organismus. Zwischen dem Begriff des Peptides und des Proteins gibt es keine genaue Abgrenzung. Im allgemeinen werden Peptide mit einer Masse > 10000 amu (atomare Masseneinheiten) als Proteine bezeichnet. Die Faltung eines Peptides spielt eine entscheidende Rolle für ihre Reaktivität. Besonders deutlich ist dies z.B. bei Enzymen. Fast alle bekannten Enzyme bestehen aus Proteinen. Ihre Reaktivität, katalytische Wirkung und auch ihre Selektivität erzielen sie durch die Ausnutzung aller zur Verfügung stehenden intermolekularen Kräfte. Dank ihrer Ausnutzung sind sie in der Lage sich ihrer Funktion und den an den Reaktionen beteiligten Molekülen optimal anzupassen. Diese Anpassung erfolgt auch in sehr großem Maße durch ihre Form⁴.

Die Faltung von Proteinen, Enzymen und Peptiden erfolgt dabei nicht zufällig, sondern durch fortschreitende Stabilisierung von Zwischenprodukten. Schon 1985 galt es als gesichert, dass die native Form eines Proteins der thermodynamisch günstigsten Konformation eines Minimums der Energie darstellt⁵⁻⁹. Grundsätzlich wird dabei ein kinetisch gesteuerter, mehrstufiger Faltungsweg durchschritten¹⁰⁻¹⁶. Ein natives Protein kondensiert sehr schnell zum *molten globule* (geschmolzene Kugel)¹⁷, bei der schon die meisten Sekundärstrukturen ausgebildet sind, nicht jedoch die Tertiärstrukturen. Bei dieser Faltung spielt die Bildung von so genannten Motiven eine wichtige Rolle. Ohne deren Ausbildung würden selbst kürzere Proteine zur Erreichung des energetischen Minimums eine beträchtliche Zeit brauchen. Ein Peptid aus lediglich 100 Aminosäuren besitzt bereits 10^{70} unterschiedliche Konformere¹⁸, bei einer statistischen Suche der energetisch stabilsten Konformation, bei der die Umwandlung der einen in eine andere Konformation nur 10^{-11} s dauert, dauerte die Suche des thermodynamisch günstigsten Zustandes bereits 10^{52} Jahre¹⁹.

2.4.a Aufbau von Peptiden

Um den Begriff der Motive zu verstehen, muss man sich zuerst über den strukturellen Aufbau von Peptiden und ihren Untereinheiten, den Aminosäuren, klar werden.

Die vollständige Bezeichnung einer Aminosäure lautet α -Aminocarbonsäure. Durch diese Bezeichnung wird verdeutlicht, dass sowohl die Aminogruppe als auch die Carbonsäuregruppe am selben C-Atom gebunden sind, dem so genannten α -C-Atom. Der allgemeine Aufbau einer Aminosäure ist in Abb. 4a wiedergegeben:

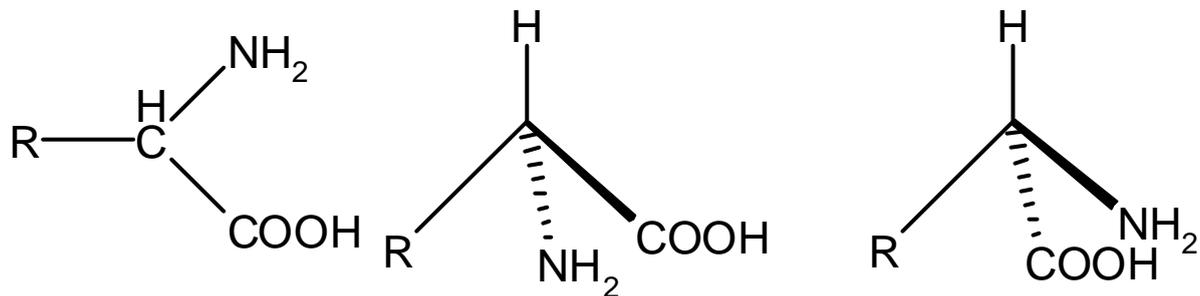


Abb. 4 a) Allgemeiner Aufbau einer α -Aminocarbonsäure
b) L- und c) D- Konfiguration einer α -Aminocarbonsäure

Dabei charakterisiert der R-Rest die entsprechende Aminosäure (Glycin, kleinste Aminosäure, R=H). Im menschlichen Organismus kommen 20(21) unterschiedliche Aminosäuren vor. In der RNA kommt zusätzlich zu den 20 der DNA noch die selenhaltige Aminosäure Selenocystein vor²⁰. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Aminosäuren und Peptide untersucht, die einen aromatischen Chromophor besitzen. Dies ist nötig um einen guten, spektroskopischen Zugang

zu gewährleisten. Die elektronische Anregung der Moleküle findet im aromatischen System statt ($\pi \rightarrow \pi^*$, möglich auch $n \rightarrow \pi^*$, jedoch meist höher energetisch), sie liegt mit 250-300 nm ($33000-40000 \text{ cm}^{-1}$) in einem leicht realisierbaren Bereich.

Im menschlichen Organismus kommen drei aromatische Aminosäuren vor, das Phenylalanin, das Tyrosin und das Tryptophan (siehe Abb. 5). Diese werden im weiteren Verlauf mit Phe, Tyr und Trp abgekürzt. Die kleinste, aromatische Aminosäure stellt das Phenylalanin ($R=\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) dar, sie ist die um einen Phenylring erweiterte Aminosäure Alanin. Wie sich in Untersuchungen von Levy *et al.*²¹ zeigte, ist Phe bei der LIF-Spektroskopie (Laser Induzierte Fluoreszenz) ein sehr schlechter Emitter, bessere Ergebnisse zeigte dagegen das Tyrosin (Tyr). Es zeigte sich jedoch weiterhin, dass die Fluoreszenz sowohl von Phe als auch von Tyr bereits bei Anwesenheit geringer Mengen Tryptophan gequencht wurde^{22,23}. Tryptophan kommt nur in sehr geringen Mengen in Proteinen des menschlichen Organismus vor, deutlich seltener als Phenylalanin oder Tyrosin. In LIF-spektroskopischen Untersuchungen zeigte Trp jedoch ein deutlich stärkeres Emissionsverhalten.

Aminosäuren sind optisch aktive Substanzen. Das α -C Atom bildet ein chirales Zentrum (asymmetrisches C-Atom), somit muss bei der Konfiguration zwischen D- und L Isomeren unterschieden werden (Ausnahmen stellen das Glycin und das Prolin dar, eine zyklische Aminosäure).

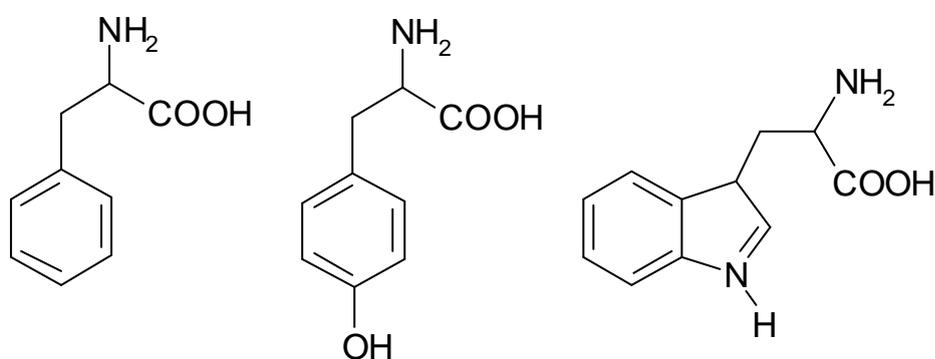


Abb. 5 a) Phenylalanin, b) Tyrosin und c) Tryptophan

In der Natur und im menschlichen Körper liegen alle Aminosäuren in der L-Konfiguration vor (siehe Abb. 4b), weshalb wir uns bei unseren Experimenten folglich bei der Wahl der Substanzen auch für L-Aminosäuren entschieden haben. Für die Untersuchung von Monomeren spielt in den hier vorgestellten Systemen die Wahl zwischen D- und L-Aminosäuren keine große Rolle, jedoch bei der späteren Betrachtung von Komplexen oder Dimeren ist die Konfiguration zu berücksichtigen.

Die Aminosäuren stellen die Untereinheiten der Peptide dar. Bei Peptiden handelt es sich um das Kondensationsprodukt aus mindestens zwei Aminosäuren. Dabei reagiert der N-Terminus (NH_2 -Gruppe) der einen Aminosäure mit dem C-Terminus (COOH Gruppe) der Anderen unter Abspaltung von Wasser. Hierbei bildet sich die so genannte Amidbindung (CO-NHR) aus (Abb. 6). Die Amidbindung stellt das Bindeglied zwischen den einzelnen Aminosäuren in einer Peptidsequenz dar. Die Sequenz der Aminosäuren wird auch als Primärstruktur im Peptid bezeichnet. Der Aufbau von Peptiden unterteilt sich in die Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur, wobei unsere Forschung über die Untersuchung von primären Strukturen hinausging. Erstmals konnten auch Untersuchungen von Motiven für die Sekundärstruktur durchgeführt werden

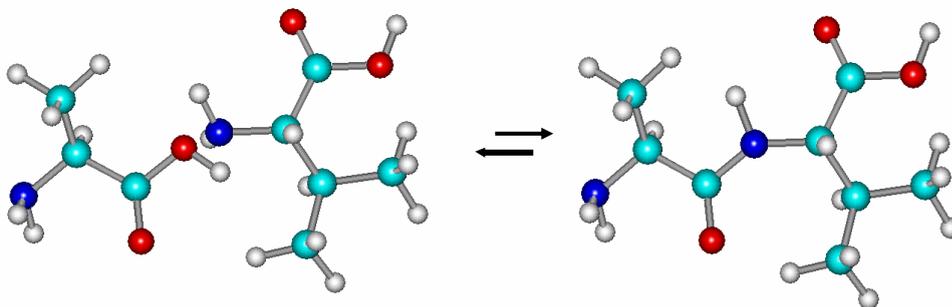


Abb. 6 Kondensation zweier Aminosäuren a) Alanin und Valin unter Abspaltung von Wasser zum b) Peptid AlaVal unter Ausbildung einer Amidbindung CO-NHR .

Zur Beschreibung einer Sequenz von Aminosäuren in einem Peptid bedient man sich der 1974 aufgestellten IUPAC-IUB²⁴ Regeln für die Nomenklatur von Polypeptidketten. Sie basiert auf der 1966 von Edsall und Ramachandran beschriebenen Zuordnung²⁵. Diese Regeln beschreiben eine Sequenz von Aminosäuren beginnend bei der Aminosäure, die eine unverbrückte NH₂-Gruppe zurückbehalten hat. Diesen bezeichnet man als den N-Terminus. Den C-Terminus bildet die Aminosäure, deren Rest eine unverbrückte Carbonsäure aufweist und somit das Ende der Kette von Aminosäuren im (Poly-)Peptid repräsentiert.

Die das Rückgrat bildenden Atome einer Aminosäure werden mit N´H´-C^aH^a-C´O´ bezeichnet (siehe Abb. 7).

Aus einer spezifischen Abfolge von Aminosäuren lassen sich bei bestimmten Anordnungen so genannte Motive bilden. Bereits 1998 wurden über 6000 Proteine NMR spektroskopisch und durch Röntgenstrukturanalyse untersucht, wobei über 350 Familien von Faltungsmustern bestimmt wurden¹⁸. Diese stellen die Basis für Motive dar. Sie beschreiben den ersten Schritt des Faltungsmechanismus eines Peptids. Sie wird gesteuert über kurzreichende Wechselwirkungen²⁶. Im Anschluss daran bilden sich die Motive der Sekundärstruktur aus, sie entsteht durch Zusammenlagerung der im ersten Schritt gebildeten Domänen. Unter Motiven versteht man die Anordnung mehrerer miteinander verknüpfter Aminosäuren nach einem definierten Plan zu einer bestimmten dreidimensionalen Struktur. Zu den bekanntesten Motiven zählen α -Helices, β -Faltblätter (parallele und antiparallele β -Faltblätter) und β -Faltstellen (β -turns)^{11, 27-29}. Die Triebkraft hierbei stellen mittel- und weitreichende Wechselwirkungen (WW) dar. Die verschiedenen räumlichen Anordnungen der Polypeptidkette (gestreckte Ketten, ungeordnete Knäuel, Schrauben u.ä.) bezeichnet man als die sekundäre Struktur des Peptids und die durch Zusammenlagerung von Sekundärelementen gebildeten Elemente als tertiäre Struktur. Dabei ist zu erwähnen, dass sowohl die Gesamtstruktur als auch einzelne Motive der Sekundärstruktur sehr stark von der Primärstruktur, der Sequenz der Aminosäuren (AS) im Peptid, abhängig ist³⁰⁻⁴¹.

Sasisekharan hat bereits 1962 für die Beschreibung des Peptidrückgrats die „Diamid Näherung“ (*diamid approximation*) eingeführt⁴². Sie besagt, dass die Winkeleinstellungen des Rückgrates hauptsächlich durch die jeweilige Aminosäure und nicht durch die unmittelbar benachbarten Aminosäuren bestimmt werden. Je nach den Seitenketten der entsprechenden Aminosäuren werden einige Strukturen von bestimmten Sequenzen bevorzugt ausgebildet oder auch völlig ausgeschlossen. Efimov *et al.* stellte fest, dass 80% aller α_L Reste eines β -turns von Glycin (Gly) und der Rest von Aminosäuren mit flexibler Seitenkette (Asparginsäure (Asp), Lysin (Lys), Glutaminsäure (Glu),...) und die ϵ Position ausschließlich von Gly besetzt werden⁴³. Es ist anzumerken, dass bei kürzeren Peptiden hauptsächlich β - und γ -Strukturen zu erwarten sind. Die für α - und δ -Strukturen benötigten Stabilisierungsmöglichkeiten fehlen bei Systemen wie Di- und Tripeptiden völlig. Zur Stabilisierung einer α -Helix bilden sich intramolekulare WBB jeweils vom $C^{n'}=O^{n'}$ -Sauerstoff (Carbonylgruppe der n-ten Aminosäure) zum $N^{n+3'}-H^{n+3'}$ -Wasserstoff (N-H-Gruppe der in der Primärsequenz drei Einheiten entfernten AS) aus⁴⁴.

Bei der Ausbildung der Tertiärstruktur können Teile zuvor gebildeter sekundärer Strukturen wieder aufgelöst werden.

2.4.b Der Ramachandranplot

Zur Beschreibung der verschiedenen Konformationen und der daraus entstehenden Motiven bedient man sich des Ramachandran Plots. Dieser wurde 1966 von G. Ramachandran *et al.* erstmals eingeführt²⁵. Diese Auftragung sortiert die Konformationen nach den Dihedralwinkeln der einzelnen Peptideinheiten in einer Kette.

Der Ramachandranplot unterteilt die Energieoberfläche bezüglich der beiden Torsionswinkel ϕ und ψ in neun unterschiedliche Bereiche (siehe Abb. 9) α_D , α_L ,

$\beta_L, \gamma_L, \gamma_D, \epsilon_D, \epsilon_L, \delta_L, \delta_D$. Er wählte für die Drehung um die $N'H'-C^\alpha H^\alpha R$ Bindung (die der starren $C^1'O^1'-N^2'H^2'$ Amidbindung benachbarten Bndg.) die Bezeichnung ϕ und für den Drehwinkel der darauf folgenden $C^\alpha H^\alpha R - C'O'$ Bindung die Bezeichnung ψ (Siehe Abb. 7). Die Einteilung in die neun Bereiche begründet sich daraus, dass das Torsionspotential der Winkel ϕ und ψ jeweils drei Minima aufweist. In jedem der neun Bereiche ist mit jeweils maximal einem stabilen Konformer zu rechnen⁴⁵

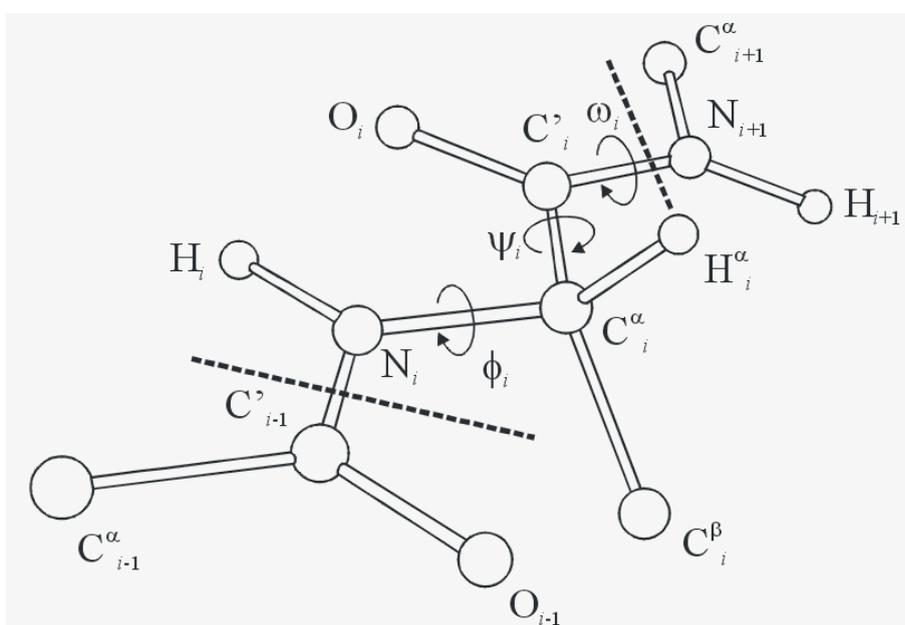


Abb. 7 Notation der Winkel nach Ramachandran im Peptidrückgrat

Die Auftragung kann entweder in der topologischen Einheit erfolgen, die angegebenen Winkel ϕ und ψ liegen hierbei zwischen 0° und 360° . Bei der Auftragung in der Standardeinheit liegen die beiden Winkel im Bereich von -180° bis 180° . Die 0° Position bezeichnet hierbei eine Konfiguration der vier am Dihedralwinkel beteiligten Atome A-D, wenn in der Newman Projektion eine ekliptische Anordnung vorliegt (Abb. 8). Ist das hintere Atom (D) im Uhrzeigersinn verkippt, so wird ein positives Vorzeichen, gegen den Uhrzeigersinn ein negatives

vergeben. ($-180^\circ=180^\circ$). Dabei wird das Vorzeichen immer so gewählt, dass der zugehörige Winkel minimal ist. Bei der Notation in der Standardeinheit sind enantiomere Strukturen direkt erkennbar. Sie unterscheiden sich dann lediglich im Vorzeichen der entsprechenden Winkel.

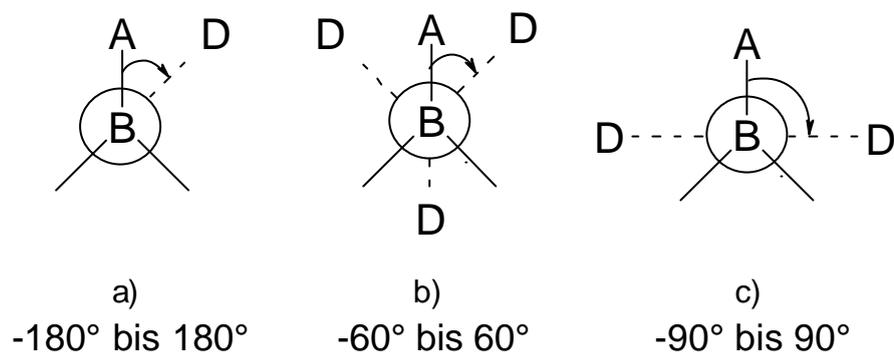


Abb. 8 Definition für die Winkel a) φ, ψ, ω und für b+c) τ

Eine Abfolge von Aminosäuren in α_D - oder α_L -Konformation erzeugt α -helikale Strukturen (Kap.2.4.d.1), eine Abfolge von AS in β_L -Konformation erzeugt eine β -Faltblattanordnung (Kap. 2.4.d.2). γ_L und γ_D -Anordnungen liefern einen normalen oder inversen γ -turn, ε_D , ε_L die inverse und normale Polyproline-II Struktur und δ_L , δ_D schließlich die δ -Strukturen.

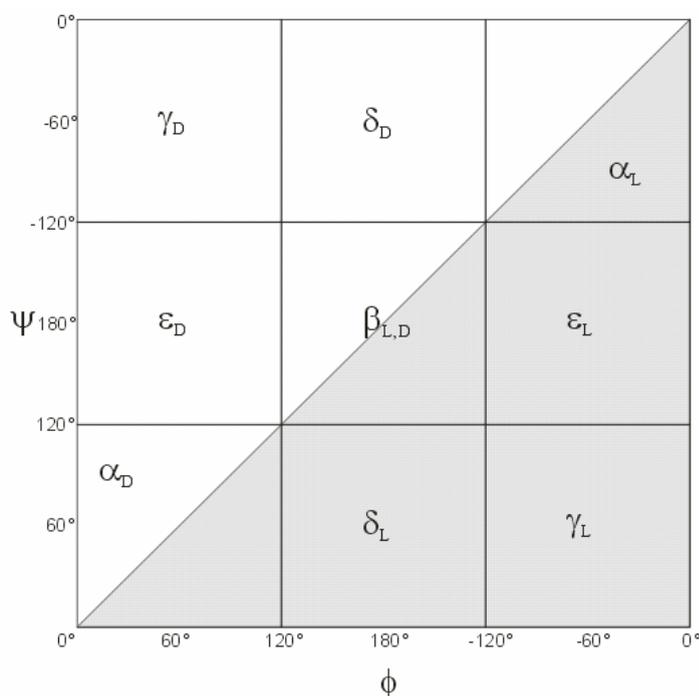


Abb. 9 Ramachandranplot in der Auftragung der Standardeinheit

Bei der Amidbindung selbst ($N^1'H^1'-C^2'O^2'$ Bindung) sind prinzipiell nur eine cis und trans- Konfiguration möglich. Sie wird durch den Winkel ω beschrieben. Die freie Rotation um diese Bindung ist im Gegensatz zur Rotation um ϕ und ψ gehindert. Die Barriere der Rotation liegt mit 16 kcal/mol zwischen der einer Einfach- (3 kcal/mol) und der einer Doppelbindung (60 kcal/mol). Die C-N Bindung besitzt somit einen partiellen Doppelbindungscharakter²⁰. Unter der cis-Konfiguration versteht man, wenn (siehe Abb. 10) der Wasserstoff am Stickstoffatom auf gleicher Seite der Amidbindung angeordnet ist wie der Carbonylsauerstoff ($\omega=0^\circ$). Bei trans- Anordnung liegen sie folglich auf gegenüberliegenden Seiten der $N^1'-C^2'$ Bindung ($\omega=180^\circ$).

Die Abweichung vom Idealfall des cis-trans-Amids wurde am System AlaAla von Ramek untersucht⁴⁶. In nativen Proteinen liegt die Amidbindung zu überwiegendermaßen in trans-Konfiguration vor. Die trans-Stellung ist im Regelfall deutlich stabiler, als die Anordnung in cis-Stellung.

2.4.c Die Seitenkette

Bei jeder Aminosäure, die größer als Alanin und Glycin ist, wird zur genauen Charakterisierung der genauen Konformation auch noch mindestens ein Winkel χ benötigt.

χ_i beschreibt die Winkelstellung der $C_{\alpha_i}-C_{\beta_i}$ -Bindung, die die Seitenkette jeder Aminosäure i mit dem α_i -C-Atom verbindet. C_{β_i} ist die Bezeichnung für das erste Kohlenstoffatom der Seitenkette. Je nach Art der Seitenkette ergeben sich durch ihre Torsion ein oder mehrere lokale Minima (je nach Symmetrie der Seitenkette) auf der Energiehyperfläche. Dies sei hier am Beispiel der Seitenkette des geschützten Phenylalanins demonstriert.

Wie in Kapitel 5 eingehender beschrieben wird, ergeben sich durch die Stellung des Phenylrings drei Minima bei 180° , $+60^\circ$ und -60° . Diese werden mit a („anti“), $g+$ („gauche plus“) und $g-$ („gauche minus“) bezeichnet (Abb. 12).

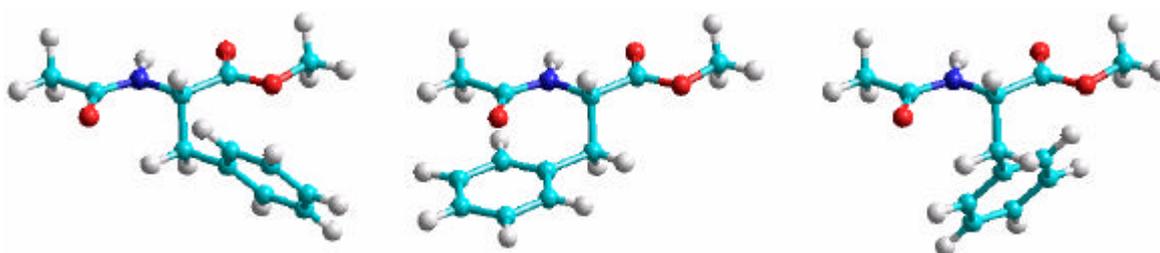


Abb. 12 Drei unterschiedliche Winkeleinstellungen der Seitenkette in Bezug auf das Peptidrückgrat der geschützten Aminosäure AcPheOMe a) -180° a („anti“; -180°), b) $g-$ („gauche minus“; -60°) und c) $g+$ („gauche plus“; $+60^\circ$)

2.4.d Motive

2.4.d.1 Die α -Helix

Das bei weitem bekannteste Motiv stellt die α -Helix dar. Pauling und Corey entwickelten sie theoretisch als eine von zwei regelmäßigen Strukturen aus experimentell bestimmten Bindungslängen und -winkeln 1951 bevor sie sechs Jahre später durch Röntgenstrukturanalyse im Myoglobin erstmals nachgewiesen wurde. Bei der α -Helix liegen die Winkel ϕ und ψ im Rückrat nach dem Ramachandranplot im Bereich von -60° und -40° .

Wie in der Zeichnung zu erkennen, wird dieses Motiv durch intramolekulare Wasserstoffbrücken stabilisiert (Abb. 13). Diese bilden sich jeweils von dem Carbonylsauerstoff (Protonenakzeptor) einer Aminosäure zum Amidwasserstoff (Protonendonator) der in der Abfolge um drei Aminosäuren entfernt in der Kette liegenden aus.

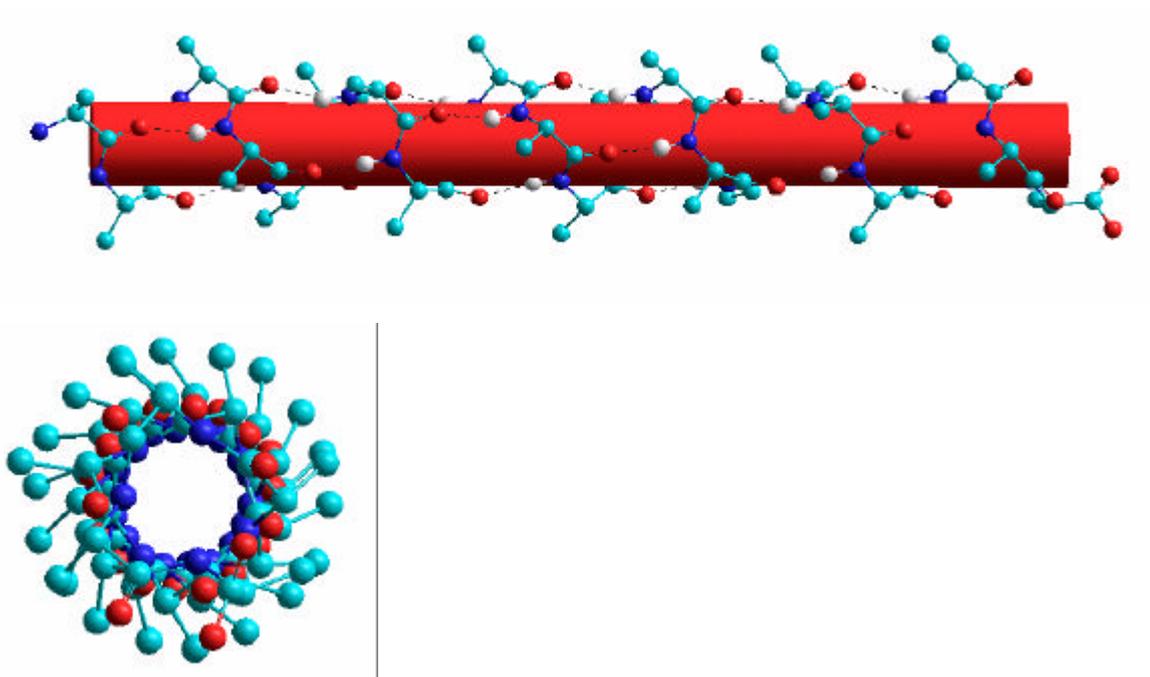


Abb. 13 Rechtsgängige α -Helix, a) Seitenansicht mit Sekundärstruktur (lediglich Wasserstoffe in den H-Brücken sind eingezeichnet und b) Aufsicht

Die Helix dreht sich pro Aminosäure um 100° , somit liegen die in der Kette um zwei versetzten Kettenglieder auf gegenüberliegenden Seiten der Helix und die um vier Einheiten versetzten direkt untereinander (3,6 Aminosäuren pro Drehung). Die Länge der Helix wächst pro Aminosäureeinheit um 0,15 nm.

Dabei befinden sich die hydrophoben Enden des Peptids an der Außenseite der Helix. Je nach der Drehrichtung der Helix spricht man von links- oder rechtsgängigen Helices.

Die klassische Variante stellt die rechtsgängige Helix (betrachtet vom N-Terminus aus eine Drehung im Uhrzeigersinn) dar.

2.4.d.2 Das β -Faltblatt

Ein weiteres Motiv ist das β -Faltblatt (β weil sie nach der α -Helix das zweite (1 Jahr nach der α -Helix) theoretisch von Pauling und Corey entwickeltes und später spektroskopisch nachgewiesenes Motiv darstellte). Sie unterscheidet sich grundlegend von der Struktur der α -Helix. Das β -Faltblatt bildet platten- oder stabförmige Strukturen aus.

Bei ihr liegt das Rückgrat des Peptides weitestgehend gestreckt vor ($\phi, \psi=180^\circ$). Sie wird in Kapitel 5 eingehender diskutiert.

Hier stabilisieren im Gegensatz zur α -Helix keine intramolekularen Wasserstoffbrücken, sondern intermolekulare die Struktur. Sie verbinden jeweils den Wasserstoff einer Amidgruppe des einen Stranges mit dem Carbonylsauerstoff einer gegenüberliegenden AS in einem zweiten Peptidstrang.

Je nachdem, ob der Strang, zu dem die Brücken ausgebildet werden, in gleicher oder entgegengesetzter Richtung verläuft, spricht man von einem parallelen oder antiparallelen β -Faltblatt (siehe Abb. 14).

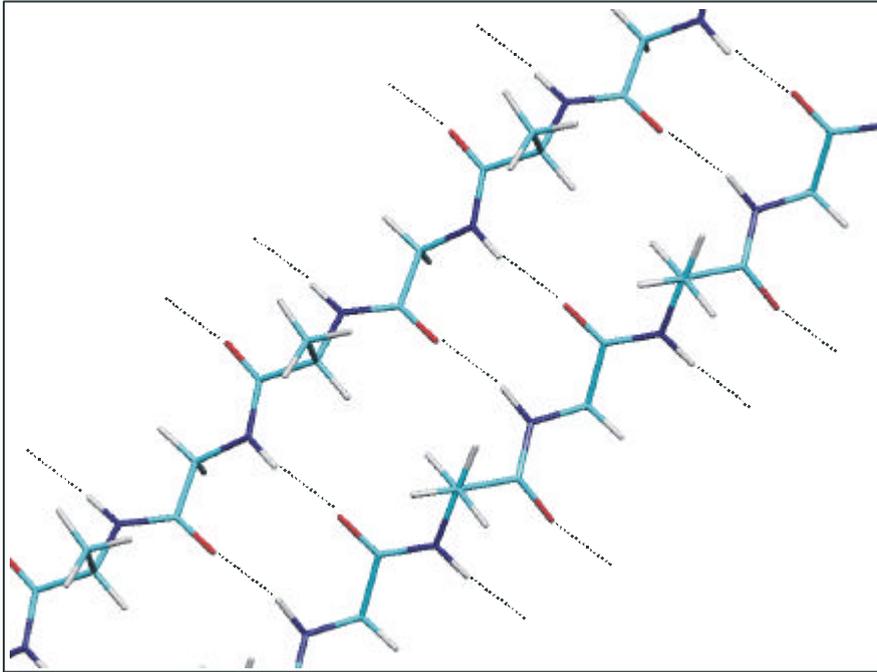


Abb. 14 antiparallele β -Faltblattanordnung im Seidenprotein

2.5 Vorbereitung auf die experimentellen Untersuchungen

Aminosäuren und Peptide liegen bei neutralem pH-Wert in Lösung zwitterionisch vor. Häufig bilden sie bevorzugt γ -Strukturen, bei denen die geladenen Enden möglichst nah bei einander liegen, um eine Wasserstoffbrücke auszubilden. Dadurch können die beiden gegensätzlichen Ladungen im Molekül besser stabilisiert werden.

Bei Gasphasenuntersuchungen hat sich gezeigt, dass zwitterionische Strukturen [am Beispiel des Phenylalanins⁸² (auf MP2/6-311G(d,p) B3LYP/6-31+G(d), HF/6-31G(d)-Niveau) und des Glycins^{118,119}] energetisch deutlich ungünstiger sind (ca. 90 kcal/mol bei Phe) als nichtgeladene Strukturen. Eine Ausbildung von intermolekularen WBB und γ -Strukturen sind jedoch weiterhin möglich.

Zur Verhinderung von intramolekularen Wasserstoffbindungen, durch die das Rückgrat der Aminosäure oder des Peptides entgegen einer β -Faltblattanordnung nicht gestreckt vorläge, wurden die untersuchten Aminosäuren gezielt derivatisiert. Der N-Terminus der Substanz wurde acetyliert und der C-Terminus der Aminosäure methyliert, woraus sich am Beispiel der Aminosäure Phenylalanin die Schreibweise der geschützten Aminosäure AcPheOMe (N-Acetylphenylalaninmethylester) ergibt.

Bei verschiedenen untersuchten Substanzen wurde der C-Terminus auch alternativ mit einer Aminomethyl-Schutzgruppe blockiert. Bei Verwendung einer Aminoschutzgruppe wurde eine zusätzliche Amidgruppe erzeugt. Durch diese Modifikation konnten gezielt Modelle höherer Peptide generiert werden

Jedoch wurde gleichzeitig auch die Kupplungsstelle für eine neue intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung geschaffen. Diese kann wiederum unter Bildung einer intramolekularen H-Brücke zur Ausbildung von γ -Strukturen führen.

Proteine mit hohem Anteil an β -Faltblattstrukturen (wie z.B. das Seidenprotein) zeigen in Lösung hydrophobe Eigenschaften. Alle polaren Endgruppen sind zum Inneren des Moleküls gerichtet. Sie zeigen praktisch keine Wechselwirkung mit der Umgebung. Molekularstrahlexperimente lassen die Betrachtung isolierter Teilchen ohne WW mit der Umgebung zu, sie bieten also exzellente Voraussetzungen für die Betrachtung solcher Systeme. Durch Vergleich mit experimentellen Studien mit WW der Umgebung ist eine Abschätzung dieser Einflüsse möglich. Die Schnittstelle zur Lösung sollte mit Hilfe von Mikrosolvatation untersucht werden.

3 Apparatur und Laser

Bei allen vorgestellten Spektren handelt es sich durchweg um Spektren, die in der Gasphase gemessen wurden.

Die dafür notwendigen Messungen wurden alle an einer Molekularstrahlapparatur durchgeführt, die im nachfolgenden Kapitel näher beschrieben wird. Durch die Verwendung einer solchen Apparatur, ist man in der Lage, Spektren zu erhalten, die nur eine geringe Rotations- und Dopplerverbreiterung aufweisen. Zusätzlich erhält man nicht nur massenselektive, sondern auch isomeren- und zustandsselektive Spektren.

Durch die Messung im Überschallstrahl erhält man kalte (einige Kelvin) Moleküle, wodurch sich heiße Banden in den Spektren weitestgehend unterdrücken lassen^{47,48}.

3.1 Molekularstrahlapparatur

Die Molekularstrahlapparatur, wie sie in dieser Arbeitsgruppe verwendet wird⁴⁹, ist unterteilt in drei Kammern, die differentiell gepumpt werden, die Probenkammer, die Ionisationskammer mit Driftstrecke und als dritte Kammer das Flugzeitmassenspektrometer.

Die Moleküle werden in einen eigens dafür entwickelten Probenkopf erhitzt und unter Helium mit 2-3 bar als Trägergas in der Probenkammer ins Vakuum expandiert. Speziell für die Untersuchung an Clustern von verschiedenen Peptiden und Peptid-Templat-Clustern wurde eine Anordnung von zwei dicht hintereinander angeordneten Probenköpfen konstruiert. Die Pulsdüse und beide Probenköpfe können je nach Substanz separat bis über 200°C geheizt werden.

Die Apparatur wurde mit einer Frequenz von 10 Hz gepulst betrieben, wobei der Molekularstrahl durch eine Pulsdüse der Fa. General Valve (Iota One, Series 9) erzeugt wurde. Der Gaspuls hat eine Länge in der Größenordnung von 250-300 μs (Öffnungszeit der Pulsdüse). Die Probenkammer wird mittels einer zweistufigen Drehschieberpumpe (65 m^3/h , Fa. Alcatel), einer Wälzkolbenpumpe (250 m^3/h , Fa. Alcatel) und einer nachgeschalteten Diffusionspumpe (3000 l/h, DI 3000 Fa. Leybold) evakuiert. Bei ausgeschalteter Pulsdüse herrscht ein Druck von $1 \cdot 10^{-6}$ mbar in der ersten Kammer. Im Messbetrieb steigt er auf ca. $1 \cdot 10^{-5}$ bis $1 \cdot 10^{-4}$ mbar an. Durch die Expansion von 2-3 bar ins Vakuum bewegen sich die Probenmoleküle mit Überschallgeschwindigkeit in Strahlrichtung und einer sehr schmalen Geschwindigkeitsverteilung senkrecht zur Strahlrichtung. Bedingt durch die großen mittleren Abstände der Moleküle im Molekularstrahl und das sehr schmale Geschwindigkeitsprofil (alle Teilchen haben eine annähernd gleiche vektorielle Geschwindigkeit), finden nur sehr wenige Stöße der Teilchen untereinander statt und es wird eine niedrigere Temperatur T erzielt. Folgend aus der Tatsache, dass alle Moleküle annähernd gleiche Geschwindigkeit besitzen wird auch die dadurch hervorgerufene Dopplerverbreiterung deutlich minimiert, woraus sich eine wesentlich geringere Halbwertsbreite der im Spektrum gemessenen Banden ergibt.

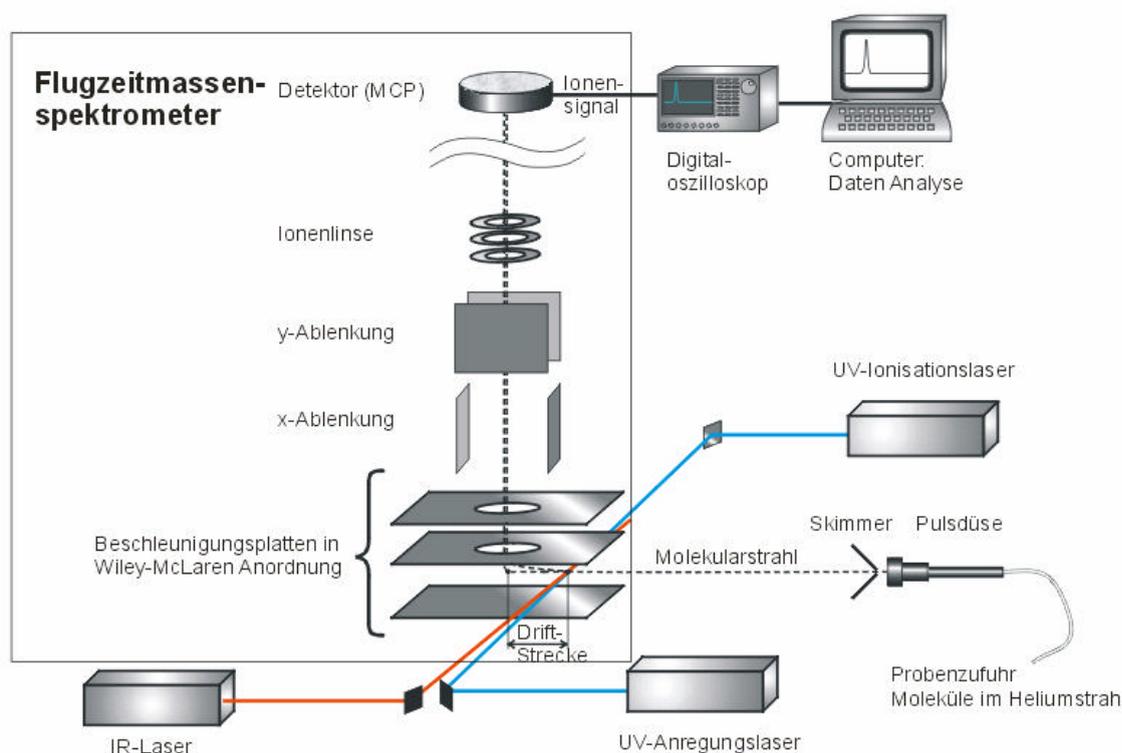


Abb. 15 **Apparativer Aufbau**

Die Pulsdüse hatte eine Öffnung von 500 μm (Fa. Beam Dynamics). Sie ist auf einem speziell dafür konstruierten Verstelltisch montiert. Mit Hilfe von insgesamt 5 Schrittmotoren sind wir in der Lage die Position der Pulsdüse in alle Raumrichtungen (x,y,z) zu translatieren. Zusätzlich ist es auch noch möglich den Turm in der Strahlebene (xz) zu verdrehen und die Strahlrichtung zu neigen (yz) (siehe Abb. 16). Dies ist auch während des Messbetriebes von außen durchführbar. Als sechste Dimension der Verstellung sind wir weiterhin in der Lage die Pulsdüsenkappe online zu verstellen. Dies ist besonders bei den Untersuchungen an den hochschmelzenden Peptiden und ihren Templatkomplexen notwendig, da sich bei hohen Temperaturen die Charakteristik der Pulsdüse deutlich verändert und diese Störung kompensiert werden kann.

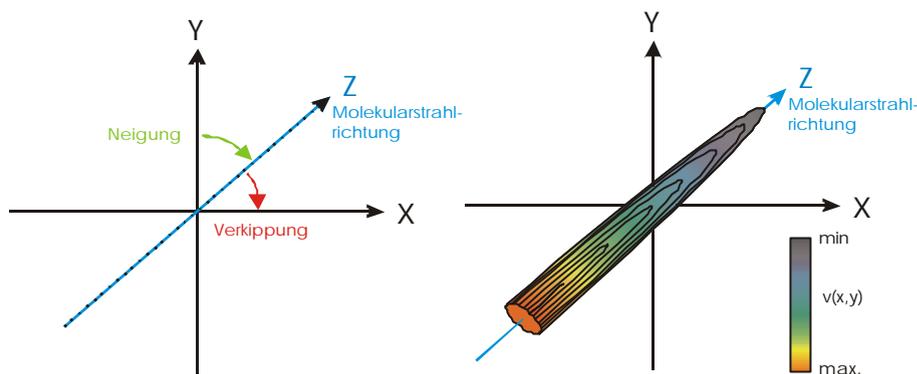


Abb. 16 a) Verstellmöglichkeiten des Puldüsentisches, b) Geschwindigkeitsverteilung der Moleküle im Molekularstrahl nach Expansion ins Vakuum entlang der Z-Achse

In einer Entfernung von ca. 40 mm hinter der Öffnung der Pulsdüse befindet sich ein Skimmer mit einer Öffnung von 1,0 mm Durchmesser (Fa. Beam Dynamics). Die Öffnung des Skimmers stellt die einzige Verbindung zwischen der ersten und der zweiten Kammer der Apparatur dar. Durch den Skimmer wird der äußere, warme Teil des Molekularstrahls abgeschält. Dadurch wird erreicht, dass nur der innere Teil des Molekularstrahls, mit einer noch schmaleren Geschwindigkeitsverteilung der im Gaststrahl befindlichen Probenmoleküle, in die Ionisationskammer eindringen kann, wodurch die Auflösung der gemessenen Spektren nochmals verbessert werden kann. Die Ionisationskammer wird von einer Turbopumpe (Turbovac 1000 Fa. Leybold) evakuiert, als Vorpumpe dient dieselbe Drehschieberpumpe wie bei Kammer 1. In dieser Kammer wird der Molekularstrahl je nach experimentellem Bedarf von bis zu drei Lasern (zwei UV- und ein IR-Laser) rechtwinklig gekreuzt. Anschließend besteht, je nach Einstrahlposition des/der Laser(s), die Möglichkeit die zu untersuchenden Teilchen eine Strecke von bis zu 3 cm bei einem schwachen elektrischen Feld (senkrecht zur Strahlrichtung, parallel oder antiparallel zum Ablenkeinheit) oder auch feldfrei driften zu lassen. Am Ende der Driftstrecke befinden sich die Teilchen dann zwischen den Platten der Abzugselektronik des TOF (time of flight) Flugzeitmassenspektrometers.

Die Teilchen werden dort durch ein Beschleunigungsspannung von ca. 1000V senkrecht zur Strahlrichtung abgelenkt, die zwischen zwei Goldplatten angelegt wird. Im Anschluss daran passieren die Ionen eine weitere Beschleunigungsplatte, die auf ein Potential von 1200 V gegenüber der ersten Platte gelegt ist.. Das Ensemble bildet eine Wiley-Mac Laren (WMcL) Anordnung, die zur Verbesserung der Auflösung des Massenspektrometers verwendet wird. Der genaue Aufbau der WMcL Anordnung⁵⁰ ist Abb. 15 zu entnehmen. Nach Passieren der dritten Goldelektrode fliegen die Ionen eine feldfreie Driftstrecke von 80 cm. Lediglich zur Kompensation der Geschwindigkeitskomponente in Strahlrichtung wird an die beiden Platten der „x-Deflection“ eine Spannung von ca. 85 Volt angelegt.

Dieses Massenspektrums, das nach Vorlagen von M. Gerhards bei der Fa. Jordan (Grass Valley, Kalifornien) angefertigt worden ist, erreicht eine sehr gute Auflösung von $m/\Delta M = 1800$ bei einer Masse von 110 amu.

Die zeitliche Steuerung aller für die Messung erforderlichen Prozesse (Laserschüsse, Abzugspulse, und Triggerung des Oszilloskops (Fa. Tektronix, Modell TDS 520), das zum Erfassen des von Detektor abgegebenen und nachverstärkten Signals und zur Aufzeichnung der Spektren benötigt wird, erfolgt mittels einer Zeitschaltuhr DG 535 der Fa. Stanford Research. Den Mastertrigger liefert die Steuerung der Pulsdüse. Wie eben bereits erwähnt kann im Bereich der Driftstrecke ein schwaches elektrisches Feld angelegt werden. Dies dient bei der MATI-Spektroskopie zur Abtrennung der direkten Ionen von den langlebigen neutralen Rydbergzuständen, die aufgrund ihrer Ladungsneutralität von dem elektrischen Feld unbeeinflusst bleiben. Das Feld wird vor dem Aufschalten des Abzugspulsen an den Goldplatten der WMcL Anordnung angelegt und ist in der Größenordnung von 0,25-2 V/cm. Eine größere Trennspannung bewirkt eine bessere Trennung der direkten Ionen von den Rydbergneutralen, führt jedoch mit zunehmender Feldstärke durch Autoionisation der Rydbergneutrale zu einem deutlichen Intensitätsverlust.

3.2 Laser

Für die hier beschriebenen Experimente wurden zeitgleich bis zu drei verschiedene Laser benötigt, zwei UV- und ein IR-Laser, Besonders Augenmerk ist hier besonders auf das IR-Lasersystem zu richten, das in Kapitel 3.2.b näher beschrieben wird. Dabei handelt es sich um eine innovative Neuentwicklung (M. Gerhards in Kooperation mit der Fa. Sirah). Durch eine Modifikation der bestehenden Einheit aus Nd:YAG-Laser, Farbstofflaser, DFM-Einheit (Difference Frequency Mixing) und Opa-Einheit (Optical Parametric Amplifier) um eine im weiteren Verlauf als DFM2 bezeichnete Einheit, sind wir nicht nur in der Lage IR Strahlung im Bereich von $2800\text{-}3800\text{ cm}^{-1}$ mit einer Leistung von bis zu 20 mJ sondern auch IR-Strahlung im Frequenzbereich von ca. $1300\text{ bis }2000\text{ cm}^{-1}$ mit einer Leistung von über 350 μJ zu erzeugen, wodurch wir als erste Arbeitsgruppe auch in der Lage waren, die Grundtöne von O-H Bending und C=O-Streckschwingungen mittels kombinierter IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie (siehe Kap. 4.1.c) zu untersuchen. Diese Schwingungen sind von fundamentaler Bedeutung für die durchgeführten Untersuchungen an Aminosäuren und Peptiden sind.

3.2.a UV-Laser

Bei den von uns verwendeten UV-Lasern handelt es sich um zwei Nd:YAG-Laser der Firma Lumonics (HY 750 und HY 400), die eine Fundamentale von 1064 nm liefern. Je nach benötigtem Spektralbereich gepumpt durch die zweite harmonische (532nm) oder die dritte harmonische (355nm; nur beim HY750) der Nd:YAG-Laser wurden zwei Farbstofflaser der Fa. Lumonics (HD 400) betrieben, die mittels eines Verdopplerkristalls (je nach Wellenlängenbereich des verwendeten Farbstoffes ein BBO oder KDP Kristall) frequenzverdoppelte Wellenlängen zwischen 300-220 nm liefern. Wird der HY 750 frequenzverdreifacht

betrieben so sind bei Verwendung von Excalite Farbstoffen auch Wellenlängen bis 420 nm zugänglich.

Die jeweils für die einzelne Substanz verwendete Konfiguration aus Laser (2. oder dritte Harmonische), Farbstoff und eventuell einem Verdoppler orientierte sich an den Anregungsenergien der Übergänge $S_1 \leftarrow S_0$ und $D_0 \leftarrow S_1$ der zu untersuchenden Spezies und der entsprechenden spektroskopischen Methode auf die im Kapitel 4 näher eingegangen wird.

3.2.b IR-Laser

Das Kernstück unserer Apparatur bildet das neue Nanosekunden-Lasersystem, mit dem wir in der Lage sind, IR-Strahlung im Frequenzbereich von 2800-3800 cm^{-1} aber auch erstmals von 1400-2100 cm^{-1} zu erzeugen. Dadurch ist es uns möglich, sowohl C-H, N-H O-H-Streckschwingungen und die ersten Obertöne von prominenten N-H-Biege- und C=O-Streckschwingungen als auch die technisch schwer zugänglichen Grundtöne der N-H-Biege- und C=O-Streckschwingungen zu messen⁵¹.

Die zweite harmonische eines geseedeten Nd:YAG-Laser (532nm) der Fa. Spectra Physics (Pro 230) pumpt einen Farbstofflaser der Fa. Sirah (Precision Scan), wodurch unter Verwendung des Farbstoffes Styryl 8 und Methanol als Lösungsmittel Strahlung im Bereich von 740-765 nm erzeugt wird, die in einem ersten Mischprozess mit der zuvor abgetrennten Fundamentalen (1064nm) des Nd:YAG-Lasers abgemischt wird. Dabei wird in einem nichtlinearen Prozess (DFM, Difference Frequency Mixing) in einem 30 mm langen LiNbO_3 Kristall Infrarotstrahlung im Frequenzbereich von 3650-4000 cm^{-1} erzeugt. In einem anschließenden Verstärkungsprozess wird diese Strahlung ein weiteres mal mit der in ihrer Polarisationsrichtung gedrehten Fundamentalen des Nd:YAG-Lasers in einem zweiten, 50 mm langen LiNbO_3 Kristall abgemischt, wodurch die *idler*-

Strahlung (resultierende aus dem DFM Prozess) verstärkt wird und gleichzeitig *Signal*-Strahlung im Bereich von $5400\text{-}5750\text{ cm}^{-1}$ entsteht. Die *Signal*-Strahlung ist die Resultierende aus dem nichtlinearen OPA-Prozess der Frequenzen ν_1 (YAG, $9398,5\text{ cm}^{-1}$) und ν_2 (DFM1, $3650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$). Das Verhältnis von erzeugter Laserleistung im *Idler*- und *Signal*-Strahl ist frequenzabhängig und lag im verwendeten Frequenzbereich bei $1:1,45\text{-}1:1.85$. Durch den dichroitischen Spiegel S_1 wird im Anschluss der *Signal*-Strahl vom *Idler* getrennt und nach Drehung der Polarisationsrichtung durch die Spiegel $S_2\text{-}S_4$ über den Spiegel S_5 wieder mit dem *Idler*-Strahl überlappt. Danach werden beiden Strahlen in einem dritten DFM-Prozess miteinander abgemischt, wodurch in einem 18 mm langen AgGaSe_2 Kristall in einem dritten nichtlinearen Prozess Strahlung im Frequenzband von $1300\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ entsteht.

Bei einer Frequenz von 1645 cm^{-1} und einer Pumpleistung von 15 mJ (Summe aus *Signal* + *Idler*) konnte eine Leistung der Differenzfrequenz von $440\text{ }\mu\text{J}$ gemessen werden. Diese Leistung ist mehr als ausreichend für die IR/R2PI-Spektroskopie von Carbonylschwingungen

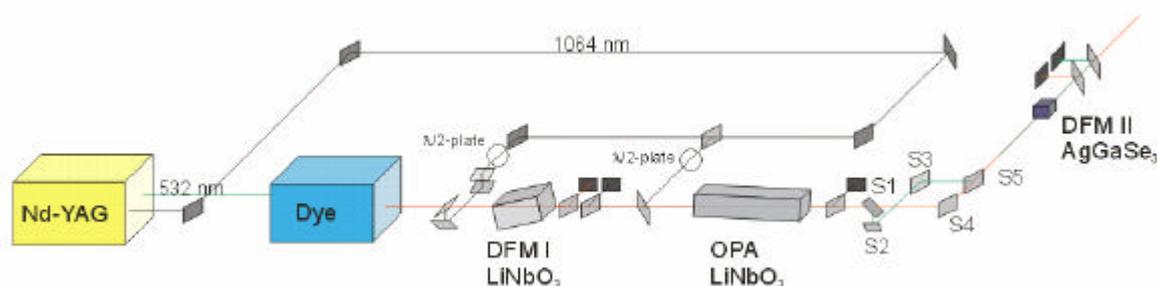


Abb. 17 DMF1-, OPA- und DMF2-Einheit

Verwendet man das IR-Lasersystem ohne die neuentwickelte DMF2 Stufe mit in DMSO gelöstem Styryl 8 und 9, gegebenenfalls auch mit einem Gemisch aus beiden Farbstoffen, so kann man mit dieser Einheit auch weiterhin noch spektral den Bereich von $2600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ erreichen⁵². Die erzielten Leistungen liegen im

Bereich zwischen 10mJ und über 20mJ im DFM/OPA Betrieb. Für die durchgeführten Messungen zeigte sich jedoch, dass Leistungen von mehr als 10 mJ nicht benötigt wurden. Lediglich im Bereich von $3460\text{-}3510\text{ cm}^{-1}$ ist mit dem System der hier verwendeten Kristalle keine IR Strahlung zu erzeugen. In dem Bereich der Kristalllücke tritt Eigenabsorption der erzeugten IR Strahlung im Kristall auf. Um die Spektren ohne Lücke aufnehmen zu können existiert noch ein weiterer LiNbO_3 Kristall. Aufgrund eines anderen Dotierungsgrades mit MgO (alle verwendeten LiNbO_3 Kristalle werde mit MgO dotiert um ihre Zerstörschwelle anzuheben) ist bei diesem Kristall die Lücke um ca. 50 cm^{-1} auf $3510\text{-}3560\text{ cm}^{-1}$ verschoben. Für diesen Kristall existiert jedoch kein äquivalenter OPA Kristall, so dass in diesem Bereich lediglich eine Leistung bis ca. 4 mJ zur Verfügung steht. Diese Leistung ist aber in den meisten Fällen bei guter Justage ausreichend um die in den entsprechenden Frequenzbereich fallenden N-H-Streckschwingungen zu messen.

4 Spektroskopische Methoden

Zur strukturellen Aufklärung der Moleküle, die im Rahmen dieser Doktorarbeit behandelt werden, benötigt man eine Reihe verschiedenster spektroskopischer Methoden. Sie lassen sich grob in zwei Klassen unterteilen.

Die eine Klasse dient zur Untersuchung von Molekülen und Clustern im neutralen, nicht geladenen Zustand, die andere Klasse der Untersuchungen im geladenen Zustand (im Ion). Da an der hier verwendeten Apparatur keine Möglichkeit zur Untersuchung von anionischen Molekülen und deren Clustern vorhanden ist, sind im weiteren Verlauf mit der allgemeinen Bezeichnung Ionen ausschließlich Kationen (positiv geladene Teilchen) gemeint, worauf im Einzelfall jedoch nicht nochmals explizit hingewiesen wird.

Durch die hier vorgestellten Methoden, in Verbindung mit der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Überschallmolekularstrahlapparatur (siehe Kap. 3.1), sind wir in der Lage nicht nur massenselektiv, sondern zusätzlich auch noch isomeren- und auch zustandsselektiv zu arbeiten.

4.1 Spektroskopische Methoden im Neutralteilchen

4.1.a R2PI : (Resonant 2 Photon Ionisation)

Die R2PI Spektroskopie ist eine reine UV-spektroskopische Methode^{53,54}. Durch die Absorption eines Photons wird ein Molekül resonant aus dem elektronischen Grundzustand S_0 in den ersten, elektronisch angeregten Zustand S_1 angeregt, wobei je nach der Wellenlänge des ersten Lasers (Analyaselaser) der Schwingungsgrundzustand oder eine Schwingungsbande des S_1 populiert wird. Mittels eines zweiten Photons wird nun aus dem S_1 oder seiner Schwingungsbande ins Ion angeregt (D_0), das Molekül wurde ionisiert. Die Zahl der entstehenden Ionen ist immer dann besonders hoch, wenn man mit dem Analyaselaser resonant in den Schwingungsgrundzustand oder eine Schwingungsbande des S_1 anregt (Resonante 2 Photonen Ionisation). Die entstehenden Ionen können im Anschluss mittels eines Massenspektrometers detektiert werden, wodurch sich zu der durch die resonante Anregung bedingte Isomerenselektion auch zusätzlich eine Massenselektion ergibt. Dies geschieht, indem die geladenen Teilchen durch ein elektrisches Feld abgelenkt und zum Detektor hinbeschleunigt werden. Da sich im allgemeinen Fall, bedingt durch die Absorption von lediglich zwei Photonen, fast ausschließlich einfach (positiv) geladene Ionen bilden, kann von der Flugzeit des Kations direkt auf die Masse des Teilchens geschlossen werden. Die Flugzeit eines geladenen Teilchens im elektrischen Feld ist dabei proportional zu $\sqrt{\frac{m}{e}}$, wobei m der Masse des Teilchens und e seiner Ladung entspricht. Stimmt man nun die Frequenz des Lasers durch und trägt das sich zeitlich ändernde Ionensignal gegen die Frequenz des Lasers auf, so erhält man ein R2PI-Spektrum (Abb. 18). Dieses zeigt die Banden der Übergänge des S_0 Grundzustands in den ersten angeregten Zustand S_1 , also das Schwingungsspektrum des ersten elektronisch angeregten Zustandes.

Aufgrund zu geringer Franck-Condon Faktoren brechen R2PI-Spektren bei hohen Schwingungsfrequenzen ab.

4.1.b Zweifarben-R2PI

Eine Variation der unter 2.1.a beschriebenen UV-Einfachresonanzmethode, bei der die Anregung in den S_1 Zustand und die anschließende Ionisation durch zwei identische Photonen desselben Lasers erfolgen, stellt die Zweifarben R2PI-Spektroskopie (Resonant Enhanced MultiPhoton Ionisation) dar. Hierbei werden die beiden für die Ionisation benötigten Photonen von zwei unterschiedlichen Lasern erzeugt. Durch die Wahl der Frequenz des 2. Lasers kann nun die Überschussenergie im Ion variiert werden.

Bei den hier verwendeten Systemen ist die Anregung für den Übergang $S_1 \rightarrow S_0$ wesentlich höherfrequent (größerer Energiebetrag nötig), als die des Überganges von $D_0 \rightarrow S_1$. Dies hat zur Folge, dass nach Anregung durch zwei identische Photonen eine sehr hohe Überschussenergie im Ion verbleibt. Durch eine Anregung mit zwei energetisch unterschiedlichen UV-Lasern, lässt sich die Überschussenergie im Ion auf einfache Weise herabsetzen. Dies ist zum Beispiel bei der Ionisation von Substanzen von Nutzen, die bei der Ionisation mit hoher Überschussenergie zur Fragmentation neigen, was häufig bei Clustern (wasserstoffverbrückte Komplexe aus Molekülen mit Gasen, Wasser oder anderen Molekülen) der Fall ist.

Unumgänglich ist die Zwei-Farben Ionisation bei Molekülen, bei denen der $D_0 \rightarrow S_1$ Übergang einen höheren Energiebetrag benötigt, als die Anregung in den ersten elektronisch angeregten Zustand ($S_1 \rightarrow S_0$). Dann ist der Energiebetrag, den zwei Photonen des ersten Lasers liefern geringer, als der Betrag der Ionisierungsenergie und würde somit zur Ionisierung des Moleküls nicht ausreichen.

Genau wie bei der Einfarbenionisation werden die beiden Laser zeitgleich und räumlich überlappt mit dem Molekularstrahl gekreuzt. Es handelt sich also um keinen echten Zweiphotonenprozess, sondern läuft über die resonante Anregung in ein Schwingungsniveau des S_1 . Um eine Absorption von zwei Photonen des ersten Lasers bei einem einzelnen Molekül (oder auch Cluster) und die daraus resultierende hohe Überschussenergie im Ion (und mögliche Fragmentation) zu unterdrücken, was ja der Intention der 2 Farben R2PI entspricht, muss der erste Laser stark abgeschwächt werden. Im Normalfall wird der Analyselaser mit einer Leistung von 100-200 $\mu\text{J}/\text{Puls}$ betrieben. Eine typische Leistung für den Ionisationslaser liegt bei 2-3 mJ pro Puls. Ist für die Ionisation aus dem S_1 -Zustand mehr Energie nötig, als zur Anregung in deren S_1 , so stellt die Absorption von zwei UV1 Photonen kein Problem dar. Zur Ionisation wären in diesem Falle mindestens ein drittes Photon von Laser 1 oder 2 nötig. Dabei würde es sich jedoch um eine nichtresonante Absorption handeln. Nichtresonante Multiphotonprozesse von mehr als zwei Photonen sind im Regelfall wesentlich schwächer als resonante Anregungen und können daher vernachlässigt werden. Auch eine mögliche Ionisation durch zwei Photonen des Ionisationslasers (für $\lambda_{UV1} > \lambda_{UV2}$) ist aufgrund einer nichtresonanten Anregung zu vernachlässigen.

4.1.c IR/R2PI-Spektroskopie (S_0)

Diese Spektroskopie stellt eine Kombination aus der IR- (Infrarot) und der R2PI-Spektroskopie dar. Sie ist eine Doppelresonanzmethode, bei der mittels der UV-Photonen, deren Frequenz auf dem Übergang einer $S_1 \rightarrow S_0$ Bande steht (meist der 0-0 Übergang, so er spektroskopisch mit ausreichender Intensität zu ermitteln ist), ein konstantes Ionensignal erzeugt wird. Wie in Abb. 18b zu erkennen ist, wird zeitlich vor der UV-Anregung (ca. 40-75 ns) der Molekularstrahl mit einem IR-Laser gekreuzt. Dieser wird in einem charakteristischen Frequenzbereich durchgescannt. Trifft nun der IR-Laser resonant eine Schwingung des Moleküls im

elektronischen Grundzustand, so wird der Schwingungsgrundzustand des S_0 -Zustands depopuliert. Der UV-Laser findet eine geringere Anzahl von Molekülen im Grundzustand vor, was sich in einem Einbruch des Ionensignals bemerkbar macht. Je nach gewähltem Frequenzbereich und Art des Moleküls, kann es sich dabei um die resonante Schwingung einer O-H-, N-H- oder C-H-Streckschwingung ($2800-3800\text{ cm}^{-1}$) handeln. Durch das von uns neu aufgebaute Lasersystem (siehe Kapitel 3.2.b) sind wir nun auch in der Lage, im Bereich der C=O-Streck- und O-H- und N-H-Biegeschwingungen ($1400-2000\text{ cm}^{-1}$) Infrarotspektren aufzunehmen, wobei besonders erstere, gerade im Bereich der Aminosäuren und Peptide, eine hohe strukturelevante Aussage treffen können, die zu einer besseren und eindeutigeren Interpretation der gemessenen Spektren beiträgt. Nach den Ergebnissen von theoretischen Berechnungen, sind die C=O-Streckschwingungen sehr intensiv, so dass sie auch spektroskopisch gut beobachtbar sind.

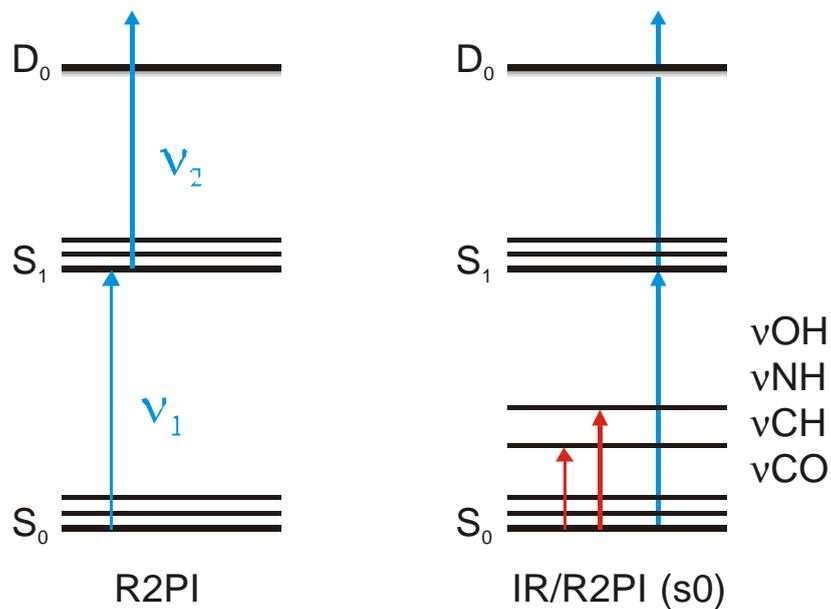


Abb. 18 a) R2PI-Spektroskopie: wird beim Durchstimmen des UV-Lasers resonant ein Schwingungsniveau des ersten elektronisch angeregten Zustands (S_1) populiert, so kann durch Absorption eines weiteren Photons das Molekül ionisiert werden (D_0). Bei der R2PI-Spektroskopie sind die Frequenzen der beiden Photonen ν_1 und ν_2 gleich, bei der Zweifarben Anregung (2 Farben R2PI) ist $\nu_1 \neq \nu_2$

b) IR/R2PISpektroskopie: ein IR-Laser wird ca. 50 ns vor dem Analyse- und Ionisationslaser (UV) eingestrahlt, die UV-Laser erzeugen ein konstantes Ionensignal. Regt nun der IR-Laser resonant eine Schwingung im Molekül an, so wird der Grundzustand, aus dem in den S_1 angeregt und anschließend ionisiert wird, depopuliert und man verzeichnet einen Einbruch im Ionensignal.

4.2 MATI-Spektroskopie zur Analyse von Kationen

Spektroskopisch gesehen ist die MATI-Spektroskopie (Mass Analysed Threshold Ionisation) eng verwandt mit der zwei Farben R2PI und basiert auf der ZEKE-Spektroskopie (ZEro Kinetic Energy). Wie ich im weiteren Verlauf noch beschreiben werde, ist jedoch apparativ gesehen eine Modifikation vorzunehmen, um die MATI Ionen detektieren zu können.

Die ZEKE-Spektroskopie wurde erstmals von Müller Dethlefs, Sander und Schlag 1988 vorgestellt⁵⁵⁻⁵⁸. Es handelt sich um die Spektroskopie von Elektronen, wodurch folglich jegliche Masseninformaton verloren geht. Müller Dethlefs *et al.* strahlten genau am IP einer Substanz ein und schalten zwischen den Laserschuss und den Abzugspuls eine Verweilzeit, wodurch sich die bei der Ionisation des Moleküls durch die UV-Photonen entstandenen Elektronen mit Überschussenergie von denen ohne Überschussenergie räumlich separierten. Die Überschussenergie kann in Elektronen nur in Form von kinetischer Energie gespeichert werden. Hat ein Molekül vor der Separation einen Energiegehalt, der oberhalb des IPs liegt, so kann ein Teil der Energie oder der ganze Betrag auf das Elektron in Form von Bewegungsenergie übertragen werden. Entspricht der Energiebetrag jedoch exakt dem IP, so wird das Elektron nur abgetrennt und verweilt in unmittelbarer Nähe. Lässt man nun eine kurze Zeit nach der Ionisation verstreichen, so werden sich die Elektronen mit Überschussenergie aus dem Abzugsvolumen herausbewegen. Nach Aufschalten der Abzugsspannung können nun nur noch die Elektronen nachgewiesen werden, die keine kinetische Energie besaßen, da nur diese sich noch im Abzugsvolumen der Beschleunigungseinheit befinden.

Dadurch konnte die Auflösung, die bei der PES bei ca. 80 cm^{-1} liegt, deutlich verbessert werden.

Den Durchbruch erreichte die ZEKE-Spektroskopie 1991 durch die Entwicklung der PFI/ZEKE (Pulsed field ZEKE)⁵⁹, die dann nachher zur MATI-Spektroskopie weiterentwickelt wurde.

Auch bei der MATI-Spektroskopie handelt es sich um eine Doppelresonanzspektroskopie, jedoch werden hier entgegen der PES nicht Elektronen, sondern die ionisierten Moleküle spektroskopiert, wodurch die massenselektive Komponente bei dieser Spektroskopieart erhalten bleibt.

Mit dem ersten Laser wird festfrequent ein (meist der 0-0) Übergang im S_1 angeregt. Der zweite Laser, wiederum zeitgleich eingestrahlt, wird durchgescannt (das Anregungsschema ist in Abb. 20 a wiedergegeben).

Unterhalb des IPs existiert ein Bereich von ca. $5-10 \text{ cm}^{-1}$ Breite, der *magic region* genannt wird, indem eine hohe Dichte von langlebigen Rydbergzuständen existiert. Bestrahlt man die Substanz mit einem Laser der entsprechenden Frequenz, so werden die langlebigen Rydbergzustände angeregt und man erzeugt die so genannten Rydbergneutralen, also Moleküle mit einem extrem hoch angeregten Elektron ($n > 80$). Durch diese Anregung ist das Elektron so weit vom Kern entfernt, dass sie praktisch keine Wechselwirkung mehr von einander verspüren. Trotz des hoch angeregten Elektrons verhalten sich die Rydbergneutralen immer noch wie Neutralteilchen, da sie nach außen hin immer noch ungeladen sind. Diese Rydbergzustände können eine Lebensdauer von mehr als $10 \mu\text{s}$ haben. Legt man nun ein schwaches elektrisches Feld an den Molekularstrahl an, so separieren sich die direkten Ionen von den Rydbergneutralen parallel zu der feldfreien Verweilzeit der ZEKE-Spektroskopie.

Das angelegte elektrische Feld (F) führt zu einer Absenkung des Ionisationspotentials (siehe Abb. 19). Diese muss

im diabatischen Fall mit

$$\Delta E = 4 * \sqrt{F/V * \text{cm}^{-1}}$$

und

im adiabatischen Fall mit

$$\Delta E = 6 * \sqrt{F/V * \text{cm}^{-1}}$$

korrigiert werden⁶⁰⁻⁶².

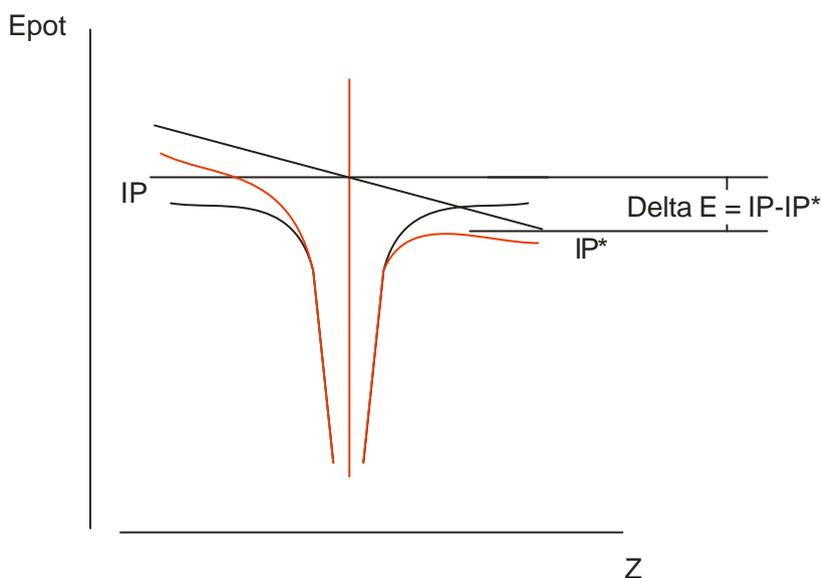


Abb. 19 (A) Diabatatische Absenkung des IPs durch die Trennungsspannung bei der MATI-Spektroskopie

Durch die wesentlich höhere Masse der MATI Ionen gegenüber den Elektronen der Photoelektronenspektroskopie, müssen stärkere Felder von ca. 0,5-2V/cm angelegt werden als bei der ZEKE-Spektroskopie. Dadurch wird das IP deutlich stärker gestört, wodurch bei der MATI-Spektroskopie die großen Quantenzahlen ($n > 300$) nicht spektroskopiert werden.

Je nach Orientierung des Trennpulses bezüglich des Abzugspulses, treffen die beim Abzugspuls ionisierten Rydbergneutralen (MATI Ionen) früher oder später am Detektor ein. Günstig ist es, das Feld so anzulegen, dass sich die Flugzeit der direkten Ionen im Vergleich zu einer Flugzeit ohne Trennpuls verlängert (Trennpuls mit umgekehrter Orientierung zum Abzugspuls), da dann die MATI früher als die direkten Ionen eintreffen und nicht vom M+1 Peak (verursacht durch das ^{13}C -Isotop), der bei schwereren Molekülen immer sichtbar ist, überlagert wird. Strahlt man mit einer Frequenz kurz unterhalb dieses magischen Bereiches ein, so registriert man auf der Spur der direkten Ionen praktisch kein Signal (keine Ionen), da hier die Dichte der langlebigen Rydbergzustände zu gering ist. Erhöht man die Frequenz des einstrahlenden Lasers geringfügig, so dass sich stabile Rydbergzustände ausbilden, so steigt die Anzahl der entstehenden Ionen

sprunghaft an. Auf der Massenspur der MATI Signale entsteht ein Signal, das bis zu 50 % des direkten Ionensignals ergeben kann. Erhöht man die Frequenz weiter, so nimmt das MATI Signal wieder bis auf Null ab und das Ionensignal verbleibt auf einem konstanten Wert.

Genau das gleiche Verhalten, wie knapp unterhalb des IPs, zeigt sich auch, wenn man knapp unterhalb einer Schwingungsbande im Ion anregt. Man erhält somit auf der Spur der direkten Ionen ein treppenförmiges Spektrum, dessen Intensität stufenartig an den Ursprüngen der MATI Signale zunimmt. Auf der Spur der MATI Signale sieht man immer dann ein Signal, wenn die Differenz zu dem Ursprungsspektrum genau der Frequenz einer Schwingung im Ion entspricht.

Aufgrund zu kleiner Franck-Condon Faktoren und zu geringer Lebensdauer bei zu hoher Schwingungsanregung ist es häufig nicht möglich MATI-Spektren in einem Bereich $>1500\text{ cm}^{-1}$ oberhalb des Ursprunges zu messen, was zusätzlich noch durch immer stärker werdende Autoionisation bei größer werdender Überschussenergie im Ion einhergeht.

Das soeben beschriebene treppenförmige Spektrum wird als das Ionenstromspektrum bezeichnet. Auch ohne eine MATI Apparatur kann es gemessen werden. Unter seiner Zuhilfenahme ist es auch dann möglich das IP einer Substanz zu bestimmen. Ist die Geometrieänderung beim Übergang von S_1 nach D_0 nur sehr gering, so bilden sich deutliche Stufen bei jedem Schwingungsübergang aus. Beim ersten Auftreten eines Ionenstromes ist das IP zu verzeichnen. Findet bei der Ionisation aus dem S_1 eine starke Geometrieverzerrung des Moleküls statt, so ist es häufig nicht möglich MATI-Spektren, wie sie in Kap. 1.1 beschrieben wurden, aufzuzeichnen. Dann ist man alleine auf das Ionenstromspektrum angewiesen. Leider ist in den Fällen starker Geometrieänderung bei der Anregung die Form der Stufen nur sehr schwach ausgeprägt. Meist ist dann nur ein mehr oder weniger gleichförmiger Anstieg im Ionenstrom zu erkennen, wodurch sich das IP nur grob abschätzen lässt.

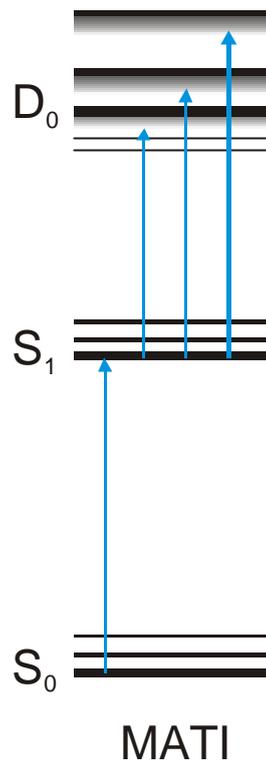


Abb. 20 MATI-Spektroskopie: Ein UV-Laser wird festfrequent auf einen $S_1 \rightarrow S_0$ Übergang eingestellt und ein zweiter UV-Laser durchgescannt. Kurz vor Erreichen des IPs oder einer Schwingungsbande im Ion (D_0) durch den zweiten UV-Laser (magic region, Bereich ca. 10 cm^{-1}) werden langlebige Rydbergneutrale erzeugt. Die direkten Ionen werden durch ein schwaches elektrisches Feld abgelenkt. Durch die Abzugsspannung des Massenspektrums werden die Rydbergneutralen autoionisiert und treffen zeitlich versetzt zu den massengleichen direkten Ionen am Detektor ein.

Einleitung Aminosäuren und Peptide

Die Aminosäuren stellen die Bausteine von Peptiden dar. Die Aminosäuren in der Gasphase enthalten eine azide Carbonsäure (COOH) und eine basische Aminogruppe (NH₂).

Bei Peptiden liegen die COOH- und NH₂-Gruppen lediglich bei den terminalen (endständigen) Aminosäuren frei vor, zwischen den verschiedenen Aminosäuren der Kette bilden sie die Amidgruppe aus (siehe Kap. 2.4.a).

Die hier vorgestellten Arbeiten stellten die ersten IR/R2PI-Untersuchungen von Peptiden dar. Ein wichtiger Bestandteil dieser Peptide ist die Amidbindung. Zur Beschreibung der Bindungsverhältnisse der Amidbindung im Peptid, wurden zuvor verschiedene Modellsubstanzen herangezogen, jedoch bis dahin noch keine Untersuchungen am Peptid selbst.

Eine solche Substanz stellt das N-Methylacetamid⁶³ dar, das bereits 1991 von Kikujiro Ishii *et al.*⁶⁴ untersucht wurde. Weitere Untersuchungen wurden unter anderem von Simons *et al.* an Amiden wie N-Benzylformamid^{65,66,67} (NBFA), N-Phenylformamid⁶⁸ (NPFA), Formanilid⁶⁹ und Oxindol^{70,71} durchgeführt. Erste IR-UV-spektroskopische Daten lieferten die Messungen, die am 2-Pyridon vorgenommen wurden^{72,73,74}.

Phenylalanin stellt die kleinste von drei im menschlichen Organismus vorkommenden aromatischen Aminosäuren dar. In der Seitenkette befindet sich ein Phenylring, der über eine CH₂-Gruppe mit dem α -C-Atom verbunden ist.

Voruntersuchungen wurden in verschiedenen Arbeitsgruppen an Phenylalanin analogen Substanzen, Derivaten von Aminosäuren⁷⁵⁻⁸⁰ und auch im Zusammenhang mit Untersuchungen von Amiden geleistet (NBFA und NPFA)⁶⁵⁻⁶⁸.

Die konformativen Eigenschaften von isolierten Proteinbildungseinheiten, Aminosäuren und Peptide, sind seit vielen Jahren im Mittelpunkt des Interesses. Herrührend aus der hohen Flexibilität der Peptide resultiert eine große Anzahl verschiedener Konformere. In der Absicht mehr über die Treibkräfte zu erfahren, die zur Ausbildung eines bestimmten Konformers führen, können Untersuchungen an isolierten Aminosäuren und Peptiden im Molekularstrahl durchgeführt werden. Wenn die beobachteten Spezies einen aromatischen Chromophor (so wie die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin oder Tryptophan) enthalten, kann die R2P+ Spektroskopie angewendet werden. Levy *et al.* waren die Ersten, die R2P+ Spektren von den freien Aminosäuren Phe, Tyr und Trp, sowie an einigen Di- und Tripeptiden durchführten^{21,81,129}. Um Informationen über die Struktur der Aminosäuren in elektronischen Grundzustand (S_0) zu erlangen, müssen die Schwingungsfrequenzen von wichtigen funktionellen Gruppen gemessen werden. Die IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie erwies sich als hervorragende Methode um IR-Spektren von unterschiedlichen neutralen Spezies in S_0 -Zustand aufzunehmen. In Kombination mit Kraftfeld-, *ab initio*- und DFT- (Density Functional Theory) Rechnungen können strukturelle Zuordnungen getroffen werden.

Erste Anwendung der IR/R2P+Technik wurden von Simons *et al.* an den Aminosäuren Phenylalanin und Tryptophan⁸² durchgeführt. Die IR-Spektren wurden im Bereich der N-H- und O-H-Streckschwingungen aufgezeichnet. Bei vielen Isomeren wurden aufgrund der IR-Spektren intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen von der COOH- zur NH₂-Gruppe festgestellt. In einer aktuellen Veröffentlichung beobachteten Bakker *et al.* den Fingerprint-Bereich von Tryptophan von 330-1500 cm⁻¹ unter Verwendung eines *free electron laser* als IR-Lichtquelle.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die geschützten Aminosäuren AcPheOMe^{90,91} (Ac=Acetyl und Me=Methyl) und AcPheNHMe⁸³ untersucht (siehe Kap.5 und Kap.6). In diesen Studien wird nicht nur der Bereich der N-H-Streckschwingungen

sondern auch der struktursensitive Bereich der C=O-Streck- und N-H-Biegeschwingungen (ca. 1500-1800 cm^{-1}) betrachtet. Häufig ist die Kenntnis der genauen Lage der C=O-Streckschwingungsfrequenzen unumgänglich zur einwandfreien Aufklärung der strukturellen Anordnung. Zur Öffnung des neuen spektralen Fensters im Bereich von 1700 cm^{-1} für die Nanosekunden-IR/R2PI-Spektroskopie von C=O-Streckschwingungen wurde ein neues Lasersystem⁵¹ konstruiert.

Zwier *et. al.* untersuchten die geschützten Aminosäuren AcTrpNH₂ und AcTrpNHMe im Bereich der N-H-Streckschwingungen mit Hilfe der IR/LIF-Spektroskopie (Laser Induced Fluorescence)¹²¹. Drei (zwei) verschiedene Isomere des AcTrpNHMe (AcTrpNH₂) konnten beobachtet werden. Um die konformellen Dynamiken beim AcTrpNHMe nach der Schwingungsanregung zu beschreiben wurde die neue hole-filling-Spektroskopie angewandt¹²⁰.

Das Rückgrat der (geschützten) Aminosäuren und Peptide wird charakterisiert über einen Satz von Torsionswinkeln ϕ und ψ für jede Aminosäure (Ramachandranplot)^{80,84}. Weiterhin wird die Seitenkettenkonfiguration über die beiden Dihedralwinkel χ_1 und χ_2 beschrieben. Im Falle einer β -Faltblattanalogen Anordnung (β_L) liegen die Winkel ϕ und ψ im Bereich von $-180^\circ < \phi < -120^\circ$ oder $180^\circ < \phi < 120^\circ$ und $-180^\circ < \psi < -120^\circ$ oder $180^\circ < \psi < 120^\circ$. In dieser Anordnung liegen die N-H- und die C=O-Gruppen annähernd parallel zu einander. Strukturen, die eine intramolekulare H-Brücken zwischen der N-H- und der C=O-Gruppe ausbilden können γ_L -Anordnungen formen. Die Winkeln für ϕ und ψ im Rückgrat liegen dabei zwischen: $-120^\circ < \phi > 0^\circ$; $0^\circ < \psi < 120^\circ$. Eine genaue Beschreibung der Nomenklatur in Bezug auf die Winkel wird in Kapitel 2.4.b gegeben.

Im Unterschied zu ungeschützten Peptiden können die geschützten Spezies (am N- und C-Terminus) keine intramolekularen H-Brücken über die polaren Endgruppen ausbilden. Die Schutzgruppen führen zu einer stärkeren Selektivität der Konformationen.

Experimentelle Studien an größeren Systemen wie Di- und Tripeptiden, sind sehr selten. Das erste IR/R2PI-Spektrum eines Dipeptids wurde in dieser Arbeitsgruppe

am System AcValPheOMe⁸⁵ durchgeführt und wird in Kap. 8 behandelt. Die IR-Spektren sind sowohl im Bereich der C-H- und N-H- sowie auch der C=O-Streckschwingungen aufgenommen worden. In aktuellen Veröffentlichungen haben auch andere Arbeitsgruppen die Anwendung der IR/R2PI-Spektroskopie auf Peptide erweitert. Diese enthalten unter anderem die Aminosäuren Glycin⁸⁶, Phenylalanin und Prolin⁸⁷. In diesem Zusammenhang sollte auch die UV/UV-lochbrennspektroskopischen⁸⁸ Untersuchungen erwähnt werden, die auch an Dipeptiden^{130,89} durchgeführt wurden.

5 AcPheOMe

5.1 Stand der Forschung

Erste Messungen an der ungeschützten Aminosäure Phenylalanin (Phe) wurden bereits 1992 von Levy und Mitarbeitern durchgeführt. Die gemessenen LIF-Spektren (Laser Induzierte Fluoreszenz) wurden im Bereich von 37520 cm^{-1} und 37625 cm^{-1} aufgenommen. Im Spektrum waren fünf ähnlich starke Banden zu erkennen, die als Ursprünge fünf unterschiedlicher Isomere des Phenylalanins identifiziert werden konnten.

Simons und Mitarbeiter führten im Jahre 2000 weitere Untersuchungen am Phenylalanin durch. Sie fanden im R2PI-Spektrum im Bereich bis 37660 cm^{-1} neben den von Levy gefundenen 5 Isomeren, noch ein weiteres Isomer. Alle sechs Isomere konnten durch Vergleich der spektroskopischen Daten aus den gemessenen R2PI- und UV-Lochbrennspektren mit theoretischen Berechnungen unterschiedlichen Isomeren zugeordnet werden.

In unserem Arbeitskreis wurden zunächst Untersuchungen an der geschützten Aminosäure AcPheOMe durchgeführt⁹⁰. Die freie Aminosäure wurde am N-Terminus acetyliert (Ac) und am C-Terminus methyliert (OMe).

Durch die Einführung dieser Schutzgruppen werden die polaren Endgruppen blockiert. Die polarsten Gruppen sind danach in der Seitenkette lokalisiert. Durch die Blockade wird eine intramolekulare Schutzgruppe verhindert. Alle Isomere mit intramolekularer H-Brücke können somit ausgeschlossen werden, eine Struktur mit einem vollständig gestreckten Rückgrat, eine β_L -Struktur, wird dadurch begünstigt. Des Weiteren sollte auch durch die Größe der Schutzgruppen (deutliche Vergrößerung gegenüber den verdrängten Wasserstoffen) eine

gestreckte Struktur (β_L) gegenüber einer mit gebogenem Rückgrat (α -Helix oder γ -Struktur) bevorzugt werden.

5.2 R2PI-Spektrum des AcPheOMe

Das Spektrum wird dominiert von einer einzigen Spezies. Das in Abb. 21 wiedergegebene R2PI-Spektrum des AcPheOMe zeigt den Ursprung des Konformeres bei 37579 cm^{-1} und verschiedene Schwingungsbanden bei 187 cm^{-1} , 381 cm^{-1} , 417 cm^{-1} , 446 cm^{-1} , und 537 cm^{-1} relativ zum Ursprung des Isomers. Dass es sich hierbei lediglich um Schwingungsbanden handelte, konnte mittels der IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie eindeutig nachgewiesen werden. Die IR-Spektren über alle Anregungswellenlängen zeigten dieselben Schwingungsbanden (siehe Abb. 22).

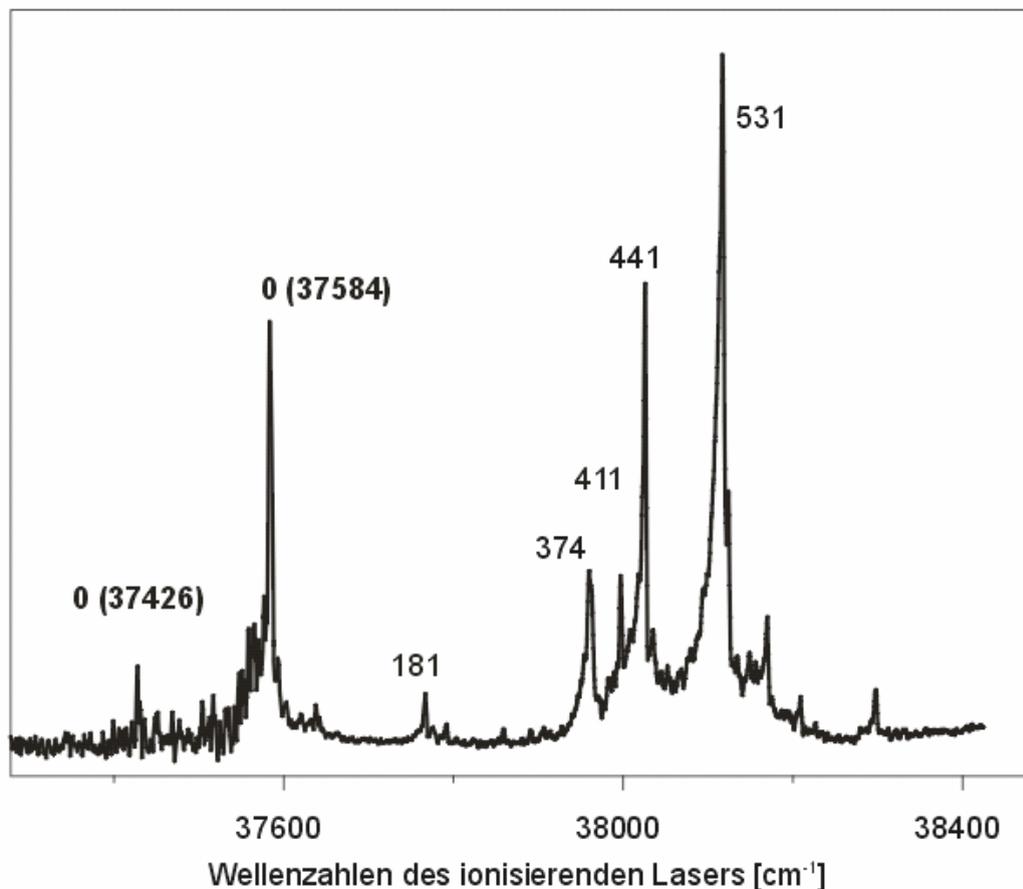


Abb. 21 R2PI-Spektrum des AcPheOMe von 37400-38450 cm^{-1} mit den Ursprüngen der beiden Isomere bei 37426 cm^{-1} und 37584 cm^{-1}

Wie im Spektrum zu erkennen ist, befindet sich rot vom Ursprung dieses einen Isomers noch eine weitere kleine Bande bei 37423 cm^{-1} und damit 156 cm^{-1} zu niedrigeren Energien verschoben. Durch die gemessenen IR-Spektren konnte gezeigt werden dass es sich hierbei ein zweites Konformer handelt, das eine wesentlich geringere Intensität als das dominierende Konformer besitzt.

5.3 IR/R2PI-Spektren

5.3.a S₀-Spektren im N-H-Bereich

Die Zuordnung der Banden im R2PI-Spektrum zu den entsprechenden Konformeren, erfolgte mittels der IR/R2PI-Doppelresonanzspektroskopie. Es wurden die S₀-Spektren im Bereich der NH-, C-H-Streckschwingungen (2800-3500 cm⁻¹) jeweils über die Ursprünge der beiden Isomere bei 37426 cm⁻¹ und 37584 cm⁻¹ gemessen. Sie sind in Abb. 22 wiedergegeben. Bis auf eine Schwingung, liefern alle Übergänge im R2PI-Spektrum die gleichen Schwingungsbanden in diesem Frequenzbereich. Deutlich sind zwei Schwingungen im Bereich der N-H-Streckschwingungen zu erkennen. Für das sehr starke Isomer I werden Schwingungsfrequenzen von 3397 cm⁻¹ und 3458 cm⁻¹ erhalten. Wie im Inset der Abb. 22 zu erkennen ist, unterscheidet sich die N-H-Streckschwingung bei resonanter Anregung über die Bande bei 37423 cm⁻¹ (Isomer II) um 5 cm⁻¹ (hier 3363 cm⁻¹) von dem entsprechenden Wert der N-H-Streckschwingung bei Anregung über 37579 cm⁻¹.

.

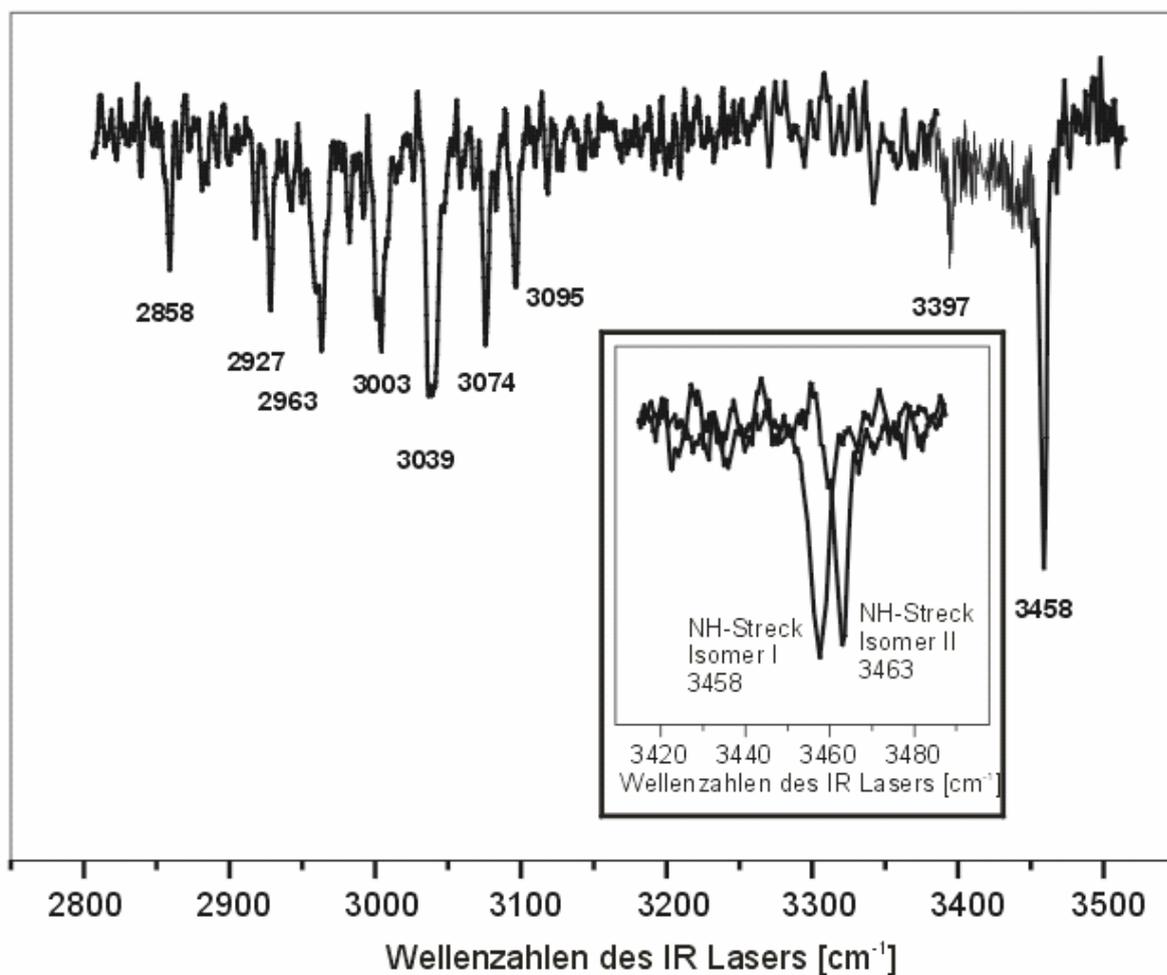


Abb. 22 IR/R2PI-Spektrum von 2800-3500 cm^{-1} im N-H-Bereich beider Isomere

5.3.b S_0 -Spektren im C=O-Bereich

Im Bereich der C=O Schwingungen konnte das IR/R2PI-Spektrum lediglich über den Ursprung des intensiveren Isomers bei 37584 cm^{-1} aufgenommen werden⁹¹. Der Bereich der IR-Spektren wurde dadurch um den Bereich von 1450-1800 cm^{-1} erweitert. Wie in Abb. 23 zu sehen ist, sind im Bereich der C=O-

Streckschwingungen zwei intensive Banden bei 1708 cm^{-1} und 1763 cm^{-1} zu registrieren.

Eine weitere schwache Bande ist bei 1506 cm^{-1} zu erkennen, sie liegt jedoch nicht im charakteristischen Bereich der C=O-Streckschwingungen.

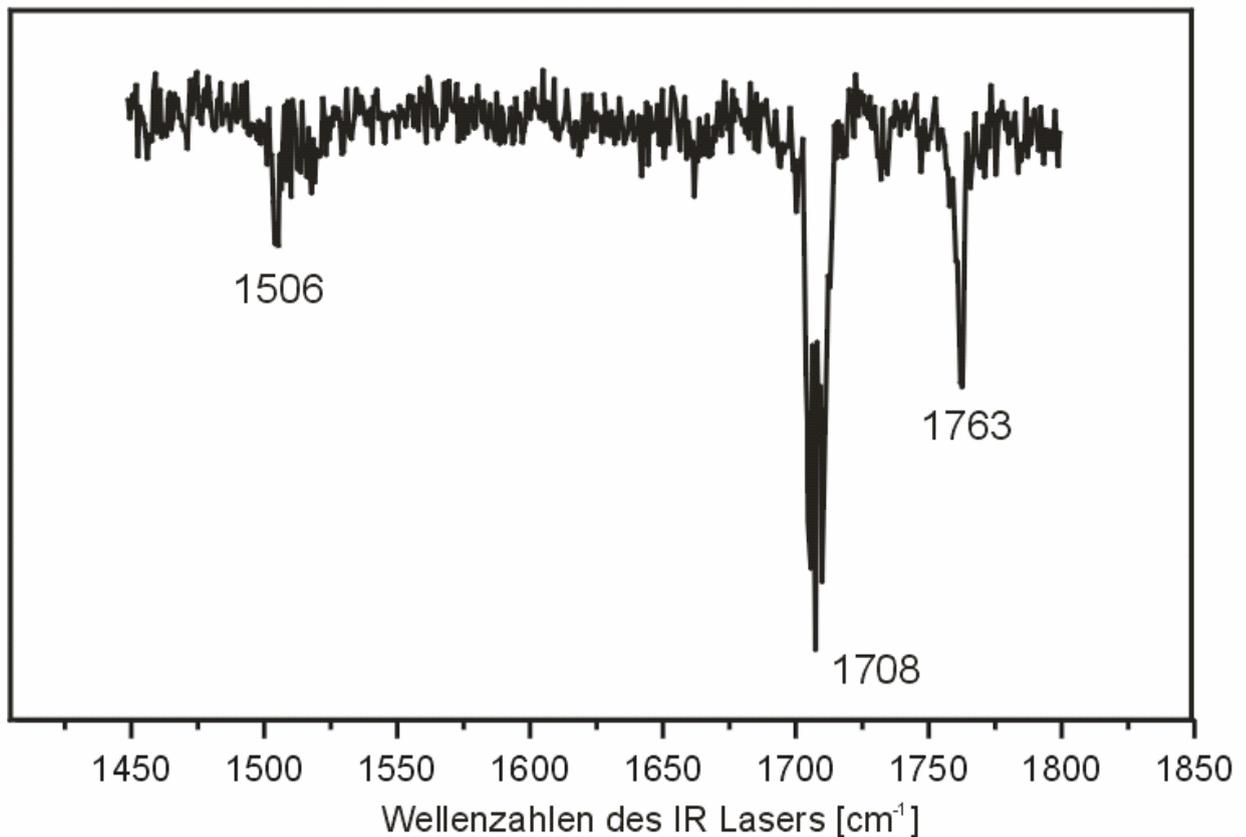


Abb. 23 IR/R2PI-Spektrum im C=O-Bereich von $1450\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ des prominenten Isomers (Anregung über die Bande bei 37584 cm^{-1})

5.4 Diskussion der Ergebnisse

Parallel zu den experimentellen Untersuchungen wurden Berechnungen am System AcPheOMe durchgeführt. Die Rechnungen wurden auf DFT Niveau mit einem B3LYP-Funktional und einem 6-31+G(d,p) Basissatz durchgeführt und mit der Nullpunktsenergie korrigiert. Die Notation der Konformere erfolgte dabei nach der für Peptide entwickelten Zuordnung nach Ramachandran (siehe Kap. 2.4.b).

Alle im weiteren Verlauf diskutierten Berechnungen wurden mit dem Programm Gaussian 98⁹² durchgeführt.

Die Startgeometrien für die DFT Rechnungen wurden in jedem der neun Felder des Ramachandranplots mit jeweils den drei verschiedenen Einstellungen für χ_1 gewählt. Der Winkel χ_1 beschreibt dabei die Einstellung der Seitenkette, wie es in Kap 2.4.c bereits eingehend beschrieben wurde. Da die drei Torsionswinkel ϕ , ψ , und χ_1 jeweils drei bevorzugte Winkeleinstellungen einnehmen können, ergeben sich 27 unterschiedliche Konformere (9 verschiedene Rückgratkonfigurationen multipliziert mit den drei verschiedenen Einstellungen der Seitenkette durch χ_1). χ_2 konnte bei dieser Betrachtung vernachlässigt werden, da sich bei allen Berechnungen der Winkel χ_2 bei ca. 90° einstellte. Bei 90° steht die Ebene des Phenylrings im rechten Winkel zu C^α - C^β Achse.

Unter der Prämisse, dass sowohl eine trans- ($\phi \sim 180^\circ$), als auch ein cis-Konfiguration ($\psi \sim 180^\circ$) der Amidbindung vorliegen könnte, würde sich die Zahl der möglichen Konformere auf 54 verdoppeln. Da die Berechnungen für Konformere mit cis-ständiger Anordnung der Amideinheit eine um ca. 2000 cm^{-1} höhere Energien ergeben haben, wurden im weiteren Verlauf nur Strukturen mit trans-Konfiguration in Betracht gezogen und diskutiert. Die drei unterschiedlichen Orientierungen von χ_1 werden mit „g+“ (gauche plus, $+60^\circ$), „g-“ (gauche minus, -60°) und mit „anti“ bei $\chi_1=180^\circ$ bezeichnet (siehe Abb. 12).

Die Energien und zugehörigen Winkel der zwölf energetisch niedrig liegendsten Konformationen, sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Nullpunktsenergien der relativen Energien wurden unter Zuhilfenahme der harmonischen Frequenzen korrigiert.

Wie die Berechnungen zeigen, sind die beiden stabilsten Strukturen die Konfigurationen mit $\beta_L(g+)$ und $\beta_L(a)$ Anordnung des Rückgrates, die eine relative Energiedifferenz von 112 cm^{-1} aufwiesen. Identische Ergebnisse lieferten Berechnungen auf Hartree-Fock Niveau (HF). Bis auf drei weitere Strukturen ($\beta_L(g-)$ -, $\delta_D(g+)$ - und $\gamma_L(g+)$ -Anordnung) liegen alle weiteren möglichen Isomere im Bereich von 800 cm^{-1} oberhalb der stabilsten Anordnung. Um die Zuverlässigkeit der Berechnungen zu bestätigen, wurden die Berechnungen für die fünf stabilsten Konformationen mit dem höheren 6-311++G(d,p) triple Zeta Basissatz überprüft, wobei sich die Abfolge der verschiedenen Isomere nicht ändert. Auch hier bilden die beiden β_L -Strukturen ($\beta_L(g+)$ - und $\beta_L(a)$), die auch mit dem niedrigeren Basissatz die stabilsten Konformere darstellen, mit einer Energiedifferenz von 120 cm^{-1} die energetisch günstigsten Anordnungen. Die drei verbleibenden Strukturen ($\beta_L(g-)$, $\delta_D(g+)$ und $\gamma_L(g+)$) sind energetisch gesehen $400\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ instabiler.

Die Änderung der Konformation beider Isomere beschränkt sich auf die Seitenkette der Aminosäure, was den nur geringen Energieunterschied der beiden Systeme erklärt.

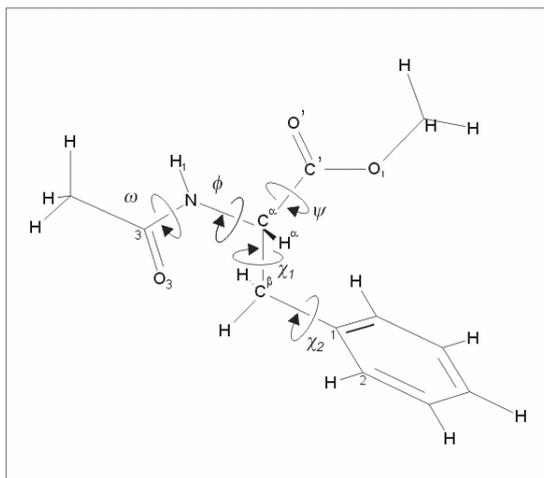


Abb. 24 Struktur der beiden Isomere des AcPheOMe

Die Winkeleinstellungen von ϕ und ψ bei den beiden stabilsten Strukturen $\beta_L(g+)$ und $\beta_L(a)$ geben sehr gut die Konfiguration wieder, wie sie von Peptiden in einer antiparallelen β -Faltblattanordnung eingenommen werden. Sie unterscheiden sich lediglich in der Stellung der Seitenkette (Tolylrest) in Bezug auf das Rückgrat um 120° .

Notation	ϕ	ψ	χ_1	χ_2	ω	$DE[\text{cm}^{-1}]$
$a_D(g+)$	40.0	47.6	49.9	84.6	178.1	2480
$a_D(a)$	53.1	43.3	-145.1	91.1	175.1	1761
$a_D(g-)$	54.3	36.1	-62.5	99.4	179.3	1109
$b_L(g+)$	-153.1	172.8	63.4	94.7	-174.1	0
$b_L(a)$	-155.1	147.2	-174.1	75.0	178.9	112
$b_L(g-)$	-123.0	159.6	-61.5	100.4	167.5	370
$d_D(g+)$	-146.1	-6.9	62.9	90.9	-178.7	475
$d_D(a)$	-146.5	-49.0	-176.7	74.6	175.0	905
$e_D(g+)$	43.3	-137.3	49.1	92.3	170.2	3102
$e_D(a)$	57.9	-141.1	-154.8	67.6	165.8	1940
$e_D(g-)$	58.3	-150.2	-60.2	98.8	172.6	1279
$g_L(g+)$	-100.5	4.9	58.4	-93.3	-173.8	532
$a_L(g-)$	-81.3	-14.9	-61.5	112.1	-173.4	854

Tabelle 1 Relative Stabilitäten der stabilsten Anordnungen des AcPheOMe (DFT, B3LYB 6-31+G(d,p))

Das AcPheOMe besitzt zwei Carbonylgruppen, es sollten also im C=O-Spektrum zwei Banden im Bereich von 1700-1800 cm^{-1} zu sehen sein. Im Spektrum konnten zwei Banden bei 1708 cm^{-1} und 1763 cm^{-1} identifiziert werden.

Die Frequenzberechnungen wurden auf Hartree-Fock Niveau mit einem kleineren *double Zeta* 3-21G(d) Basissatz durchgeführt, um eine bessere Abschätzung mit den Berechnungen für das Dimer (AcPheOMe)₂ geben zu können (siehe Kapitel 5.5). Weiterhin wurden DFT-Rechnungen mit B3LYP-Funktional und einem 6-311++G(d,p) Basissatz durchgeführt, die unskalierte Frequenzen von 1729 cm^{-1} (1730 cm^{-1}) und 1777 cm^{-1} (1785 cm^{-1}) für die Streckschwingungen der $\beta_{\text{L}}(\text{a})$ und $\beta_{\text{L}}(\text{g}+)$ Konformere lieferten. Nach diesen Berechnungen können die Schwingungen der IR/R2PI-Spektren bei 1708 cm^{-1} und 1763 cm^{-1} den beiden $\text{C}_3=\text{O}_3$ - (Acetyl-Schutzgruppe) und $\text{C}'=\text{O}'$ - (Carbonylfunktion der geschützten Carbonsäure) Streckschwingungen zugeordnet werden.

Der Übergang bei 1506 cm^{-1} repräsentiert die Bande einer intensiven N-H-Biegeschwingung.

Im Spektrum der N-H-Streckschwingung sollte nur eine Bande zu beobachten sein. Beobachtet werden im IR/R2PI-Spektrum (Abb. 22) zwei Banden. Durch Kenntnis der Grundtöne der C=O-Streckschwingung lässt sich dieses Phänomen jedoch erklären. Danach ist die Bande bei 3458 cm^{-1} eindeutig der N-H-Streckschwingung zuzuordnen, die viel schwächere Bande bei 3397 cm^{-1} ist dem ersten Oberton der $\text{C}_3=\text{O}_3$ -Schwingung (Acetyl-Schutzgruppe) zuzuschreiben. Der Oberton der Carbonyl-Streckschwingung (1708 cm^{-1} , harmonischer Oberton bei 3416 cm^{-1}) weist dabei eine Anharmonizität von 19 cm^{-1} auf.

Die acht Banden im Bereich von 2858-3095 cm^{-1} sind den verschiedenen C-H-Schwingungen des AcPheOMe zuzuschreiben.

Durch Vergleich der berechneten mit den gemessenen Schwingungsfrequenzen konnten dem AcPheNHMe eine $\beta_{\text{L}}(\text{a})$ - oder $\beta_{\text{L}}(\text{g}+)$ -Struktur zugeordnet werden. Exemplarisch ist die Struktur des $\beta_{\text{L}}(\text{a})$ -Konformers in Abb. 24 dargestellt. Die drei

Banden der N-H- der C₃-O₃- und der C'=O'-Schwingung können sehr gut mit einer $\beta_L(a)$ und $\beta_L(g+)$ - Anordnung erklärt werden. Eine eindeutige Zuordnung zu einer der beiden Konformer ist aufgrund der sehr geringen Unterschiede von nur wenigen cm⁻¹ nicht möglich. Die Unterschiede der Konformere liegen jedoch nur in der Anordnung der Seitenkette. Die N-H- und C=O- Frequenzen spektroskopieren des Rückgrat des Systems, sie sind nicht sensitiv für die Seitenkettenkonfiguration

5.5 AcPheOMe Dimer

5.6 R2PI-Spektrum des (AcPheOMe)₂

Analog zu den Untersuchungen am Monomer wurde auch beim AcPheOMe-Dimer ein R2PI-Spektrum gemessen. Es ist in Abb. 25 wiedergegeben und erstreckt sich über den Frequenzbereich von 37450- 38400 cm^{-1} . Es wird dominiert von zwei starken Banden. Die Bande bei 37537 cm^{-1} stellt den elektronischen Ursprung (0-0 Übergang) dar, die Bande +538 cm^{-1} weist einen breiten Untergrund auf. Da die Infrarotspektren der zweiten Bande bei 38075 cm^{-1} die gleichen Bandenlagen aufweisen, kann gefolgert werden, dass sie zum selben Isomer gehören. Bei der Bande handelt es sich folglich um eine Schwingungsbande.

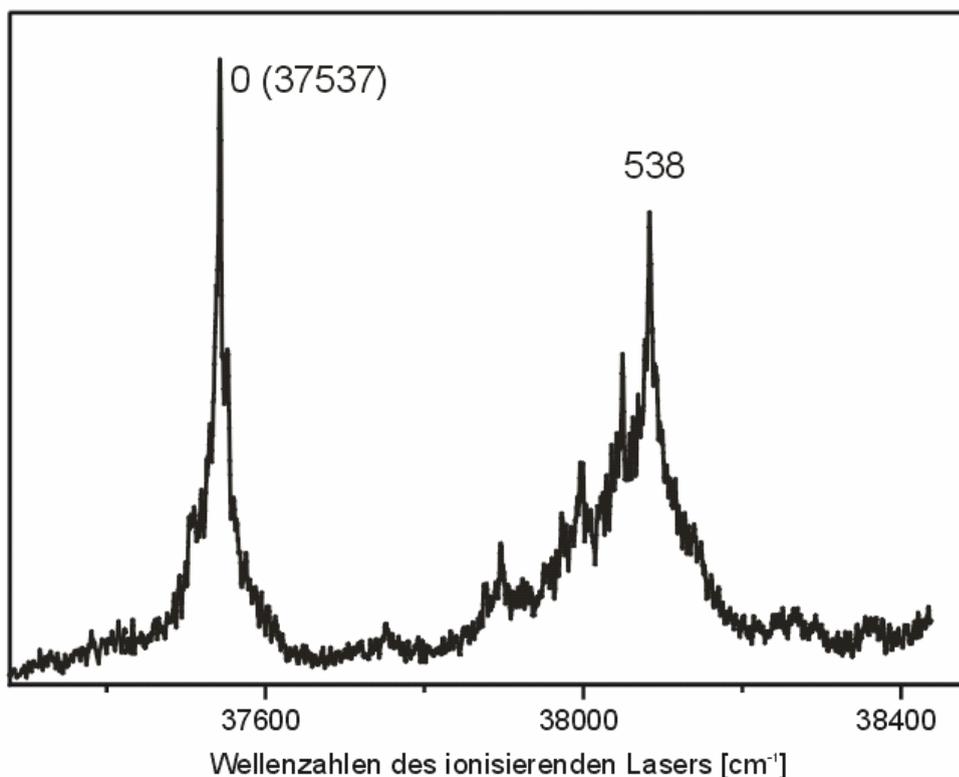


Abb. 25 R2PI-Spektrum des (AcPheOMe)₂ von 37300-38500 cm^{-1}

5.7 IR/R2PI-Spektren

5.7.a IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich

Das IR/R2PI-Spektrum wurde aufgenommen über den elektronischen Ursprung bei 37537 cm^{-1} . Zwei Übergänge (siehe Abb. 26) bei 3363 cm^{-1} und 3389 cm^{-1} können beobachtet werden, jedoch keine oberhalb von 3400 cm^{-1} .

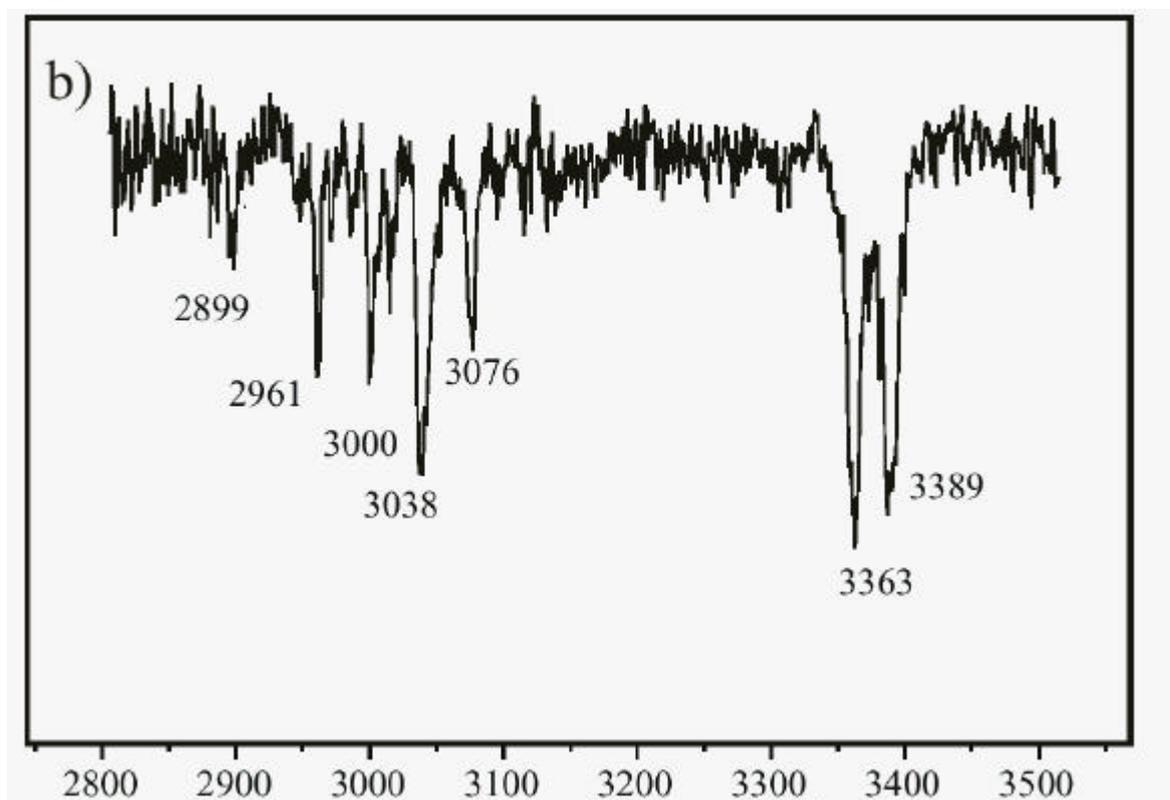


Abb. 26 IR/R2PI-Spektrum (AcPheOMe)₂ im N-H-Bereich von 2800-3500 cm⁻¹

5.7.b S_0 -Spektren im C=O-Bereich

Auch das IR/R2PI-Spektrum im Bereich der C=O-Streckschwingungen wurde über die Bande bei 37537 cm^{-1} aufgezeichnet. Deutlich sind im Bereich von $1700\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ zwei getrennte Banden zu erkennen. Die Maxima der Übergänge liegen bei 1707 cm^{-1} und 1752 cm^{-1} (Abb. 27).

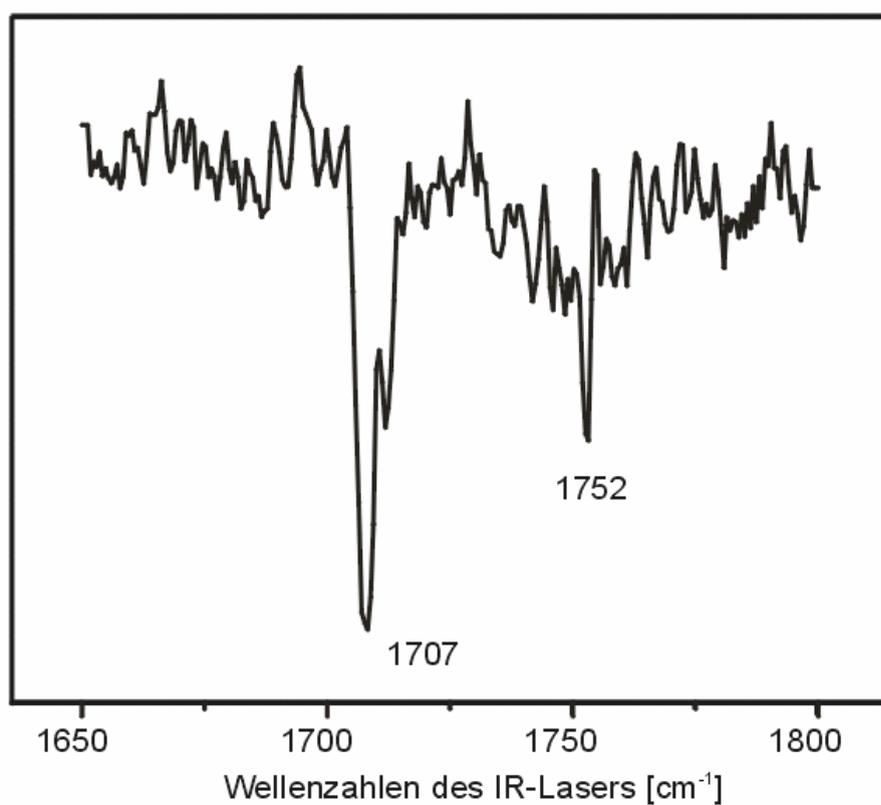


Abb. 27 IR/R2PI-Spektrum (AcPheOMe)₂ im C=O-Bereich von $1650\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$

5.8 Diskussion der Ergebnisse

Im N-H-Spektrum ist keine Bande oberhalb von 3400 cm^{-1} lokalisiert. Es kann daraus gefolgert werden, dass keine freien N-H Bindungen im Dimer mehr vorliegen, sondern beide N-H-Gruppen in Wasserstoffbrücken gebunden sind. Es handelt sich also um eine doppelt H-Brücken gebundene Struktur. Die Ausbildung von zwei Wasserstoffbrücken ist besonders einfach bei β_L -Konformeren, da dort, im Gegensatz zu anderen geometrischen Anordnungen, die N-H-Gruppe und die Carbonylfunktion des Carbonsäurerestes annähernd parallel zueinander verlaufen. Dies erlaubt die Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen ohne starke Verzerrungen im Rückgrat. Das Auftreten von zwei Übergängen mit so deutlich unterschiedlichen Frequenzen ist auf den ersten Blick verwunderlich. Unter der Annahme eines symmetrischen Dimers (aufgebaut aus zwei Monomeren identischer Konformation), sollten die Übergänge der beiden antisymmetrischen N-H-Schwingungen bei derselben Frequenz erwartet werden. Jedoch wurde bei den Untersuchungen des AcPheOMe Monomers im Bereich der N-H-Streckschwingungen auch ein Oberton einer C=O-Streckschwingung bei 3397 cm^{-1} beobachtet.

Zur leichteren Interpretation des N-H-Spektrums wird daher zuerst das C=O-Spektrum eingehender betrachtet. Im C=O-Spektrum des Dimers konnten zwei Übergänge gemessen werden, eine bei 1707 cm^{-1} und eine bei 1752 cm^{-1} .

Die Bande der $\text{C}^3=\text{O}^3$ -Schwingung (Abb. 28) ist im Monomer mit nur 1 cm^{-1} Abweichung bei 1708 cm^{-1} zu beobachten. Die Schwingung der zweiten Bande weist eine Rotverschiebung von 11 cm^{-1} gegenüber dem Monomer (1763 cm^{-1}) auf. Und liegt bei 1752 cm^{-1} . Unter Annahme einer zweifach brückengebundenen Struktur, wie sie für das Dimer im Abb. 28 dargestellt ist, erklärt sich eine solche Verschiebung durch die intermolekulare H-Brücke zur N-H-Gruppe des gegenüberliegenden Moleküls.

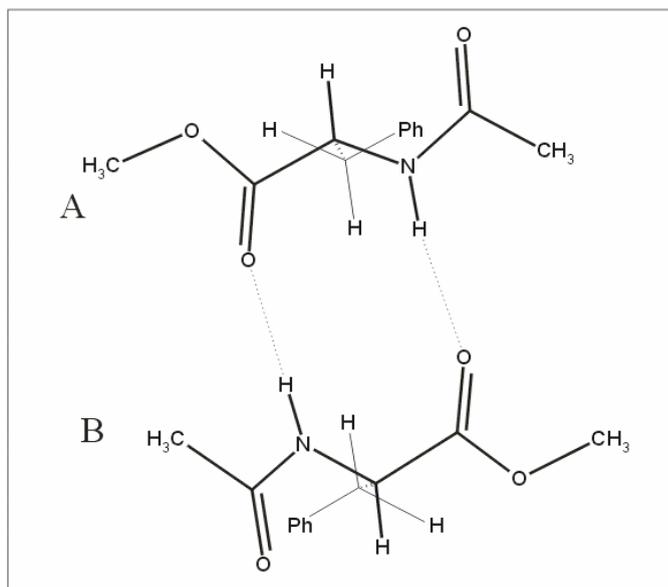


Abb. 28 Struktur des stabilsten doppelt H-Brücken gebundene AcPheOMe-Dimers in $[(b_L(g+)-b_L(g+))$ Anordnung

Zum Vergleich mit den experimentellen Werten, wurden theoretische Berechnungen durchgeführt. Aufgrund der Größe des Systems konnten nur Hartree-Fock (HF) Rechnungen mit dem kleineren 3-21G(d) Basissatz durchgeführt werden. Die für das Monomer zusätzlich durchgeführten Berechnungen auf gleichem Niveau und DFT Rechnungen mit einem B3LYP Funktional und 6-311++G(d,p) Basissatz wären für ein solches System auf den zur Verfügung stehenden Ressourcen nicht möglich gewesen.

Die Berechnungen zeigten, dass aufgrund der relativen Stabilitäten sowohl symmetrische Dimere ($[(\beta_L(a)-\beta_L(a))$ und $[(\beta_L(g+)-\beta_L(g+))$] als auch ein asymmetrisches Dimer ($[(\beta_L(a)-\beta_L(g+))$] möglich sind. Da im C=O-Bereich lediglich zwei Übergänge beobachtet werden können, kann eine Struktur aus zwei konformativ unterschiedlichen AcPheOMe-Molekülen ($[(\beta_L(a)-\beta_L(g+))$] ausgeschlossen werden. Die vier involvierten Carbonylbanden müssten bei einem gemischten Dimer unterschiedliche Schwingungsfrequenzen zeigen. Lediglich Dimere, die aus konformativ gleichen Monomeren aufgebaut sind, lassen nur zwei Banden im C=O-Bereich zu.

Durch im Anschluss an die ab initio Berechnungen durchgeführte Frequenzläufe für die verbliebenen beiden Isomere konnten die theoretisch ermittelten Frequenzen den aus den Spektren gemessenen gegenübergestellt werden (siehe Tabelle 2).

Die theoretischen Frequenzen wurden mit den für das AcPheOMe-Monomer erhaltenen Skalierungsfaktoren an die experimentellen Frequenzen angeglichen. Der Skalierungsfaktor für die N-H-Schwingungen ist 0,9067 und für die C=O-Schwingungsfrequenzen 0,9140.

Es konnte eine sehr gute Übereinstimmung für beide Konformere beobachtet werden.

	Frequenz	Intensität	Frequenz	Intensität	Exp. Freq.
Schwingung	$b_L(g+)$		$b_L(a)$		
N-H	3458	87	3458	98	3458
C'-O'	1758	137	1754	188	1763
C ₃ -O ₃	1708	238	1708	266	1708
2 * C ₃ -O ₃	3416		3416		3397
	$[b_L(g+)-b_L(g+)]$		$[b_L(a)-b_L(a)]$		
NH <i>asym.</i>	3386	850	3369	906	3363
NH <i>sym.</i>	3385	69	3369	33	n.b.
C'-O' <i>asym.</i>	1741	288	1735	138	1752
C'-O' <i>sym.</i>	1739	85	1726	5	n.b.
C ₃ -O ₃ <i>asym.</i>	1703	699	1702	1026	1707
2 * C ₃ -O ₃ <i>asym.</i>	3406		3404		3389
C ₃ -O ₃ <i>sym.</i>	1708	41	1697	29	n.b.

Tabelle 2 Berechnete und gemessene Schwingungsfrequenzen der beiden möglichen stabilen (AcPheOMe)₂-Konformere im direkten Vergleich mit den Schwingungen des Monomers (HF/3-21(G(d) Niveau), die Schwingungsfrequenzen sind mit den Skalierungsfaktoren des Monomers den experimentellen Frequenzen angepasst worden (0,9067 für die N-H- und 0,9140 für die C=O-Schwingungsfrequenzen), skaliert wurde auf die N-H- und C₃-O₃-Schwingung der Monomere

Danach kann die Bande bei 1707 cm^{-1} wieder der $\text{C}^3=\text{O}^3$ -Schwingung (theor. 1703 cm^{-1} und 1702 cm^{-1}), die zweite Schwingungsbande bei 1752 cm^{-1} der intermolekular H-brückengebundenen $\text{C}'-\text{O}'$ -Gruppe zugeordnet werden.

Die beiden symmetrischen $\text{C}=\text{O}$ -Schwingungsbanden haben viel geringerer Intensitäten und können daher nicht beobachtet werden (siehe Tabelle 2). Die Tatsache, dass die Schwingung der Ester-Carbonylbindung annähernd keine Veränderung gegenüber dem Monomer aufweist, steht im Einklang mit den theoretischen Überlegungen. Sie sind nicht in den H-Brücken integriert und erfahren somit auch keine Störung

Bei Vergleich der Längen und Winkeln auf gleichem Niveau zwischen den Berechnungen des Monomers und des Dimers, zeigt sich eine Bindungsaufweitung der NH und $\text{C}'=\text{O}'$ Bindungen von $0,004$ - $0,007\text{ \AA}$. Dies ist ein durchaus erwarteter Effekt, da beide Gruppen in die Wasserstoffbindungen integriert sind.

Durch diese Zuordnung ist jetzt auch das N-H-Spektrum eindeutig interpretierbar. Die niederfrequente Bande bei 3663 cm^{-1} gehört zur H-brückengebundenen N-H-Schwingung. Sie ist um 85 cm^{-1} gegenüber der freien Schwingung im Monomer verschoben. Die Schwingungsbande bei 3389 cm^{-1} ist, wie zuvor beim Monomer, der 1. Oberton der $\text{C}^3=\text{O}^3$ -Schwingung. Sie weist eine Anharmonizität von 18 cm^{-1} auf. Sie steht im Einklang mit der Anharmonizität, die im Spektrum des Monomers mit 19 cm^{-1} beobachtet worden ist. Die Schwingungen unterhalb von 3100 cm^{-1} gehören zu den verschiedenen C-H-Streckschwingungen im Molekül und geben keine strukturellen Aufschlüsse.

Aufgrund der geringen Unterschiede zwischen den beiden möglichen Strukturen des Dimers, sowohl in den Energien, als auch den berechneten Schwingungsfrequenzen, ist eine Zuordnung zu einem der beiden Strukturen nicht möglich (siehe Tabelle 2). Die Hauptunterschiede der beiden Strukturen $[(\beta_{\text{L}}(\text{g}+)-$

$\beta_L(g+)$ und $[(\beta_L(a)-\beta_L(a))]$ sind in der Seitenkette lokalisiert. Die Rückgratkonformation ist bei beiden Strukturen ähnlich einer β -Faltblattanordnung, wie schon zuvor beim Monomer.

Das $(AcPheOMe)_2$ stellt durch seine Struktur und die intermolekularen H-Brücken das erste spektroskopisch nachgewiesene β -Faltblattmodell in der Gasphase dar.

5.9 Zusammenfassung der Ergebnisse

Wir konnten die UV-Anregungsspektren des Phenylalanins und des AcPheOMe Dimers messen.

Nach resonanter Anregung über ihre Ursprünge konnten die Infrarot-Spektren der unterschiedlichen Spezies im Bereich ihrer C=O-Streckschwingungen (von 1600-1800 cm^{-1}) und ihrer N-H-Streckschwingungen (3200-3500 cm^{-1}) gemessen werden. Dabei wurde gezeigt, dass die Übergänge von freien N-H-Streckschwingungen im Frequenzbereich von 3400-3500 cm^{-1} lokalisiert sind. Liegen die Frequenzen unterhalb von 3400 cm^{-1} , so handelt es sich um die Schwingung einer wasserstoffbrückengebundenen N-H-Gruppe.

Bei der Zuordnung der Schwingungen eines gemessenen Isomers zeigten sich die Spektren im C=O-Bereich von großer Bedeutung. Die Anzahl und Lage der gemessenen Banden gaben ein eindeutiges Auswahlkriterium zugunsten einer symmetrischen Struktur des Dimers. Durch den Vergleich der gemessenen Frequenzen aller Übergänge in den N-H- und C=O-Spektrum mit den Frequenzen aus *ab initio* Berechnungen und den zugehörigen Stabilitäten konnten die Spektren definierten Strukturen zugeordnet und somit das erste β -Faltblattmodell in der Gasphase analysiert werden.

Es zeigte sich weiterhin, dass die Skalierungsfaktoren der Schwingungsfrequenzen, die für die Berechnungen des Monomers für die C=O- und N-H-Schwingungen getrennt ermittelt wurden, auch auf andere Systeme übertragbar sind. Auch die berechneten Stabilitäten verschiedener Konformere der gemessenen Spezies ergaben, dass die Vorhersagen in guter Übereinstimmung mit den Messungen liegen und somit einen guten Hinweis auf mögliche Strukturen liefern.

6 AcPheNHMe

6.1 Theoretische Überlegungen

Durch die Variation der Carbonsäureschutzgruppe von einer Methylgruppe im AcPheOMe in eine sekundäre Aminogruppe (NHMe) bildet sich eine zweite Amidgruppe im AcPheNHMe aus. Die Unterschiede, die dadurch zum AcPheOMe auftreten sind beträchtlich. AcPheNHMe stellt das Modellsystem eines Dipeptids dar. Die R-CO-NH-R Einheit, die dem Bildungsblock eines Peptides verkörpert, existiert im AcPheNHMe somit zweimal.

Im AcPheOMe wird durch Einführung der Schutzgruppen eine intramolekulare Wasserstoffbrücke verhindert (siehe Kap. 5), was eine β -Faltblatt analoge Struktur begünstigt. Durch die hier verwendete Schutzgruppe kann sich jedoch bei einer nicht gestreckten Struktur eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem N-H Wasserstoff der C-terminalen Schutzgruppe und dem Carbonylsauerstoff der N-terminalen Schutzgruppe ausbilden, wie sie bei einer γ_L Anordnung vorläge. (siehe Abb. 29b). Für eine Struktur in γ_L Konfiguration liegen die Winkel ϕ und ψ im Bereich $-120^\circ < \phi < 0^\circ$ und $0^\circ < \psi < 120^\circ$. Analog zum AcPheOMe ist eine gestreckte Form, wie sie in Abb. 29a abgebildet weiterhin möglich, tritt jedoch in Konkurrenz mit zuvor erwähnter gefalteter, intramolekular wasserstoffverbrückten Struktur.

Die Anzahl der konformativen Isomere ist somit deutlich weniger eingeschränkt als beim dem zuvor betrachteten AcPheOMe.

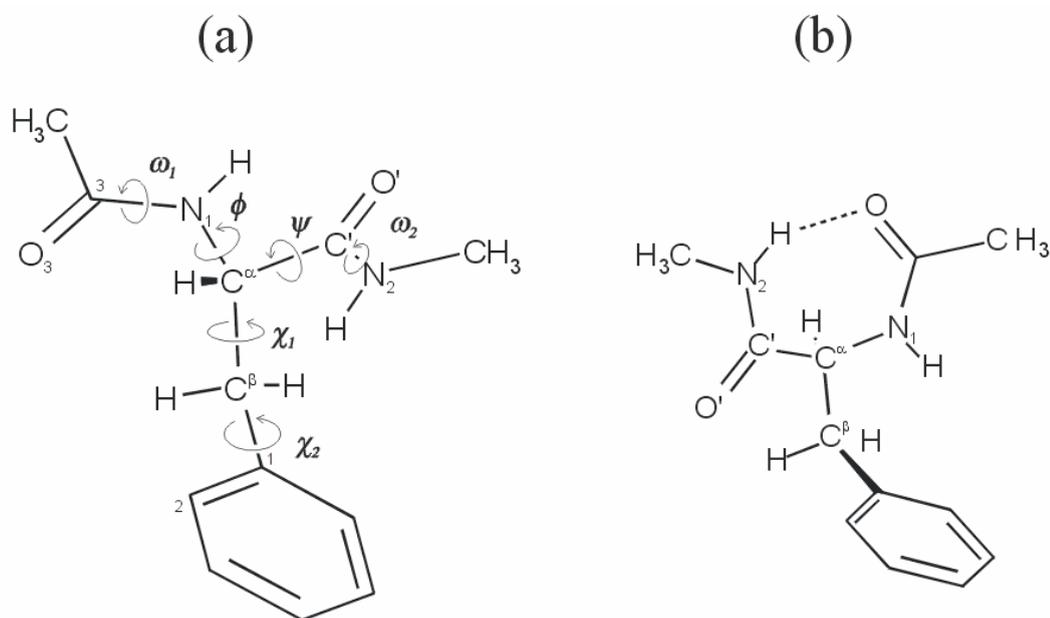


Abb. 29 a) gestreckte und b) intramolekular wasserstoffverbrückte g_L -Struktur des AcPheNHMe

Aufgrund dieser Überlegung wurde in noch größerem Umfang auf Rechnerunterstützte Methoden (Krauffeld- und *ab initio* Rechnungen) zur Suche nach stabilen Konformeren auf der Potentialfläche zurückgegriffen als im vorherigen Falle des AcPheOMe.

6.2 R2PI-Spektrum des AcPheNHMe

Das R2PI-Spektrum aufgenommen im Bereich von $37200\text{-}37800\text{ cm}^{-1}$ weist viele starke und schwache Übergänge im Bereich von 300 cm^{-1} auf.

Wie in Abb. 30 zu sehen ist, liegen die beiden stärksten Übergänge bei 37414 cm^{-1} und 37436 cm^{-1} . Sie gehören, wie sich durch die anschließenden IR/UV-Doppelresonanzuntersuchungen zeigten, genau wie die Bande bei 37396 cm^{-1} (-18 cm^{-1}) und 37458 cm^{-1} ($+44\text{ cm}^{-1}$) zu demselben Isomer, im weiteren Isomer I genannt. Der Ursprung des zweiten Isomers (II) liegt 104 cm^{-1}

blau verschoben gegenüber dem 0-0-Übergang des ersten Isomers bei 37518 cm^{-1} , der 0-0-Übergang eines dritten Isomers bei 37593 cm^{-1} (mit einer heißen Bande bei -8 cm^{-1}) und schließlich der Ursprung des Isomers IV bei 37650 cm^{-1} . Alle Isomere wurden durch unterschiedliche IR/UV-Spektren im N-H- und C=O-Bereich identifiziert (siehe Kapitel 6.4).

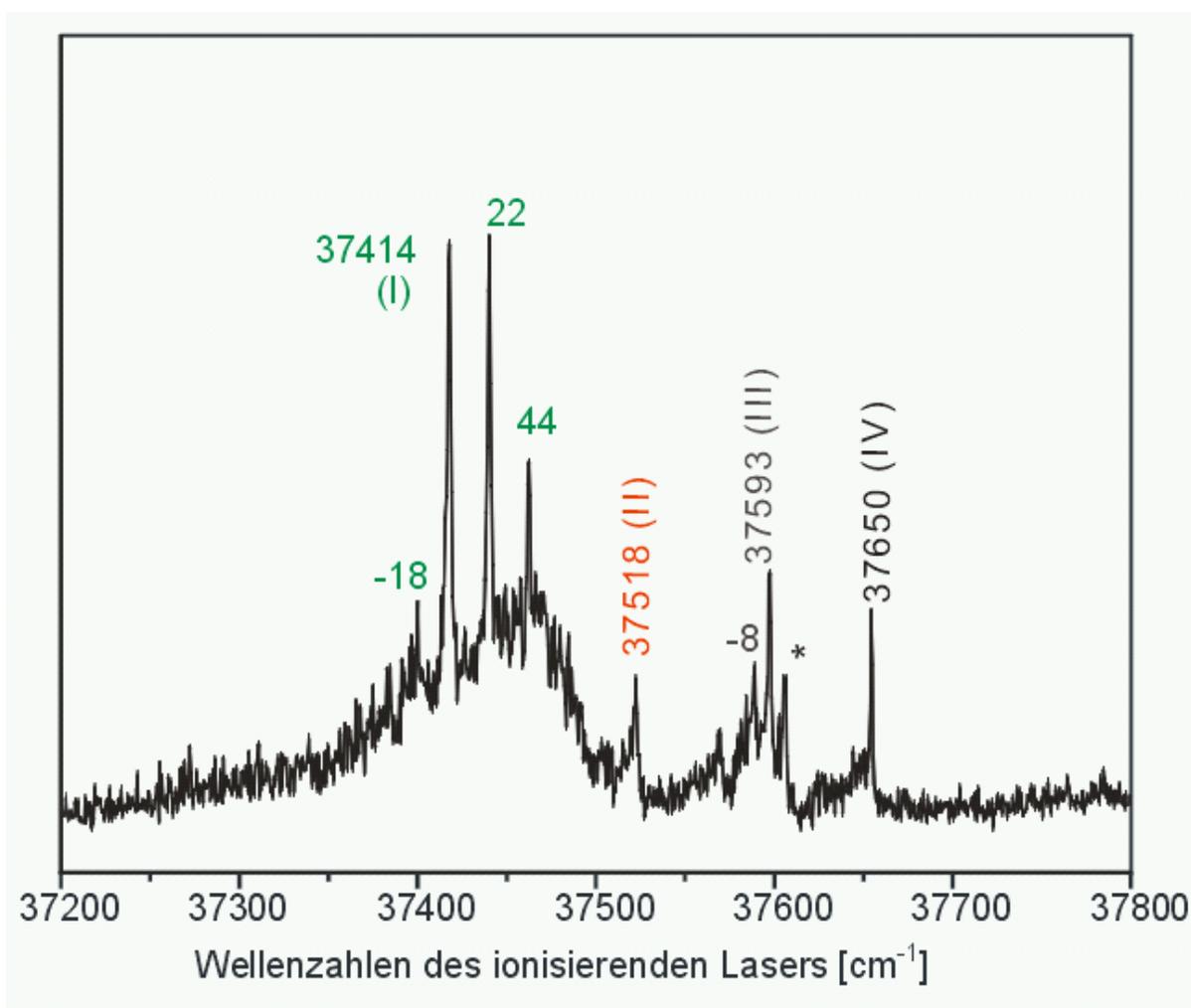


Abb. 30 R2PI-Spektrum des AcPheNHMe von $37200\text{-}37800\text{ cm}^{-1}$

6.3 Kraftfeld- und ab initio Berechnungen

Um eine Zuordnung der im R2PI-Spektrum beobachteten Banden zu bestimmten Konformeren nach der von Ramachandran getroffenen Nomenklatur treffen zu können, wurden parallel zu den spektroskopischen Untersuchungen Berechnungen durchgeführt.

Mit Hilfe von Kraftfeldrechnungen (CFF, Consistent Force Field, eingebunden im Discover Programm⁹³) wurde die ϕ -, ψ -Potentialoberfläche nach möglichen stabilen Konformeren abgesehen. Für diese Kraftfeldrechnungen wurden Klasse II Kraftfelder^{94,95,96} mit anharmonischen Termen und Kreuztermen verwendet. Diese liefern hochwertige Ergebnisse auf Kraftfeldniveau. Die gefundenen stabilen Konformationen wurden als Startgeometrien für anschließende ab initio Berechnungen verwendet. Zur Untersuchung der Potentialoberfläche wurde die Methode der *modified quenched dynamics*⁹⁷⁻¹⁰⁰ verwendet. Bei einer typischen Temperatur von 500-800 K und einer beliebigen Geometrie (Startgeometrie) der zu untersuchenden Substanz wird ein molekulardynamischer Lauf (typische Größenordnung von 2 ps mit 2 fs Schrittweite) gestartet. Die erhaltene Endgeometrie wird vollständig geometrieoptimiert und für darauf folgende Untersuchungen gespeichert. Im Anschluss wird diese Struktur wiederum auf die Ausgangstemperatur erhitzt, wodurch ein neuer Satz von Impulskoordinaten entsteht, dem ein weiterer Kurzzeit molekulardynamischer Lauf folgt. Diese Prozedur wird solange wiederholt bis keine neuen Minima mehr beobachtet werden können. Der Ablauf wird anschließend für verschiedene Temperaturen nochmals durchlaufen.

Die Molekülgeometrien wurden nach aufsteigenden relativen Energien der berechneten Minima sortiert und für die stabilsten der zugehörigen Strukturen Schwingungsanalysen durchgeführt.

Die Praktikabilität dieses Verfahrens wurde durch das herkömmliche Verfahren verifiziert. Hierbei wird systematisch die Konformationsoberfläche mittels inkrementartiger Veränderung der Dihedralwinkel des Rückgrats und der

Seitenketten abgesucht. Es zeigte sich, dass bei geeigneter Wahl der Temperatur keine zusätzlichen Minima nebst der zugehörigen Konformation aufgefunden wurden. Die gewählten Parameter wurden im weiteren Verlauf auf das Dimer angewandt. Es zeigte sich, dass die verschiedensten konformativen Anordnungen aufzufinden waren. Somit konnte belegt werden, dass die hier gewählten Temperaturen von 500-800 K und die Simulationszeit für dieses System ausreichend hoch gewählt wurden, um die Barrieren zwischen den verschiedenen Minima zu überwinden und somit eine vollständige Abbildung der Potentialoberfläche zu gewährleisten.

Die Geometrien der bei den Kraftfeldrechnungen erhaltenen stabilsten Strukturen wurden im Anschluss als Startgeometrien für ab initio Berechnungen verwendet. Diese Untersuchungen wurden auf verschiedenen Niveaus (HF Niveau mit 3-21G(d), 6-31+G(d,p) Basissatz und auf DFT Niveau, B3LYP-Funktional mit einem 6-31+G(d,p) Basissatz) durchgeführt. Für alle optimierten Strukturen wurden Frequenzläufe durchgeführt.

Um eine möglichst genaue Vorhersage der relativen Stabilisierungsenergien geben zu können, wurde, aufbauend auf die Geometrien der B3LYP/6-31G(d)-Rechnungen, zusätzlich noch Einzelpunktrechnungen auf MP2/6-311++G(d,p) Niveau durchgeführt. Die Energien sind in Tabelle 3 gegen einander aufgetragen.

CFF		HF/3-21G(d,p)		HF/6-31+G(d,p)		B3LYP/6-31+G(d,p)		MP2/6-311++G(d,p)	
$\Delta(E+ZPE)$ [cm ⁻¹]	Struktur	$\Delta(E+ZPE)$ [cm ⁻¹]	Struktur	$\Delta(E+ZPE)$ [cm ⁻¹]	Struktur	$\Delta(E+ZPE)$ [cm ⁻¹]	Struktur	$\Delta(E)$ [cm ⁻¹]	Struktur
0	$\beta_L(a)$	0	$\gamma_L(g+)$	0	$\beta_L(a)$	0	$\beta_L(a)$	00	$\beta_L(a)$
501	$\beta_L(g+)$	373	$\gamma_L(a)$	315	$\gamma_L(a)$	171	$\gamma_L(g-)$	139	$\gamma_L(g+)$
588	$\gamma_L(g-)$	404	$\beta_L(a)$	356	$\gamma_L(g-)$	215	$\gamma_L(a)$	424	$\gamma_L(g-)$
768	$\gamma_L(g+)$	684	$\gamma_L(g-)$	676	$\gamma_L(g+)$	247	$\gamma_L(g+)$	437	$\gamma_L(a)$
913	$\gamma_D(g-)$	784	$\delta_L(g+)$	747	$\gamma_L(g+)$	627	$\gamma_L(g+)$	499	$\gamma_L(g+)$
1173	$\gamma_L(a)$	1191	$\beta_L(g+)$	781	$\beta_L(g+)$	756	$\gamma_D(g-)$	547	$\beta_L(g+)$
1196	$\beta_L(g-)$	1242	$\gamma_D(g-)$	980	$\alpha_L(g-)$	788	$\beta_L(g+)$	572	$\gamma_D(g-)$
1523	$\gamma_D(a)$	1849	$\delta_L(a)$	1044	$\gamma_D(g-)$	962	$\gamma_L(g-)$	919	$\beta_L(a)$
1550	$\beta_L(g+)$	1854	$\delta_L(g-)$	1540	$\alpha_D(g-)$	1313	$\beta_L(a)$	1112	$\gamma_L(g-)$
1839	$\beta_L(a)$	2005	$\alpha_D(g-)$	1787	$\gamma_D(a)$	1431	$\gamma_D(a)$	1281	$\delta_D(g+)$
2006	$\gamma_D(g+)$	2013	$\gamma_D(a)$	2377	$\delta_D(g+)$	1846	$\beta_L(g+)$	1318	$\gamma_D(a)$
2015	$\delta_D(g+)$	2031	$\beta_L(g-)$	2433	$\alpha_L(a)$	2278	$\delta_D(g+)$	1537	$\beta_L(g+)$
2054	$\gamma_D(g+)$	2578	$\alpha_D(a)$	2517	$\varepsilon_D(a)$	2423	$\varepsilon_D(a)$	1990	$\gamma_D(g+)$
2098	$\beta_L(a)$	2812	$\delta_D(g+)$	2577	$\delta_D(a)$	2518	$\delta_D(a)$	2021	$\alpha_D(g+)$
2132	$\varepsilon_D(a)$	3042	$\varepsilon_D(g-)$	2627	$\alpha_D(a)$	2530	$\alpha_D(a)$	2070	$\varepsilon_D(a)$

Tabelle 3 Energetische Abfolge der verschiedenen Konformere des AcPheNHMe und ihre relativen Energien bei unterschiedlichem theoretischen Niveau

6.4 IR-Spektren des AcPheNHMe (S_0)

6.4.a S_0 -Spektren Isomer I

Zur Bestimmung der möglichen Konformere und Zuordnung der Banden zu den verschiedenen Isomeren, wurden über alle Banden im R2PI-Spektrum IR-Spektren aufgenommen. Diese erstreckten sich über den Bereich der N-H-Streckschwingungen ($3300\text{-}3600\text{cm}^{-1}$), den Bereich der C=O-Streckschwingung ($1600\text{-}1800\text{cm}^{-1}$) und den der NH oder C-H Biegeschwingung ($<1600\text{cm}^{-1}$). Die IR-Spektren des stärksten Überganges (37414 cm^{-1} , Isomer I) sind in Abb. 31 dargestellt.

Im N-H-Streckschwingungsbereich sind zwei starke Banden bei 3448 cm^{-1} und 3465 cm^{-1} zu erkennen. Im Bereich der C=O-Streckschwingungen ist lediglich ein einziger, starker Übergang bei 1695 cm^{-1} zu beobachten. Vier schwächere Banden, die NH- und C-H-Biegeschwingungen zugesprochen werden können, liegen bei 1549 cm^{-1} , 1536 cm^{-1} , 1495 cm^{-1} und 1456 cm^{-1} . Die experimentell ermittelten Schwingungsfrequenzen wurden mit den theoretisch berechneten verglichen. Es zeigte sich, dass eine sehr gute Übereinstimmung mit den Frequenzen der nach den Berechnungen stabilsten $\beta_L(a)$ Struktur erzielt wird. Die Übergänge bei 3438 cm^{-1} und 3465 cm^{-1} sind den N-H-Schwingungen des Phenylalanin Rückgrates und der NHMe-Schutzgruppe zuzuordnen. Die skalierten Frequenzen der theoretischen Berechnungen liefern Werte von 3424 cm^{-1} und 3459 cm^{-1} . Die Berechnungen zeigten, dass der Übergang der C=O-Bindung (121) eine deutlich schwächere Intensität als die $C_3=O_3$ -Streckschwingungsmode (423) hat. Dies erklärt auch, warum im C=O-Bereich nur eine Bande bei 1695 cm^{-1} beobachtet wird, die folglich der Schwingung der $C_3=O_3$ -Bindung zugeordnet werden kann. Als Skalierungsfaktor für die berechneten Frequenzen wurden die Faktoren der entsprechenden Schwingungen im System AcPheOMe gewählt. Sie wurden auf demselben theoretischen Niveau ermittelt. Für die N-H-Schwingungen

ergibt sich ein Skalierungsfaktor von 0.9531 und für die C=O-Schwingungen von 0,9838. Die experimentellen und theoretischen Schwingungsfrequenzen und Intensitäten sind in Tabelle 4 gegenübergestellt.

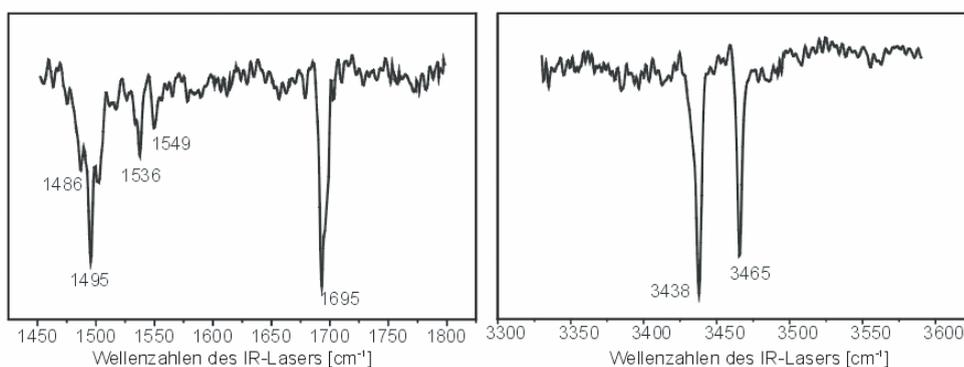


Abb. 31 IR-Spektren AcPheNHMe Isomer I von 1450-1800 cm^{-1} und 3325-3600 cm^{-1}

	Isomer I		Isomer II			Isomer III	
	$\beta_L(a)$	exp.	$\gamma_L(g-)$	$\gamma_L(a)$	exp.	$\gamma_L(g+)$	exp.
Rel. E. / cm^{-1}	0		171	215		247	
N-H (NHMe)	3459 (46)	3465	3349 (170)	3382 (112)	3362	3335 (201)	3350
N-H (Phe)	3424 (89)	3438	3466 (30)	3462 (27)	3467	3437 (106)	3438
C'=O' (Phe)	1713 (121)	n.b.	1720 (381)	1719 (359)	1711	1710 (398)	1706
C ₃ =O ₃ (Ac)	1696 (423)	1695	1686 (178)	1690 (148)	n.b.	1682 (186)	n.b.
N-H-Biege. (NHMe)	1554 (109)	1549	1563 (235)	1559 (182)	n.b.	1563 (240)	1554
N-H-Biege. (Phe)	1508 (209)	1536	1516 (235)	1510 (151)	n.b.	1519 (367)	1514

Tabelle 4 Relative Stabilitäten, experimentelle und theoretische Schwingungsfrequenzen der vier Isomere des AcPheNHMe (B3LYP/6-31+G(d,p)-Niveau), (n.b. = nicht beobachtet)

6.4.b S₀-Spektren Isomer II

Die Infrarotspektren des Isomers II sind in Abb. 32 dargestellt. Die N-H-Bande der NHMe-Schutzgruppe weist eine deutliche Rotverschiebung von über 100 cm^{-1}

(3362 cm^{-1}) gegenüber dem Isomer I (3465 cm^{-1}) auf. Die beiden N-H-Banden haben ihre Positionen getauscht, die Bande des Peptidrückgrates ist blauverschoben und liegt nun ungefähr an der gleichen Position wie der NHMe Übergang im Isomer I, bei 3467 cm^{-1} . Die C=O-Streckschwingungsbande bei 1711 cm^{-1} ist in diesem Isomer der Schwingung der C'=O'-Bindung zuzuordnen. Die Berechnungen geben sehr gut die experimentellen Befunde wieder (siehe Tabelle 4). Sie zeigen deutlich, dass die Intensitäten der C=O-Schwingungen gegenüber Isomer I getauscht haben. Die C³=O³-Schwingung ist in diesem Isomer nicht zu beobachten.

Die starke Verschiebung der N-H-Schwingungsfrequenzen ist ein deutliches Zeichen für eine konformative Änderung gegenüber Isomer I. Die experimentellen Frequenzen von Isomer II sind in sehr guter Übereinstimmung mit den berechneten Frequenzen für eine Struktur mit $\gamma_L(g)$ - oder $\gamma_L(a)$ - Konformation. Beide Strukturen unterscheiden sich nur geringfügig in ihrer Stabilität (siehe Tabelle 3) und in der Ausrichtung der Seitenkette in Bezug auf das Peptidrückgrat. Sie sind bestimmt durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke C₃-O₃...H-NMe wie sie in Abb. 29b gezeigt wird. Bedingt durch diese WBB und die daraus resultierende starke Geometrieänderung des Moleküls ist die starke Verschiebung der beiden N-H-Schwingungen zu erklären. Typisch für eine wasserstoffbrückengebundene N-H-Schwingung schiebt diese bis auf 3362 cm^{-1} (berechnet 3349 cm^{-1} , bzw. 3382 cm^{-1}), während die aus dem Phe eine Blauverschiebung von ca. 30 cm^{-1} , bedingt durch die konformative Änderung gegenüber Isomer I, aufweist (3467 cm^{-1} , ber. 3466 cm^{-1} und 3462 cm^{-1}). Die Verschiebung der C'=O'-Bande ist lediglich bei den Rechnungen zu ersehen, da diese C=O-Schwingung im Isomer I nicht zu beobachten war. Die Verschiebung fällt aber auch bei den berechneten Frequenzen mit 6-7 cm^{-1} deutlich geringer aus (1711 cm^{-1} , ber. 1719 cm^{-1} bzw. 1720 cm^{-1}) als im Bereich der N-H-Streckschwingungen.

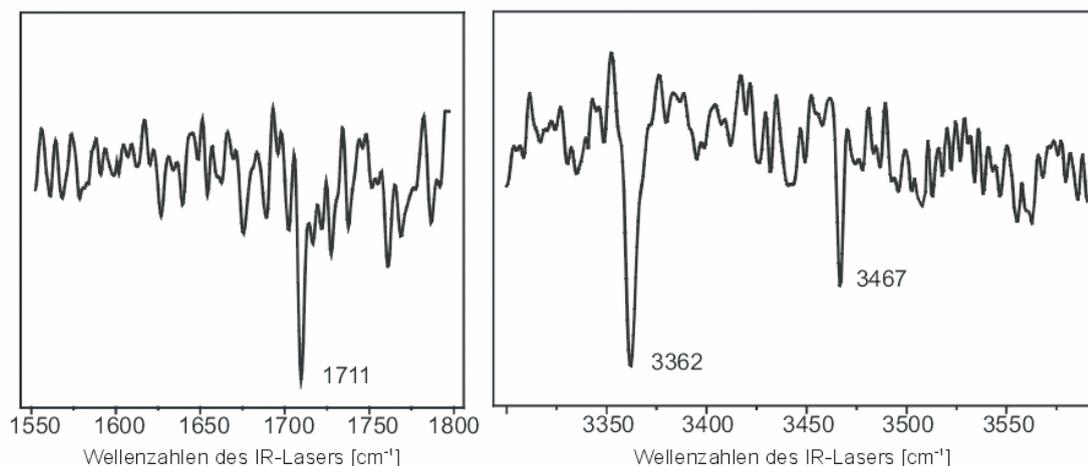


Abb. 32 IR-Spektren AcPheNHMe Isomer II von 1550-1800 cm^{-1} und 3250-3600 cm^{-1}

6.4.c S_0 -Spektren Isomer III

Die IR-Spektren des Isomers III wurden über den $S_1 \rightarrow S_0$ Übergang bei 37593 cm^{-1} im UV-Spektrum des AcPheOMe aufgenommen. Die Spektren sind in Abb. 33 wiedergegeben.

Wie im Isomer 1 ist auch hier wieder die Bande der freien N-H-Schwingung bei 3438 cm^{-1} (3438 cm^{-1} ber.) zu zuordnen und wie im Isomer 2 eine sehr stark gebundene bei 3350 cm^{-1} (3335 cm^{-1}) beobachten. Diese Frequenzen und die Bande der C=O-Streckschwingung bei 1706 cm^{-1} (ber. 1710 cm^{-1}) sind in sehr gute Übereinstimmung mit den Frequenzen eine $\gamma_L(g+)$ Struktur zu bringen. Die zweite C=O-Schwingung ist aufgrund der wiederum deutlich geringeren Intensität nicht zu beobachten. Alle Schwingungen sind gegenüber denen der verwandten Struktur des Isomers 2 zu niedrigeren Frequenzen verschoben (6-30 cm^{-1}). Die Schwingungsfrequenz der N-H(Phe) ist identisch mit der im Isomer I ($\beta_L(a)$), was die Vermutung nahe legt, dass die Verschiebung starke Abhängigkeit von der Ausrichtung der Seitenkette zeigt. Auch die berechneten Frequenzen der beobachteten N-H Biegeschwingungen bei 1554 cm^{-1} (ber. 1563 cm^{-1}) und

1514 cm^{-1} (ber. 1519 cm^{-1}) zeigen eine exzellente Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen.

Zu bemerken sei hier noch, dass die beiden mit * gekennzeichneten Banden im N-H-Spektrum (Abb. 33b) zu einem Wassercluster gehören. Dieser hat eine Resonanz in der Nähe der Anregungswellenlänge des Isomers 3 (siehe R2PI-Spektrum Abb. 30, mit * gekennzeichnete Bande bei 37600 cm^{-1}). Dieser Cluster zeigt ein starkes Fragmentationsverhalten, weshalb er auch auf der Masse des Monomers zu beobachten ist.

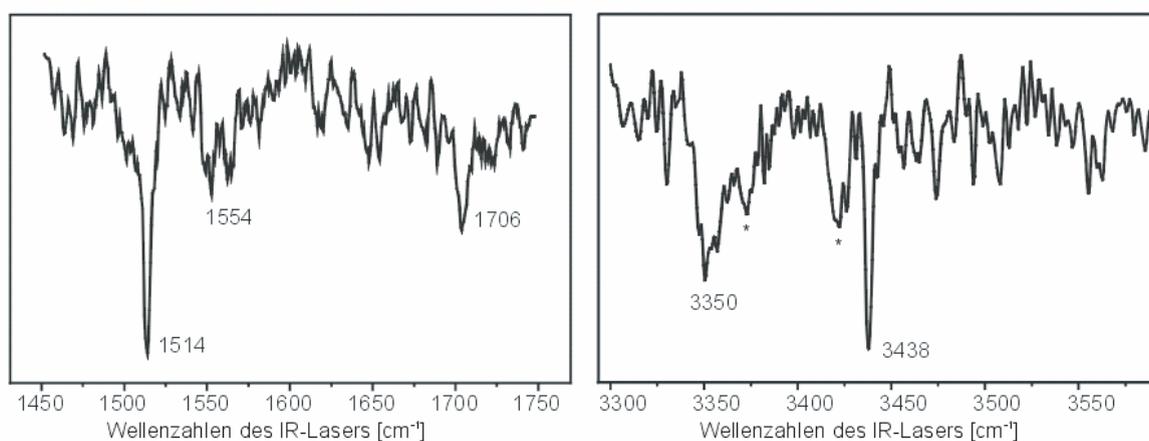


Abb. 33 IR-Spektren AcPheNHMe Isomer III von 1450-1750 cm^{-1} und 3300-3600 cm^{-1}

6.4.d S_0 -Spektren Isomer IV

Das vierte IR/R2PI-Spektrum des Monomers wurde über die Bande bei 37650 cm^{-1} angeregt. Deutlich sind drei Banden im N-H-Bereich bei 3383 cm^{-1} , 3412 cm^{-1} und 3424 cm^{-1} zu erkennen. Die Anzahl der N-H Banden jedoch kann nicht größer als zwei sein, da im Molekül nur zwei N-H-Gruppen vorhanden sind. Nach Betrachtung des C=O-Spektrums lässt sich aufgrund der dort beobachteten Schwingung von 1694 cm^{-1} darauf schließen, dass es sich bei 3383 cm^{-1} um den 1. Oberton dieser C=O-Streckschwingung handelt (Anharmonizität 5 cm^{-1}). Da die verbleibenden N-H-Schwingungen oberhalb von 3400 cm^{-1} lokalisiert sind, lässt

sich auf eine gestreckte, nicht wasserstoffgebundene Struktur schließen. Die energetisch günstigsten Strukturen die in Frage kommen, sind $\beta_L(g+)$ und $\beta_L(a)$ Anordnung mit einer cis ($\omega \approx 0^\circ$) Konfiguration der Amidbindung (siehe Kap. 2.4.a). Jedoch konnte keine Struktur ermittelt werden, bei der eine gute Übereinstimmung der berechneten mit den gemessenen Schwingungsfrequenzen erreicht wurde. Um eine ausreichenden Genauigkeit gewährleisten zu können, wären MP2 Rechnungen mit einem triple Zeta Basissatz oder größer nötig, die jedoch auf den uns zur Verfügung stehenden Rechnern nicht durchgeführt werden können.

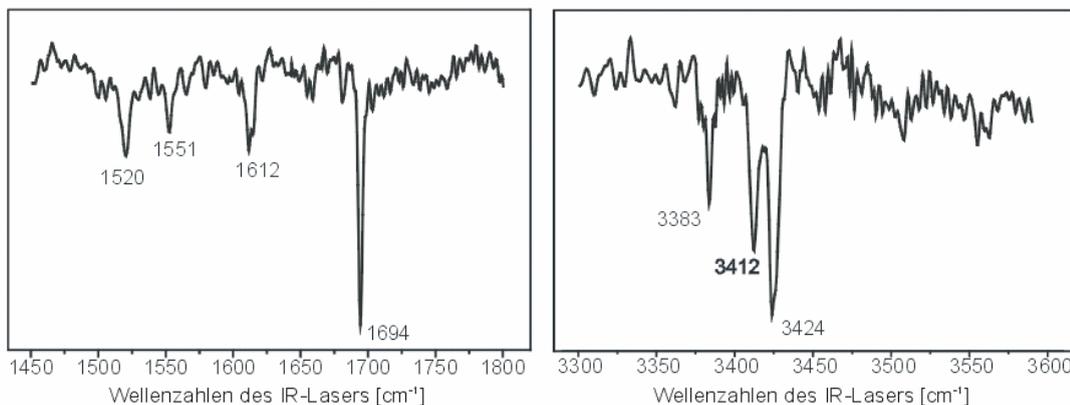


Abb. 34 IR-Spektren AcPheNHMe Isomer IV von $1450\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ und $3300\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$

6.5 AcPheNHMe Dimer

Durch die zusätzliche N-H Gruppe am C-Terminus, erweitert sich auch beim Dimer die Anzahl der möglichen Isomere. Unter Annahme einer Zweipunkthftung und eines symmetrischen Dimers gibt es zwei verschiedene Bindungsmotive. Die eine ist analog dem $(\text{AcPheOMe})_2$ über die inneren der beiden C=O- und N-H-Gruppen (dem Rückgrat des AcPheNHMe) verbrückt (siehe Abb. 35a). Bei der anderen Struktur, die nur beim AcPheNHMe möglich ist, bilden sich die WBB zwischen den äußeren der beiden C=O- und N-H-Gruppen aus (siehe Abb. 35b). Bei einer gemischten Anordnung bilden sich im einen Molekül die WBB über die inneren, im anderen über die äußeren Akzeptor- und Donatorgruppen aus. Bei dieser Struktur ist zusätzlich auch noch im Molekül, das über die inneren Gruppen gebunden ist, eine intramolekulare WBB analog einer γ -Struktur des Monomers möglich (Abb. 35c).

Diese drei Anordnungen sollten sich durch die verschiedenen an den WBB beteiligten Gruppen deutlich in ihren Spektren im N-H- und C=O-Bereich unterscheiden.

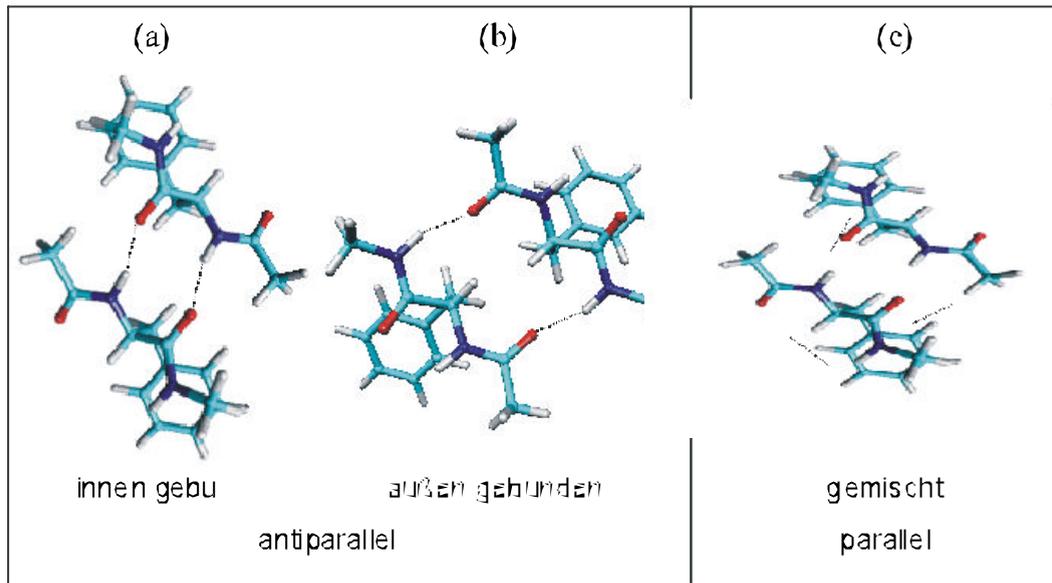


Abb. 35 $(\text{AcPheNHMe})_2$ a) innengebundenen Dimer, b) aussengebundenen Dimer und c) gemischtes Dimer mit intramolekularer WBB, sie stellen Modellsysteme für c) parallele und a,b) antiparallele β -Faltblattmotive dar.

Die *modified quenched dynamics* Technik hatte beim Monomer sehr gute Ergebnisse erzielt. Daher wurde auch für die Suche der Potentialoberfläche beim Dimer die molekulardynamische Näherung verwendet, die der Kraftfeldberechnung zu Grunde liegt.

Im Bereich bis 1000 cm^{-1} oberhalb der stabilsten Struktur wurden bereits mehr als 50 verschiedene Strukturen gefunden. Innerhalb eines einzigen molekulardynamischen Laufes wurden sowohl innengebundene Strukturen als auch aussengebundene gefunden. Dies zeigte deutlich, dass die verwendeten molekulardynamische Parameter ausreichen, um die Barriere zu überwinden, die dem Bruch beider WBB und die Neuordnung der beiden Monomere und anschließende Neuordnung zum anderen Dimer zu Grunde liegt. Weiterhin wurden auch das gemischte Dimer, gebunden über die inneren funktionellen Gruppen des einen Moleküls und die äußeren funktionellen Gruppen des anderen Moleküls bei den Kraftfeldrechnungen beobachtet. Dies bewies eindeutig, dass die

von uns verwendete Methode zur Suche aller stabilen Konformeren mittels der *modified quenched dynamics* Technik ein probates Mittel darstellt.

Die berechneten Stabilisierungsenergien zeigten, dass die symmetrischen Dimere, die über die äußeren funktionellen Gruppen gebunden sind, um ca. 400 cm^{-1} stabiler sind als die innengebundenen. Das stabilste gemischte Dimer, wie es in Abb. 35c wiedergegeben ist, ist dagegen fast 600 cm^{-1} instabiler als das stabilste, aussengebundene symmetrische Dimer.

Eine deutliche Unterscheidungsmöglichkeit zwischen einem symmetrischen und einem gemischtem Dimer ergibt sich aus ihren Infrarotspektren.

Durch die Bildung von Sätzen symmetrischer und antisymmetrischer Schwingungen im symmetrischen Dimer, unabhängig ob innen- oder aussengebunden, bewirkt eine Reduktion der zu beobachtenden Schwingungen. Beim gemischtem Dimer sollte jede der N-H- und C=O-Gruppen unterschiedliche N-H- und C=O-Schwingungsfrequenzen liefern. Das Spektrum eines gemischten Dimers sollte also deutlich bandenreicher sein, als das eines symmetrischen Dimers.

Alle stabilen Dimere mit symmetrischer Anordnung ergeben Strukturen mit einer $\beta_L\text{-}\beta_L$ Rückgratanordnung, lediglich die Anordnung der Seitenketten differiert bei den innen- und aussengebundenen Strukturen. Beim symmetrischen innengebundenen Dimer ist die $\beta_L(a)\text{-}\beta_L(a)$ Konfiguration die stabilste Anordnung, beim aussengebundenen wurde die $\beta_L(g+)\text{-}\beta_L(g+)$ Anordnung als stabilste ermittelt. Ausgehend von den CFF Strukturen wurden Optimierungen und anschließenden Frequenzläufe auf HF Niveau mit 3-21G(d) Basis durchgeführt. Die Energien zeigten in Analogie zur CFF Methode eine deutlich stabilere aussengebundene Anordnung, die Differenz der Strukturen auf HF Niveau stieg jedoch auch 1900 cm^{-1} an (korrigiert um die Nullpunktsenergie und Basis Satz Superpositionsfehler¹⁰¹). Die stabilste gemischte Struktur hat eine $\beta_L(g)\text{-}\gamma_L(g)$ Struktur, das innengebundene Monomer liegt dabei in γ Form vor.

6.6 R2PI-Spektrum des $(\text{AcPheNHMe})_2$

Im Gegensatz zum Monomer ist im R2PI-Spektrum des Monomers (Abb. 36) nur eine einzige Spezies zu beobachten. Die Anregung über alle Übergänge im R2PI-Spektrum lieferte dasselbe Infrarotspektrum.

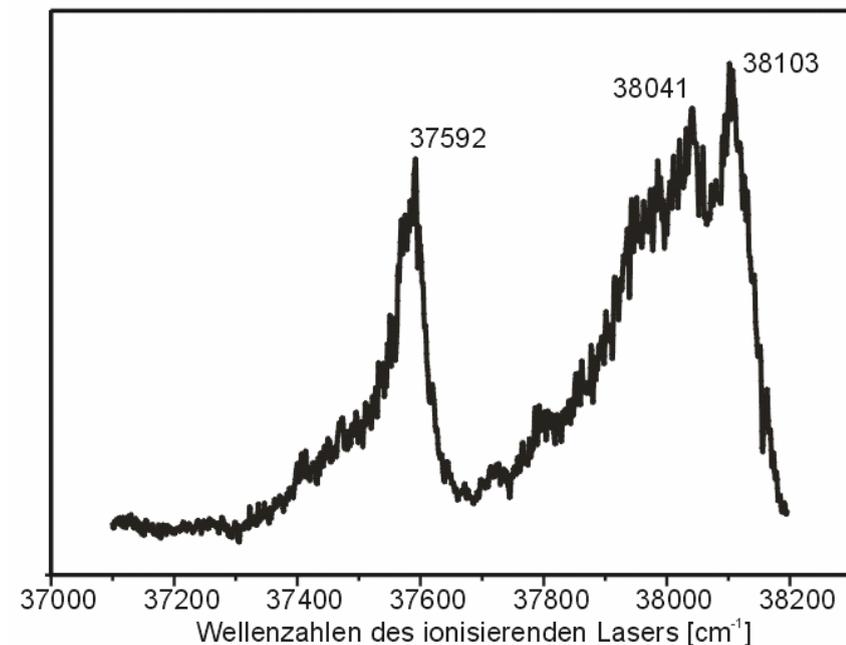


Abb. 36 R2PI-Spektrum des $(\text{AcPheNHMe})_2$ von 37100-38200 cm⁻¹

6.7 IR/R2PI-Spektren des $(\text{AcPheNHMe})_2$ (S_0)

Die Infrarotspektren wurden über den elektronischen Ursprung bei 37592 cm⁻¹ aufgenommen. Abb. 37 zeigt das gemessene Spektrum im N-H-Bereich. Eine Bande bei 3426 cm⁻¹ liegt im Bereich der freien NH-Streckschwingungen. Eine breite intensive Bande und eine schwache Bande liegen bei 3318 cm⁻¹ und 3342 cm⁻¹. Die geringe Anzahl der beobachteten Banden in den Spektren legt eine symmetrische Struktur nahe. Sowohl das Rückgrat als auch die Seitenkette in beiden beteiligten Molekülen sollte dieselbe Anordnung haben.

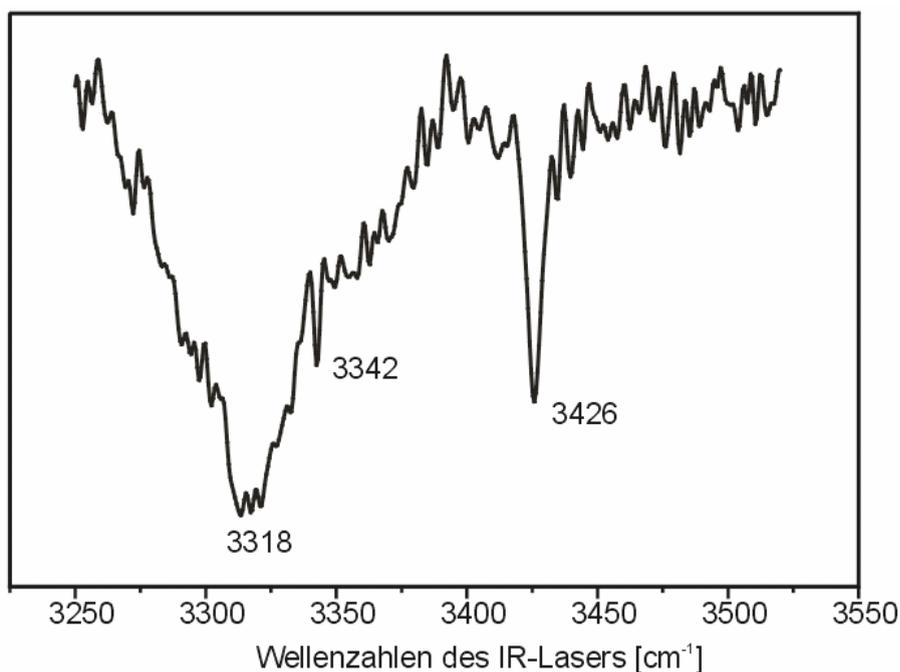


Abb. 37 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcPheNHMe})_2$ im N-H-Bereich von $3250\text{-}3525\text{ cm}^{-1}$

Im Bereich von $1450\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ sind zwei Übergänge (1569 cm^{-1} und 1676 cm^{-1}) zu erkennen. Die niederfrequente Bande liegt im Bereich der N-H Biegeschwingung. Im Bereich der NH-Streckschwingungen von $3250\text{-}3460\text{ cm}^{-1}$ sind drei Übergänge zu erkennen. Nach Kenntnis des C=O-Spektrums lässt sich die kleine Bande bei 3342 cm^{-1} leicht dem 1. Oberton der bei 1676 cm^{-1} beobachteten C=O-Streckschwingung zuordnen. Die breite und Lage der Bande bei 3318 cm^{-1} weist auf ein brückengebundene NH-Streckschwingung hin, die Bande bei 3426 cm^{-1} repräsentiert die Schwingung der verbliebenen freien antisymmetrischen N-H-Streckschwingung.

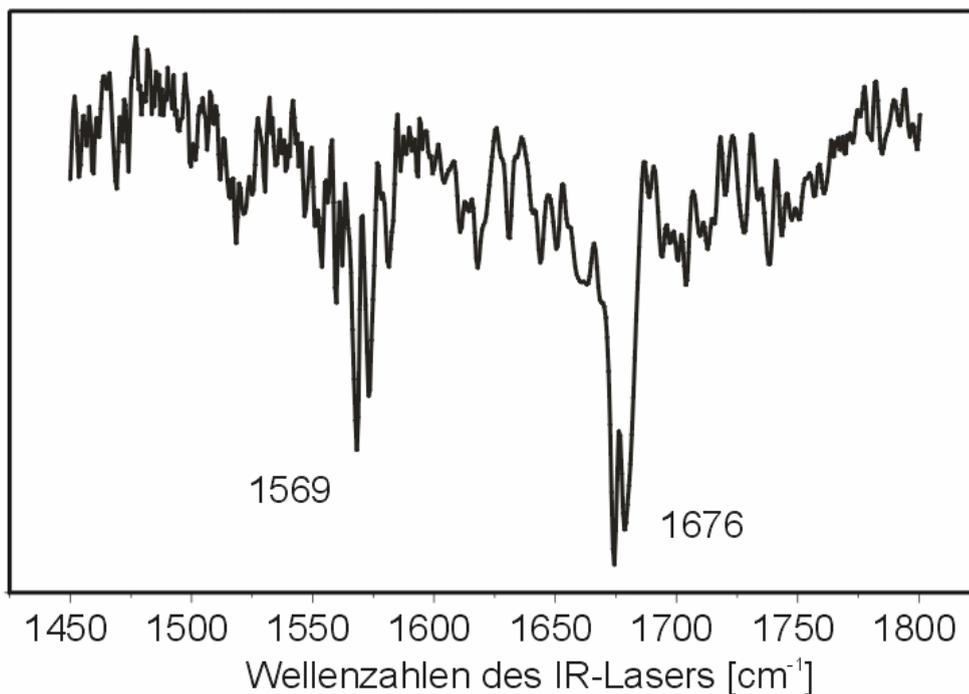


Abb. 38 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcPheNHMe})_2$ im C=O-Bereich von $1450\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$

Die Frequenzen der vier stabilsten symmetrischen Dimere und die zugehörigen Stabilisierungsenergien sind in Tabelle 5 abgebildet. Die berechneten Frequenzen wurden mit den gleichen Faktoren skaliert, der für das AcPheOMe ($f(\text{N-H})$ und $f(\text{CO}) = 0,9067$) auf gleichen Niveau ermittelt wurden.

Es ist eine gute Übereinstimmung der experimentellen Frequenzen mit den berechneten Frequenzen für die symmetrische aussengebundene Struktur in $\beta_{\text{L}}(\text{g}^+)-\beta_{\text{L}}(\text{g}^+)$ Anordnung zu beobachten. Wie im experimentellen Spektrum ist nur eine einzige Bande im Bereich der freien N-H-Streckschwingungen zu beobachten (3425 cm^{-1} , exp. 3426 cm^{-1}) und eine weitere im Bereich der gebundenen N-H-Streckschwingungen (3350 cm^{-1} , exp. 3318 cm^{-1}). Die beiden symmetrischen Streckschwingungen weisen deutlich geringere Intensitäten auf und sind daher im Spektrum nicht zu beobachten. Die Abweichung der gebundenen N-H-Schwingung resultiert aus dem anharmonischen Verhalten von gebundenen N-H-

Schwingungen. Die Schwingungsfrequenzen von freien N-H-Streckschwingungen sind mit harmonischen Näherungen deutlich besser zu beschreiben.

Die Frequenzen der symmetrischen innengebundenen Dimere ergaben bei den Rechnungen deutlich höhere Übergangsfrequenzen im Bereich der N-H-Schwingungen (siehe Tabelle 5). Sie lagen bei den $\beta_L(g+)$ - $\beta_L(g+)$ und $\beta_L(a)$ - $\beta_L(a)$ Anordnungen bei 3491 cm^{-1} und 3474 cm^{-1} , die der aussengebundenen lieferten Werte von 3425 cm^{-1} und 3430 cm^{-1} . Aufgrund der Tatsache, dass freie N-H-Schwingungen durch diese harmonischen Näherungen besser wieder gegeben werden und die innengebundenen hier deutlich größere Abweichungen zeigen und zusätzlich die relativen Stabilitäten der aussengebundenen Spezies mindestens 2000 cm^{-1} niedriger sind, kann eine innengebundene Struktur ausgeschlossen werden.

Um eine Zuordnung zu einem der beiden aussengebundenen Strukturen treffen zu können wurden auch noch die C=O-Schwingungsfrequenzen und ihre Intensitäten betrachtet. Im Gegensatz zum $\beta_L(g+)$ - $\beta_L(g+)$ -Konformer sind im $\beta_L(a)$ - $\beta_L(a)$ -Dimer zwei starke Übergänge mit ähnlichen Intensitäten bei 1669 cm^{-1} und 1657 cm^{-1} zu erwarten. Im Spektrum ist aber nur eine einzige intensive Bande bei 1676 cm^{-1} zu beobachten, die in guter Übereinstimmung mit der berechneten Frequenz von 1662 cm^{-1} für die $\beta_L(g+)$ - $\beta_L(g+)$ -Anordnung steht. Auch hier resultiert die Abweichung von mehr als 30 cm^{-1} der gebundenen C=O-Streckschwingung aus der Beschreibung durch harmonische Näherungen, die nur für freie Streckschwingungen exakte Werte liefert. Die Bande bei 1596 cm^{-1} entstammt einer intensiven N-H-Biegeschwingung.

		„aussengebunden“		„innengebunden“	
Isomer		b _L (g+)-b _L (g+)	b _L (a)-b _L (a)	b _L (a)-b _L (a)	b _L (g+)-b _L (g+)
Rel. Energien [s/cm ⁻¹]		0	966	1928	3229
Zuordnung ^{a)}	Exp.	Berechnete Frequenzen			
NH („innen, sym.)		3425 (26)	3430 (64)	3474 (1)	3491 (1)
NH („innen, antisym.)	3426	3425 (212)	3430 (138)	3474 (104)	3491 (101)
NH („außen, antisym.)	3318	3350 (920)	3477 (367)	3321 (109)	3350 (67)
NH („außen, sym.)		3347 (15)	3328 (510)	3318 (1053)	3345 (995)
CO („innen, antisym.)		1721 (99)	1714 (67)	1712 (25)	1716 (2)
CO („innen“, sym.)		1716 (45)	1701 (7)	1703 (76)	1705 (74)
CO („außen, antisym.)	1676	1662 (1104)	1669 (613)	1676 (4)	1697 (13)
CO („außen, sym.)		1656 (18)	1657 (561)	1664 (1016)	1684 (987)

Tabelle 5 Frequenzen und Stabilitäten der innen und außen doppelt wasserstoffbrückengebundenen Dimere. Die Zuordnung wurde anhand der berechneten Normalschwingungen (HF/3-21G(d) Niveau) der aussengebundenen Anordnung des b_L(g+)-b_L(g+) Isomers getroffen

7 AcTrpOMe

7.1 Theoretische Betrachtungen

Das Tryptophan ist eine weitere im menschlichen Organismus vorkommende aromatische Aminosäure. Der Chromophor des Moleküls entspricht dem Indol^{102,103}. Untersuchungen wurden bereits sowohl am Indol, als auch am Tryptophan analogen Tryptamin¹⁰⁴ (LIF,DF), deuterierten Tryptamin (d3)¹⁰⁵, IR und UV-Spektren von Indolpropansäure¹⁰⁶ und anderen verwandten Substanzen^{81,107,108} durchgeführt. Auch Untersuchungen an der freien AS wurden vorgenommen. Parallel zum Phenylalanin konnten sechs verschiedene Isomere nachgewiesen werden^{48,82,109-113}. In der LIF-Spektroskopie zeigte sich durch die Bildung von intramolekularen Exciplexen¹¹⁴ bei einigen Isomeren eine um 2000 cm^{-1} rotverschobene Emission mit geringerer Lebensdauer¹¹⁵. Diese konnte bei Trp-Ester nicht beobachtet werden¹⁰⁸. Aufgrund von Dipolwechselwirkung mit dem Indolring konnten im angeregten Zustand eines Isomers des Trp durch einen Protonentransfer über eine intramolekulare WBB ein zwitterionischer Übergangszustand nachgewiesen werden^{116,117}. In theoretischen Berechnungen auf HF/6-31G* Niveau konnte beim Phenylalanin die stabilste zwitterionische Struktur mit einer Energiedifferenz von 90 kJmol^{-1} oberhalb der stabilsten neutralen Anordnung bestimmt werden, was in Übereinstimmungen mit Untersuchungen an anderen Aminosäuren^{118,119} (z.B. Glycin) steht. In neueren Veröffentlichungen von Zwier *et al.* wurde die geschützte Aminosäure AcTrpNHMe mittels der neuen *hole-filling*-Spektroskopie und IR/LIF Spektroskopie untersucht^{120,121}.

Wie zuvor beim Phenylalanin und beim Tyrosin betrachteten wir wieder die durch Acetyl- und Methyl-Gruppen geschützte Spezies.

Um den Einfluss einer polaren Seitenkette auf die Struktur möglicher Dimer zu untersuchen wurde die Seitenkette (der Indolring) am aziden NH unsubstituiert belassen.

7.2 R2PI-Spektrum des AcTrpOMe

Das Spektrum im Bereich von $34550\text{-}35450\text{ cm}^{-1}$ wird dominiert von zwei breiten Banden, die niederfrequenter (34896 cm^{-1}) weist eine Verschulterung zu blauerer Wellenzahlen auf. Alle insgesamt fünf Banden bei 34896 cm^{-1} , 34913 cm^{-1} , 34936 cm^{-1} , 35320 cm^{-1} und 35327 cm^{-1} (siehe Abb. 39) konnten IR-spektroskopisch einem einzigen Isomer zugeordnet werden. Die deutliche Reduktion der beobachteten Isomere gegenüber den Untersuchungen an der ungeschützten Aminosäure Tryptophan steht wieder in direktem Einklang mit den Ergebnissen an der geschützten Aminosäure AcPheOMe.

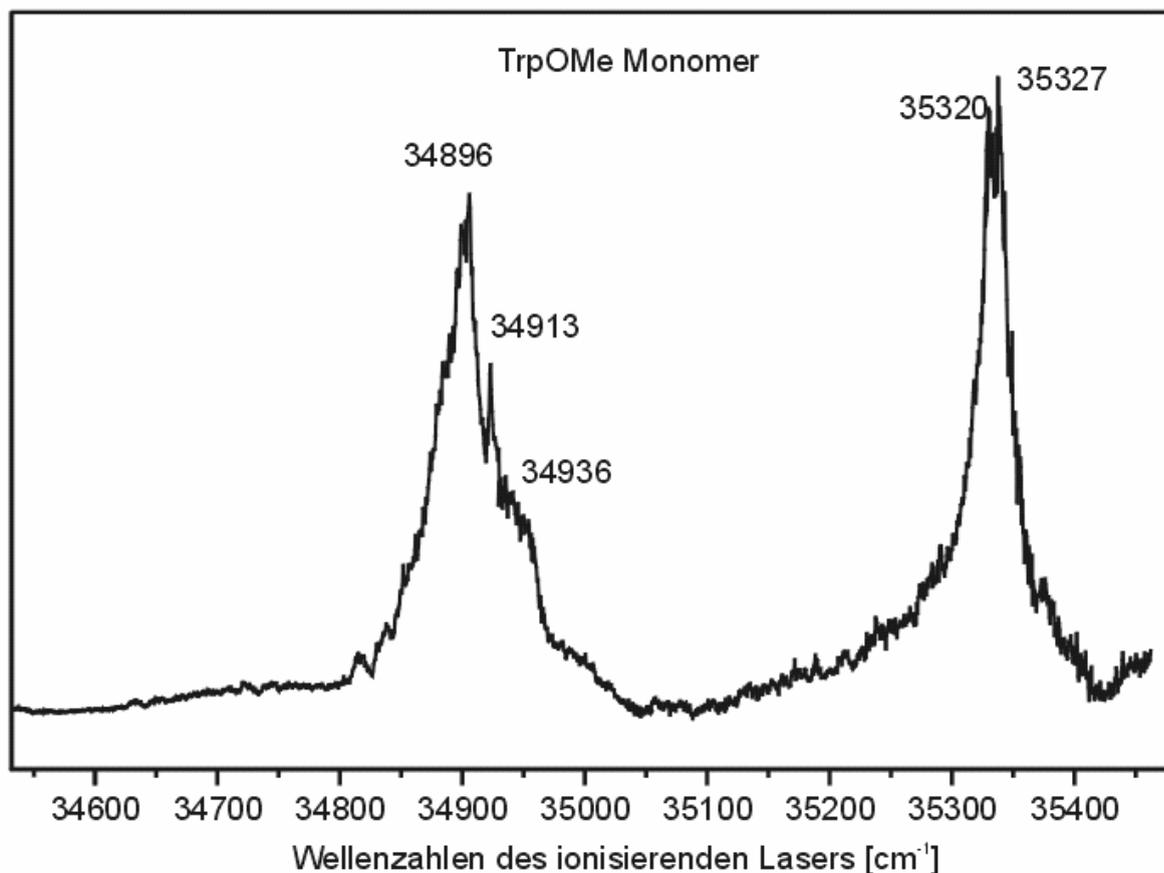


Abb. 39 R2PI-Spektrum des AcTrpOMe von 34400-35500 cm⁻¹, alle Banden gehören zu einem Isomer

Zur Auffindung aller möglichen stabilen Isomere wurden Kraftfeldrechnungen sowohl mit der Methode der *modified quenched dynamics* aber auch mit der Methode des *simulated annealing* durchgeführt. Die Kraftfeldrechnungen ergaben, dass als stabilste Strukturen auch hier nur Strukturen mit einer β_L -Konfiguration des Rückgrates in Frage kommen. Die drei stabilsten Strukturen unterscheiden sich lediglich durch die relative Stellung der Seitenkette bezüglich des Rückgrates. Parallel zum AcTyr(Me)OMe ist zur Beschreibung der Seitenkette beim Trp die Einführung eines zweiten Winkels χ_2 nötig. Es muss also zwischen einer Anordnung mit $\chi_2 = -90^\circ$ (Abkürzung „-“) und einer Anordnung mit $\chi_2 = +90^\circ$ (kurz „+“) unterschieden werden. Die drei stabilsten Anordnungen mit $\beta_L(a,+)$ -, $\beta_L(g,+)$ -

und $\beta_L(g+,-)$ -Konfiguration sind die in Abb. 40 wiedergegebenen. Die nullpunktsenergiekorrigierten Stabilitäten lagen in einem Bereich von $< 500 \text{ cm}^{-1}$. Um einen besseren Vergleich mit den Berechnungen des Dimers zu ermöglichen wurden die Berechnungen für das Monomer und Dimer auf dem gleichen theoretischen Niveau wie bei den zuvor untersuchten Aminosäuren und Dimeren (HF Niveau mit einem 3-21 G* Basissatz) durchgeführt. Zusätzlich wurden für das Monomer noch Rechnungen auf DFT-Niveau mit dem höheren 6-31+G(d,p) Basissatz durchgeführt

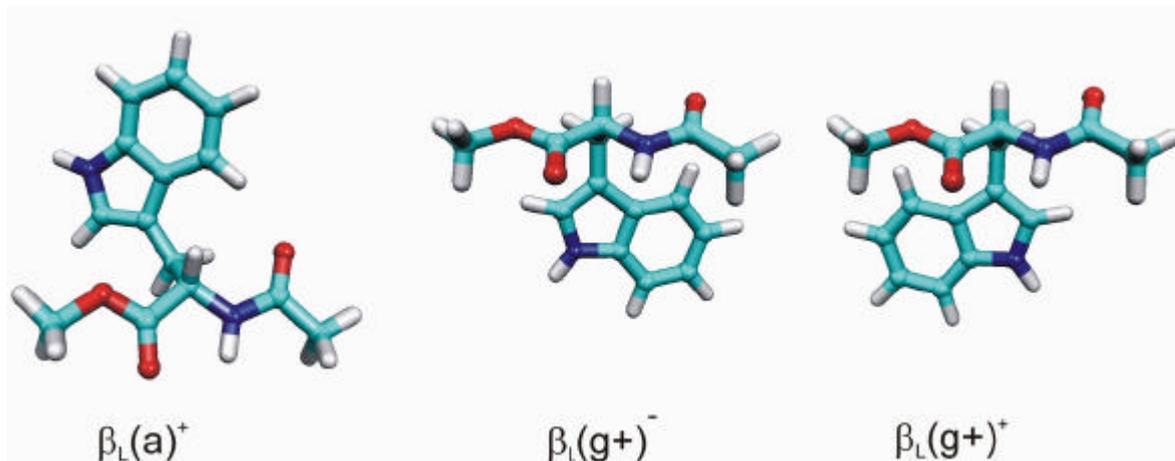


Abb. 40 Die stabilsten β_L Strukturen des AcTrpOMe, die sich nur durch die relative Stellung der Seitenkette voneinander unterscheiden (a) $\beta_L(a,+)$, (b) $\beta_L(g+,-)$, (c) $\beta_L(g+,+)$

7.3 IR/R2PI Spektren

7.3.a IR/R2PI-Spektrum von AcTrpOMe im N-H-Bereich

Im N-H-Bereich zeigten sich zwei klare Banden bei 3456 cm^{-1} und bei 3523 cm^{-1} . Durch Analogieschluss mit Messungen, die an AcTrpNHMe^{120,121} und an Indol¹²² durchgeführt wurden, konnte die Schwingung bei 3523 cm^{-1} der indolischen N-H-

Streckschwingung (3525 cm^{-1} bei Indol und AcPheNHMe) zugeordnet werden. Der Übergang bei 3456 cm^{-1} entspricht mit guter Übereinstimmung dem für AcPheOMe gemessenen Wert der amidischen N-H-Streckschwingung (3458 cm^{-1}) im Peptidrückgrat. Sie sind auch in guter Übereinstimmung mit den berechneten Schwingungsfrequenzen der als stabilste Konformere ermittelten Strukturen (Tabelle 6).

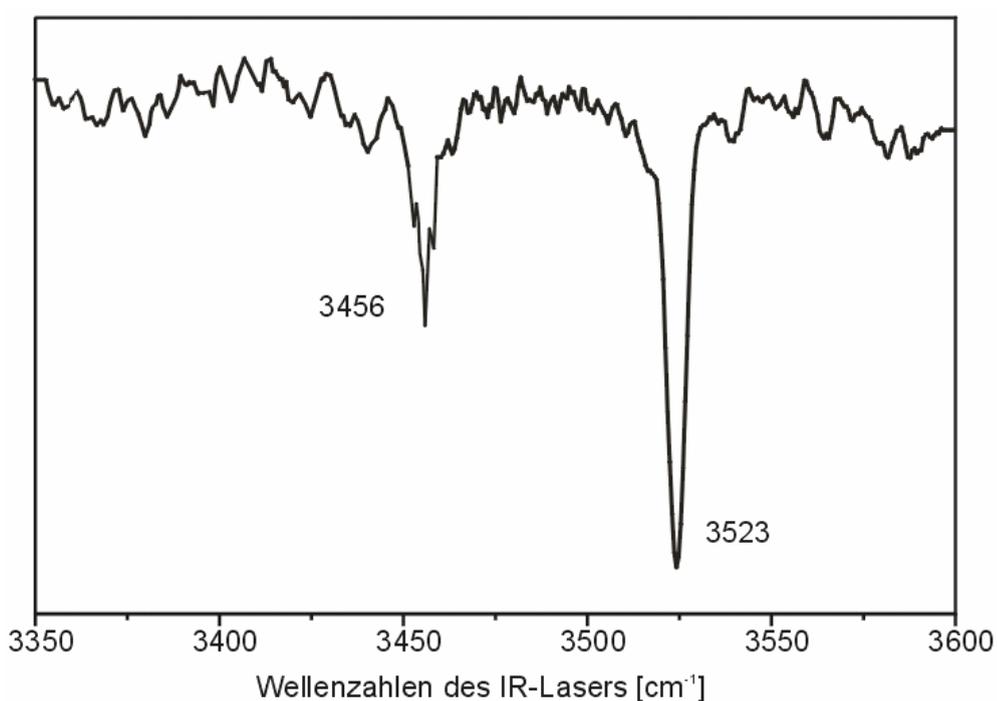


Abb. 41 IR/R2PI-Spektrum des AcTrpOMe im N-H-Bereich von $3350\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$

7.3.b IR/R2PI-Spektrum von AcTrpOMe im C=O-Bereich

Das IR/R2PI-Spektrum des C=O-Bereich liefert zwei diskrete Banden. Die Frequenzen der Übergänge liegen bei 1709 cm^{-1} und 1763 cm^{-1} . Auch hier lässt sich eine sehr gute Übereinstimmung mit den Spektren des AcPheOMe beobachten. Die Bande bei 1709 cm^{-1} entspricht der C=O-Streckschwingung der

Trp-Amidgruppe (1708 cm^{-1} bei AcPheOMe) und die Schwingung bei 1763 cm^{-1} in Analogie der Streckschwingung der Estergruppe (identischer Wert bei AcPheOMe). Die sehr gute Übereinstimmung der experimentellen Frequenzen des AcPheOMe und des AcTrpOMe unterstützen die These, dass es sich bei den stabilsten Strukturen der beiden Moleküle um sehr ähnliche Konformationen handelt. Aufgrund der sehr geringen Unterschiede der Stabilitäten der drei abweichenden Konformationen des AcTrpOMe und ihrer berechneten Schwingungsfrequenzen ist eine genaue Zuordnung zu einem der drei Isomere bezüglich der Seitenkettenorientierung auf diesem Theorieniveau jedoch nicht möglich (siehe Tabelle 6).

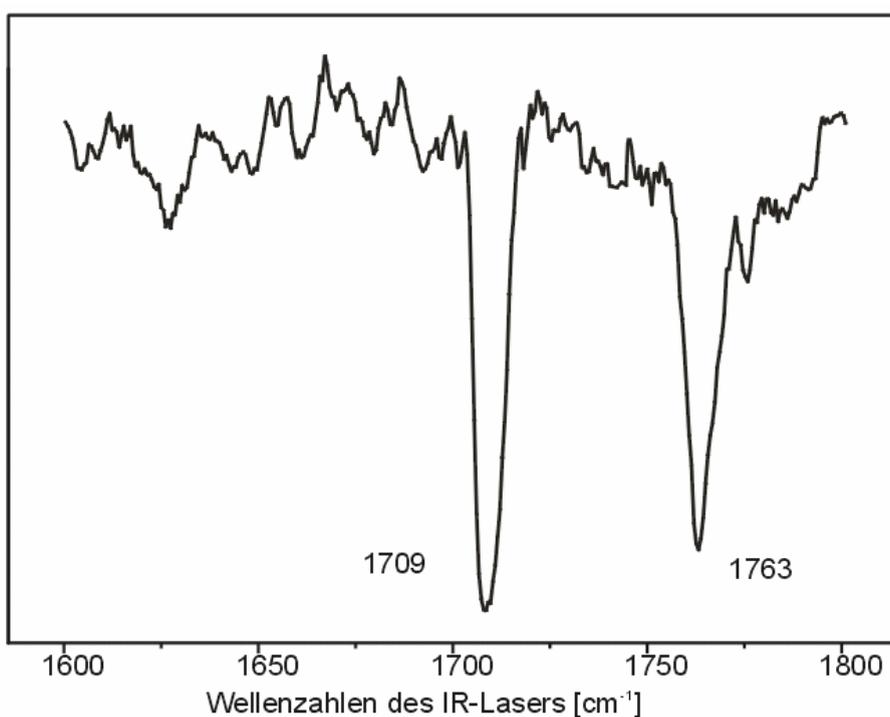


Abb. 42 IR/R2PI-Spektrum des AcTrpOMe im C=O-Bereich von $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$

	NH_{Ring}	NH_{Trp}	CO_{Ester}	CO_{Amid}	Rel. Energien
b_L(a,-)	3522	3460	1749	1705	50
b_L(a,+)	3523	3463	1750	1705	62
b_L(g,-,-)	3525	3458	1754	1723	436
b_L(g,-,+)	3522	3471	1757	1715	421
b_L(g+,-)	3523	3462	1759	1704	68
b_L(g+,+)	3522	3456	1757	1706	0
Exp.	3523	3456	1763	1709	

Tabelle 6 relative Stabilitäten, theoretische und experimentelle Schwingungsfrequenzen der drei stabilsten Konformere des AcTrpOMe (B3LYP/6-31+G(d,p)-Niveau), skaliert mit den Faktoren des AcPheOMe Faktoren auf gleichem theoretischen Niveau (N-H 0,9559 und C=O 0,9830)

7.4 AcTrpOMe Dimer

Auch hier wurden zum $(\text{AcPheOMe})_2$, $(\text{AcPheNHMe})_2$ und $(\text{AcTyr(Me)OMe})_2$ analoge Untersuchungen am Dimer vorgenommen.

7.5 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcTrpOMe})_2$ im N-H-Bereich

Das R2PI-Spektrum im Bereich von $34550\text{-}35200\text{ cm}^{-1}$ zeigte eine breite, strukturierte Bande mit Maxima bei 34662 cm^{-1} , 34679 cm^{-1} , und 34693 cm^{-1} . Die Infrarotspektren bei allen drei Anregungswellenlängen zeigten die gleichen Übergänge. Sie konnten daher alle einem einzigen Isomer zugeordnet werden. Die folgenden Infrarotspektren wurden bei einer $S_1 \rightarrow S_0$ Anregung von 34662 cm^{-1} aufgenommen.

Im N-H-Bereich zwischen 3250 cm^{-1} und 3600 cm^{-1} sind vier Übergänge zu beobachten. Zwei befinden sich mit 3426 cm^{-1} und 3449 cm^{-1} im Bereich der freien N-H-Streckschwingungen, zwei stark verbreiterte in der Region, in der H-Brückengebundene zu erwarten sind. Auffällig ist, dass die prominente indolische N-H-Schwingung aus dem Spektrum des Monomers bei 3523 cm^{-1} nicht mehr zu beobachten ist (siehe Abb. 43).

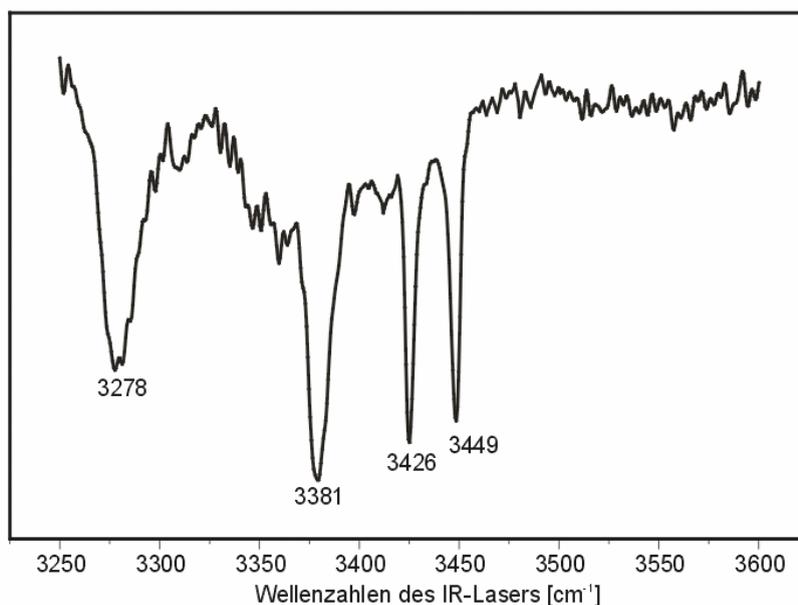


Abb. 43 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcTrpOMe})_2$ im N-H-Bereich von $3250\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$

Dies führt zu dem Schluss, dass das Dimer des Trp eine völlig andere Struktur als die Dimere der anderen untersuchten Substanzen ausbilden muss. Dieses Dimer muss in beiden Molekülen über die N-H-Bindung des Indolrings verbrückt sein. Die Kraftfeldrechnungen ergaben drei stabile Konformationen im Bereich von 3000 cm^{-1} , zwei der drei Konformere weisen H-Brücken auf, die über die indolische Seitenkette ausgebildet sind (siehe Abb. 44). Abb. 44 b) zeigt eine, bezüglich der indolischen N-H-Gruppe, symmetrisch verbrückte Struktur.

In Abb. 44c) werden die beiden H-Brücken, wiederum ausgehend von den indolischen N-H-Gruppen, zu unterschiedlichen Carbonylfunktionen ausgebildet. Dies entspricht einer asymmetrisch verbrückten Struktur. Sie stellt nach den *ab initio* Berechnungen (HF/3-21G(d)-Niveau) die stabilste Anordnung dar, die symmetrisch verbrückte ist über 3300 cm^{-1} instabiler, eine β -Faltblattstruktur ist über 700 cm^{-1} weniger stabil als die asymmetrisch verbrückte Struktur (siehe Tabelle 7).

Bei einer symmetrischen Koordination verblieben im NH- und im C=O-Bereich jeweils zwei intensive Banden. Dies widerspricht den spektroskopischen

Beobachtungen im N-H Bereich. Um ausschließen zu können, dass eine der drei beobachteten Übergänge wie beim AcPheOMe zuvor einem Oberton einer prominenten C=O-Streckschwingung zu Grunde liegt, wurde zur eindeutigen Interpretation und Zuordnung auch das IR/R2PI-Spektrum in C=O-Bereich benötigt.

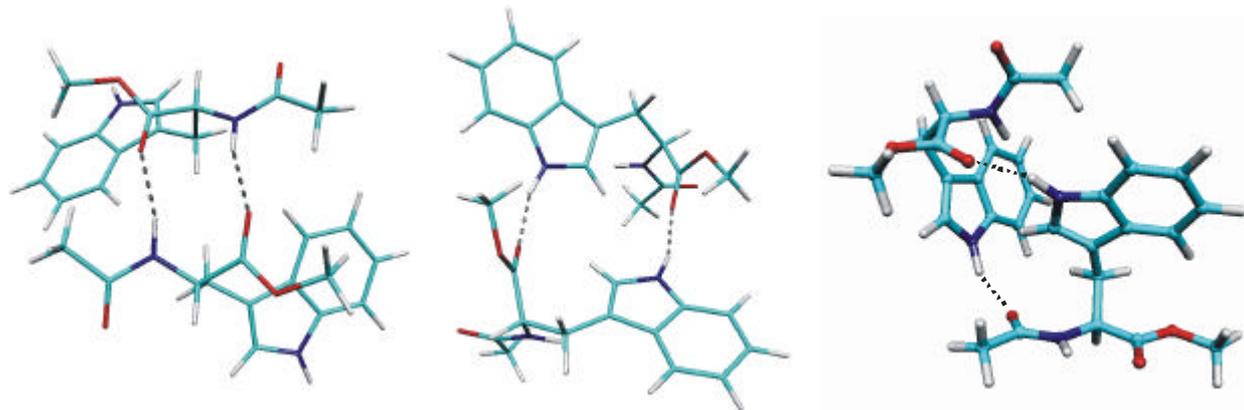


Abb. 44 Verschiedene Strukturen des $(\text{AcTrpOMe})_2$. (a) β -Faltblattmodell, (b) und (c) Strukturen, bei denen die NH-Gruppen der Trp-Seitenkette in die Wasserstoffbrücken eingebunden sind. b) ist symmetrisch verbrückt, beide H-Brücken bilden sich zwischen der Trp-Seitenkette und der amidischen Carbonylfunktion aus, bei c) bilden sich die beiden H-Brücken, ausgehend von der indolischen Seitenkette einmal zur amidischen Carbonylfunktion und einmal zur Ester-Carbonylfunktion aus.

7.6 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcTrpOMe})_2$ im C=O-Bereich

Auch im Bereich der C=O-Streckschwingungen von $1650\text{-}1775\text{ cm}^{-1}$ sind vier Übergänge zu beobachten. Drei weitere Banden sind zwischen $1400\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ zu erkennen. Aufgrund der Tatsache, dass sowohl im C=O als auch im N-H-Bereich mehr als zwei Banden zu finden waren, kann gefolgert werden, dass es sich bei dem gemessenen Dimer tatsächlich um die nicht symmetrisch verbrückte Anordnung handelt.

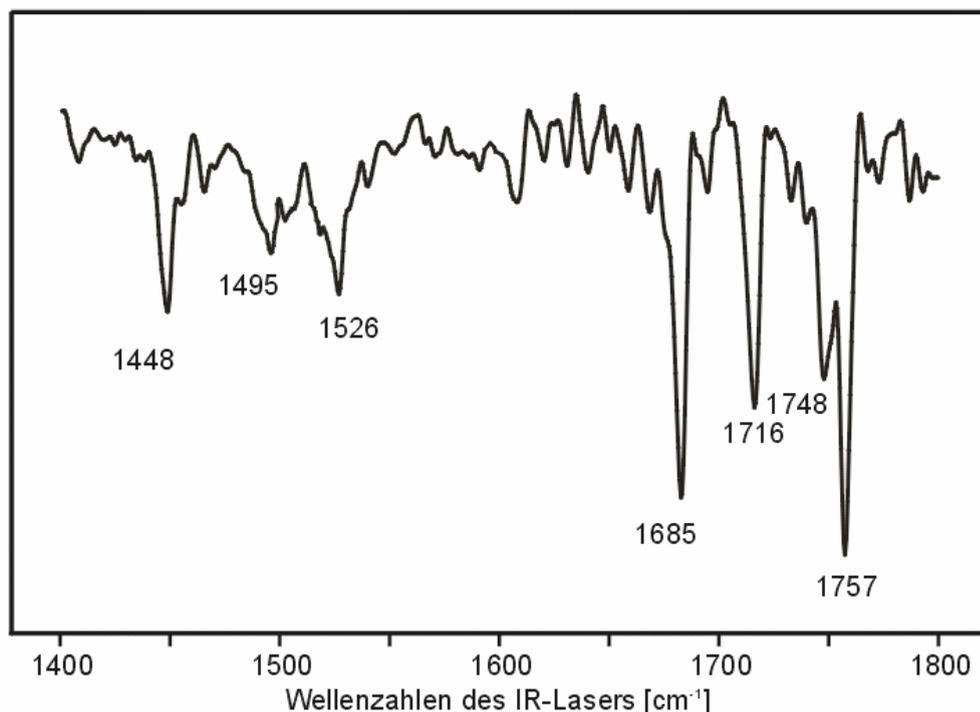


Abb. 45 IR/R2PI-Spektrum des $(\text{AcTrpOMe})_2$ im C=O-Bereich von $1400\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$

Zur Unterstützung der getroffenen Zuordnung wurden für die stabilsten Konformer ab initio Berechnungen durchgeführt. Sie wurden auf demselben Level (HF/3-21G(d)) wie auch schon beim AcTyr(Me)OMe, dem AcPheOMe und dem AcTrpOMe Monomer angesetzt. Die aus den Frequenzläufen erhaltenen Frequenzen wurden im N-H-Bereich mit einem Faktor von 0.9076 und im C=O-Bereich mit 0.9140 skaliert, die für das AcPheOMe ermittelt wurden. Die berechneten Frequenzen stehen in guter Übereinstimmung mit den experimentell ermittelten Frequenzen.

Die in Tabelle 7 getroffenen Zuordnungen beziehen sich dabei auf die Abb. 44c für die beiden asymmetrisch verbrückten Moleküle im Dimer. Die beiden breiten Banden am roten Ende des N-H-Spektrums (3381 cm^{-1} und 3278 cm^{-1}) gehören zu den beiden H-brückengebundenen Schwingungen der indolischen N-H. Die beiden freien NH-Schwingungen des Rückgrats der Moleküle I und II sind bei 3426 cm^{-1} und 3449 cm^{-1} lokalisiert.

Die Schwingung der gebundenen und freien C=O des Moleküls I (gebunden über die amidische C=O) liegen bei 1685 cm^{-1} und 1757 cm^{-1} . Die gebundene und freie C=O-Schwingung im Molekül II (gebunden über die Ester C=O) sind bei 1750 cm^{-1} und 1716 cm^{-1} zu finden (Zuordnung siehe Tabelle 7).

Die drei Banden im C=O-Spektrum zwischen $1400\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ sind den drei N-H-Biegeschwingungen zuzuordnen.

Struktur	rel. E. [cm^{-1}]	NH sym.	NH asym.	NH _{ind} sym.	NH _{ind} asym.	CO _{amid} sym.	CO _{amid} asym.	CO _{ester} sym.	CO _{ester} asym.
Dimer 1 β -Faltblatt	733	3361	3366	3475	3476	1726	1724	1738	1738
Dimer 2 symm.	3322	3373	3371	3500	3501	1715	1702	1724	1733
		NH (II)	NH (I)	NH _{ind} (I)	NH _{ind} (II)	CO _{amid} (II)	CO _{amid} (I)	CO _{ester} (I)	CO _{ester} (II)
Dimer 3 antisym.	0	3463	3437	3365	3302	1729	1676	1760	1757
Exp.		3449	3426	3381	3278	1716	1685	1757	1750

Tabelle 7 Stabilitäten und Schwingungsfrequenzen der drei stabilsten Strukturen HF/3-21G(d); NH Skalierungsfaktor 0.9076; CO Skalierungsfaktor 0.9140

Die Konformation eines der beiden am Dimer beteiligten Monomere liegt nicht im Bereich einer β -Faltblattanalogen Struktur. In der stabilsten Anordnung, wie sie den spektroskopischen und theoretischen Betrachtungen nach vorliegt, nimmt lediglich eines der beiden Moleküle eine Struktur ein, die im Bereich der β_L -Anordnung liegt. Die Winkel dieses Moleküls (über amidische CO gebunden) stellen sich bei -177° für ϕ , 178° für ψ , 48° für χ_1 und -95° für χ_2 ein, eine $\beta_L(g+)$ Konfiguration. Die Konfiguration des zweiten Moleküls (über Ester-CO gebunden) ist bei $\epsilon_L(g+)$ lokalisiert (-83° für ϕ , 176° für ψ , 48° für χ_1 und 87° für χ_2).

Die gefundene Anordnung stellt im Unterschied zu den Dimeren des AcPheOMe, des AcPheNHMe und des AcTyr(Me)OMe keine β -Faltblattmodell dar. Der Einfluss einer polaren Seitengruppe auf die gebildete Struktur des Dimers ist beträchtlich. Lediglich die Konformationen eines der beiden am Dimer beteiligten Moleküle und keine der Andockstellen der H-Brücken spiegeln die Verhältnisse in einem β -Faltblatt wieder. Für weitere Untersuchungen ist daher die Anwesenheit von polaren Seitenketten durch geeignete Schutzgruppe (siehe AcTyr(Me)OMe) zu vermeiden.

8 AcValPheOMe

8.1 Theoretische Betrachtungen

Die spektroskopischen und theoretischen Untersuchungen, die an den bisher vorgestellten, geschützten Aminosäuren durchgeführt wurden, wurden auch an größeren Systemen erprobt. Das hier untersuchte Molekül AcValPheOMe ist das erste in der Gasphase untersuchte Peptid, bei dem auch IR/R2PI-Spektren aufgenommen wurden. Die Praktikabilität von R2PI und IR/R2PI spektroskopischen Methoden hat sich in zahlreichen Untersuchungen gezeigt^{82,123-128}. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden ausschließlich UV- und UV/UV-Lochbrenn-Spektren von Di- und Tripeptiden an isolierten Molekülen veröffentlicht.^{129,130} Das hier verwendete geschützte Dipeptid ist kein kommerziell erhältliches Produkt. Es wurde im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von T. Schrader, im organisch chemischen Institut der Uni Marburg speziell für uns synthetisiert.

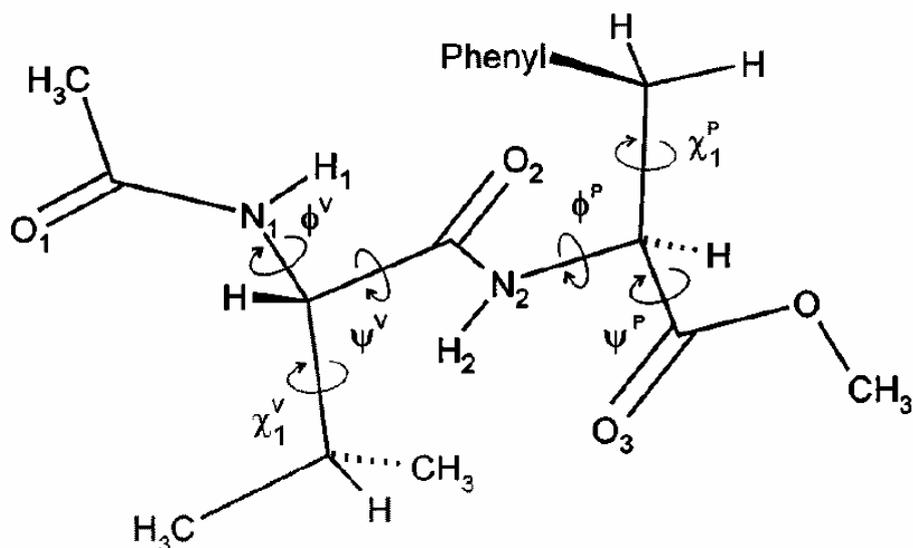


Abb. 46 Struktur des Dipeptid AcValPheOMe, dargestellt in einer gestreckten $b^V(g^-)$ - $b^P(g^+)$ Anordnung.

Zur Beschreibung des Peptidrückgrates beim AcValPheOMe werden zwei Sätze Winkel ϕ_i , ψ_i und χ_i ($i=V$ für Valinrückgrat und $i=P$ für Phenylalaninrückgrat) benötigt sowie zwei Winkel χ_V und χ_P für die entsprechenden Seitenkettenkonfigurationen (siehe Abb. 46). Für eine Berechnung der stabilsten Strukturen und Frequenzanalyse mussten sämtliche Parameter optimiert werden.

8.2 R2PI-Spektrum des AcValPheOMe

Im R2PI-Spektrum von $37300\text{--}38300\text{ cm}^{-1}$ sind ein breiterer Übergang bei 37574 cm^{-1} , ein schwächerer, schmaler bei $+383\text{ cm}^{-1}$ und zwei starke Übergänge bei $+449\text{ cm}^{-1}$ und $+539\text{ cm}^{-1}$ im Bezug auf den elektronischen Ursprung zu erkennen (Abb. 47). Alle Banden konnten anhand ihrer IR/R2PI-Spektren einem einzigen Isomer zugeordnet werden. Dieses Ergebnis zeigt starke Übereinstimmungen mit den Untersuchungen an dem System AcPheOMe, auch

dieses Spektrum wies lediglich Banden eines einzigen Isomers auf. Im Spektrum des Dipeptids ist jedoch der 0-0 Übergang wesentlich schwächer als die Schwingungsbanden.

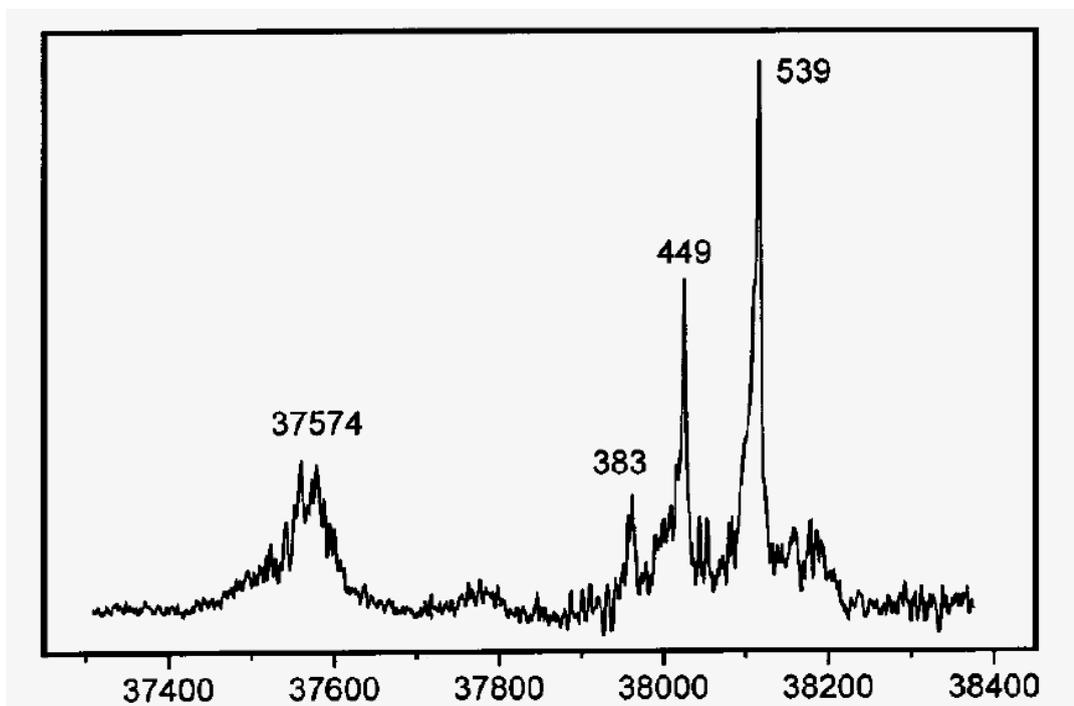


Abb. 47 R2PI-Spektrum des AcValPheOMe von 37300-38400 cm^{-1} , Ursprung und drei Schwingungsbanden desselben Isomers

Auch die Frequenzen der Schwingungsbanden bezüglich des Spektrenursprung zeigen starke Übereinstimmung mit denen des AcPheOMe Spektrums. Die Schwingungsfrequenzen von 383 cm^{-1} (381 cm^{-1}), 449 cm^{-1} (446 cm^{-1}) und 539 cm^{-1} (537 cm^{-1}) der beiden Substanzen zeigen eine Abweichung von $\approx 3 \text{ cm}^{-1}$ und die Ursprünge der beiden Substanzen unterscheiden sich um lediglich 5 cm^{-1} . Dies lässt den Schluss zu, dass die Anregung beider Moleküle im Chromophor des Phenylalanins lokalisiert ist. Eine elektronische Anregung des Valinrests ist bei wesentlich höheren Frequenzen zu erwarten, da er keinen aromatischen Chromophor enthält.

8.3 IR/R2PI-Spektren des AcValPheOMe

Die IR/R2PI-Spektren des AcValPheOMe wurden nicht über den elektronischen Ursprung, sondern über die stärkste Schwingungsbande bei $+539\text{ cm}^{-1}$ relativ zum elektronischen Ursprung aufgezeichnet. Das IR/R2PI Spektrum im Bereich von $2800\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ (N-H-Bereich) ist in Abb. 48 dargestellt. Im niederfrequenten Bereich des N-H-Spektrums zwischen 2850 cm^{-1} und 3150 cm^{-1} sind insgesamt sieben Übergänge zu erkennen. Die vier Übergänge, die bei 3006 cm^{-1} , 3038 cm^{-1} , 3076 cm^{-1} und 3096 cm^{-1} , sind den aromatischen C-H-Schwingungen des Phenylrings zuzuordnen. Sie stehen in sehr guter Übereinstimmung mit den bei AcPheOMe beobachteten C-H-Streckschwingungsbanden bei 3003 cm^{-1} , 3039 cm^{-1} , 3074 cm^{-1} und 3095 cm^{-1} . Die beiden im Spektrum des AcPheOMe nicht auftretenden Banden bei 2941 cm^{-1} und 2965 cm^{-1} können den intensiven C-H-Streckschwingungen der valinischen CH_3 Gruppen zugeordnet werden.

Im Bereich von $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ sind drei schmale Banden zu beobachten, bei 3420 cm^{-1} , 3443 cm^{-1} und 3451 cm^{-1} . Die Tatsache, dass oberhalb von 3400 cm^{-1} , im Bereich der freien NH Streckschwingungen drei Übergänge zu identifizieren sind, jedoch keine unterhalb von 3400 cm^{-1} , führt zu der Vermutung, dass es sich parallel zum AcPheOMe auch hier um eine gestreckte, β -Faltblatt ähnliche Struktur handelt.

Die Bande bei 3451 cm^{-1} im N-H-Spektrum steht in sehr guter Übereinstimmung mit dem Wert der im AcPheOMe beobachteten N-H-Streckschwingung (3458 cm^{-1}). Für die Zuordnung der beiden Schwingungen bei 3441 cm^{-1} und 3420 cm^{-1} betrachten wir zuerst eingehend das Spektrum der C=O-Banden um eine mögliche Übereinstimmung mit einem Oberton dieser zu erzielen.

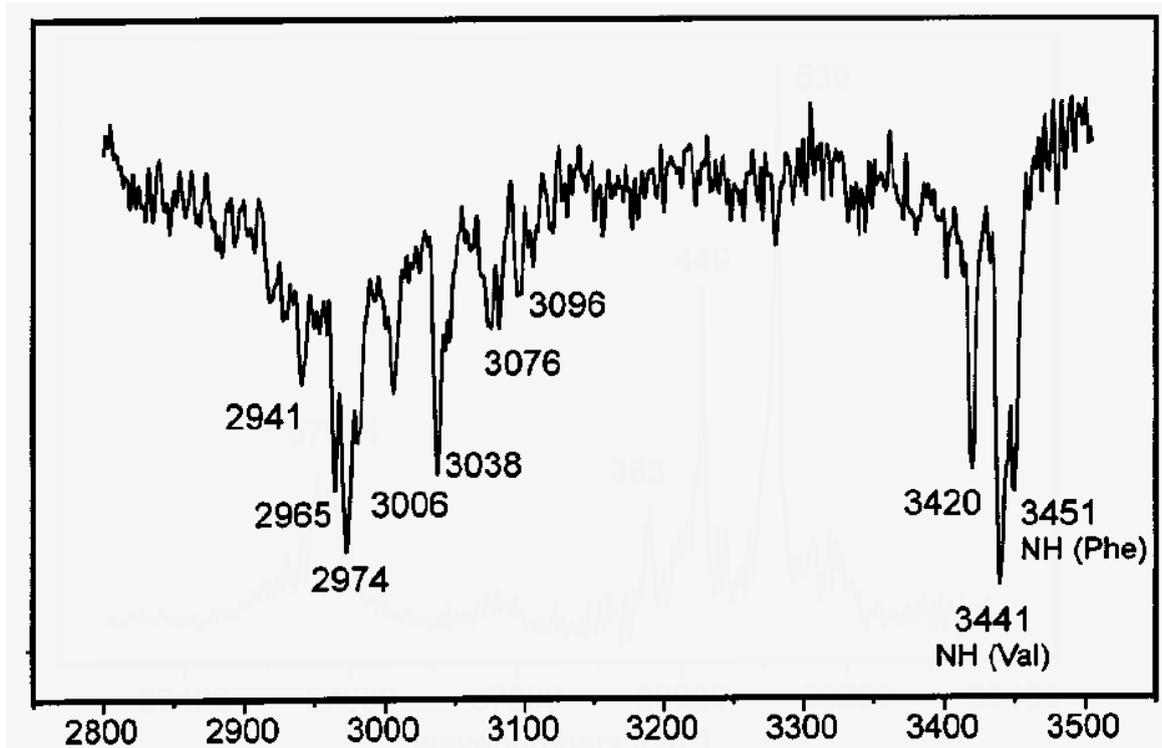


Abb. 48 IR/R2PI-Spektrum des AcValPheOMe im N-H-Bereich von $2800\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ über die prominenteste Schwingungsbande bei $+539\text{ cm}^{-1}$ relativ zum Ursprung bei 37574 cm^{-1}

Das Spektrum des C=O-Bereichs von $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ ist in Abb. 49 wiedergegeben. Deutlich sind zwei Schwingungen bei 1696 cm^{-1} und 1765 cm^{-1} zu beobachten. Die zwei C=O Banden bei 1711 cm^{-1} und 1765 cm^{-1} zeigen ähnliche Bandenlagen wie im geschützten Phenylalanin (1708 cm^{-1} und 1763 cm^{-1}). Diese konnten der C=O-Schwingung der N-terminalen Schutzgruppe (1708 cm^{-1}) und der C=O-Schwingung der gesch. Säurefunktion zugeordnet werden (1765 cm^{-1}). Nach Kenntnis dieser beiden Schwingungen kann die verbleibende Bande im C=O-Spektrum als valinischen Carbonylschwingung interpretiert werden. Die exakte Lage einer dritten Bande in der Schulter der starken Schwingungsmode bei 1696 cm^{-1} mit einer Übergangsfrequenz von 1711 cm^{-1} wurde mit Hilfe einer Bandenanalyse mit Gaußprofil ermittelt.

Nach Kenntnis der Grundtöne der drei Carbonylschwingungen kann eine Abschätzung für die 1. Obertöne getroffen werden. Aufgrund anharmonischen Verhaltens kann der erste Oberton eine niedrigere Frequenz haben als die doppelte Frequenz des Grundtons, eine höhere Frequenz ist nicht möglich. Die Anharmonizität liegt beim ersten Oberton einer typischen C=O-Schwingung⁹¹ (gemessen im System AcPheOMe) im Bereich $< 20 \text{ cm}^{-1}$. Da im Spektrum der N-H-Schwingungen keine Bande von 3400 bis 3300 cm^{-1} und auch keine oberhalb von 3450 cm^{-1} zu erkennen waren, scheiden die Schwingungen bei 1696 cm^{-1} und 1765 cm^{-1} als mögliche Grundtöne (1. Oberton bei $= 3392 \text{ cm}^{-1}$ und bei $= 3530 \text{ cm}^{-1}$) aus.

Für den ersten Oberton einer C=O Schwingung kommt folglich nur die Schwingung bei 1711 in Frage. Nach Zuordnung der Schwingung von 3420 cm^{-1} zum ersten Oberton der C=O-Schwingung bei 1711 cm^{-1} (Anharmonizität 2 cm^{-1}) konnte die Bande bei 3441 cm^{-1} der valinischen N-H-Schwingung zugeordnet werden.

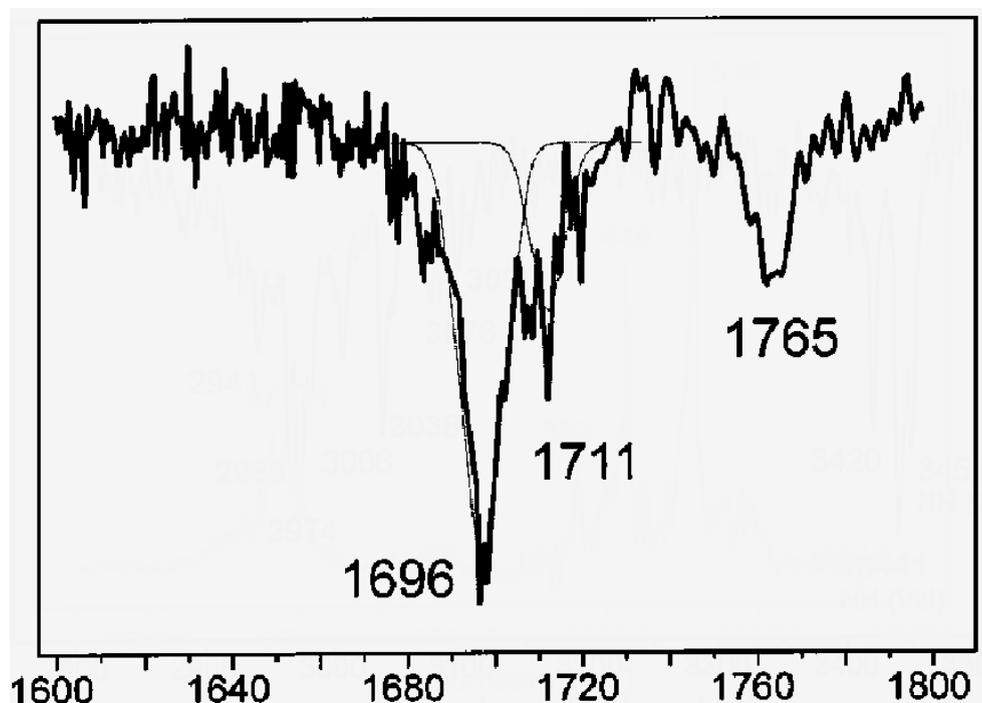


Abb. 49 IR/R2PI-Spektrum im C=O-Bereich von 1600 - 1800 cm^{-1} mit Bandenanalyse der verschulterten Bande bei 1696 cm^{-1}

Aufgrund der Größe des Systems konnten die Berechnungen nur auf HF-Niveau mit einem 3-21G(d) Basissatz durchgeführt werden, wie sie auch bereits für das (AcPheOMe)₂ mit sehr guten Ergebnissen durchgeführt wurden. Bei den Berechnungen zeigte sich, dass mehrere Strukturen ähnlich stabile Konformationen bilden. Im Bereich von 500 cm⁻¹ (korrigiert mit der Nullpunktsenergie), fanden sich zwei Strukturen mit $\beta^V(g+)$ - $\beta^P(g+)$ - und $\beta^V(a)$ - $\beta^P(g+)$ -Anordnung. Nach den Berechnungen stellte die stabilste das Konformer mit $\beta^V(g+)$ - $\beta^P(g+)$ Anordnung dar, deren Struktur in Abb. 46 dargestellt ist. Beide Konformere unterscheiden sich lediglich in der Orientierung der valinischen Seitenkette. Die für dieses Konformer in einem Frequenzlauf berechneten Schwingungsfrequenzen sind in Tabelle 14 gegen die spektroskopisch ermittelten aufgetragen.

Art der Schwingung	ber. Frequenz	exp. Frequenz
NH (Val, N1-H1)	3452	3441
NH (Phe, N2-H2)	3456	3451
C=O (Phe, C=O3)	1768	1765
C=O (Val, C=O2)	1686	1696
C=O (Acetyl, C=O1)	1725	1711
2 * C=O (Acetyl, C=O1)		3420

Tabelle 8 Berechnete und experimentelle Schwingungsfrequenzen für das AcValPheOMe ($b^V(g-)$ - $b^P(g+)$ - Konformer nach Berechnungen auf HF Niveau mit 3-21G(d) Basis Satz. Die berechneten Frequenzen sind mit den Skalierungsfaktoren des AcPheOMe (N-H 0,9076 und C=O 0,9140)

Die theoretischen Schwingungsfrequenzen wurden wie bei den anderen Untersuchungen auch hier mit den für das AcPheOMe ermittelten

Skalierungsfaktoren normiert. Alle erhaltenen Werte für N-H und C=O-Schwingungen stehen in sehr guter Übereinstimmung mit der getroffenen Zuordnung (siehe Tabelle 8). Die zur Beschreibung des Rückgrats benötigten Sätze von Winkeln lauten bei diesem Konformer für den valinischen Teil $\psi^V=164^\circ$, $\phi^V=-140^\circ$ $\chi^V=67^\circ$ und für die Konformation des Phenylalanins $\psi^P=180$, $\phi^P=-166^\circ$ $\chi^P=60^\circ$.

9 AcValTyr(Me)NHMe

9.1 Theoretische Betrachtungen

Wie zuvor schon bei den Untersuchungen am AcValPheOMe (siehe Kap. 8.1) sind auch beim AcValTyr(Me)NHMe zwei vollständige Sätze von Parametern ϕ_V , ψ_V , ω_V und χ_V (für den Valinteil) und ϕ_T , ψ_T , ω_T und χ_{1T} (für den Tyr-Teil) notwendig, um die Energiehyperfläche des Dipeptids vollständig zu berechnen (Abb. 50). Zusätzlich wird eine weitere Variable χ_{2T} für die Rotation der OMe-Gruppe benötigt.

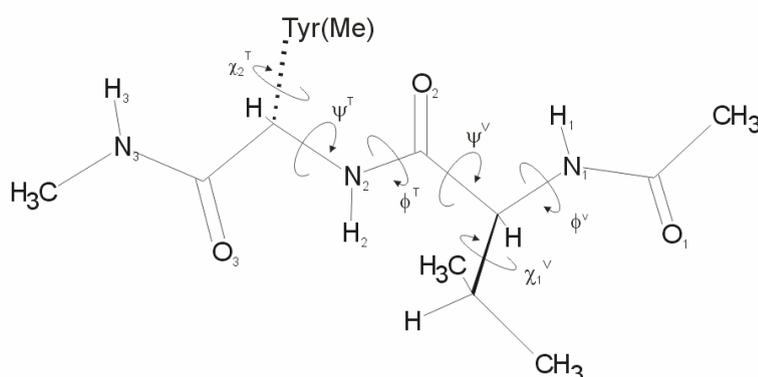


Abb. 50 AcValTyr(Me)NHMe mit Torsionswinkel der Peptideinheiten

9.2 IR/R2PI-Spektren

Die IR/R2PI-Spektren sind im Bereich der N-H-Streckschwingungen von 3300-3600 cm^{-1} (Abb. 51) und im Bereich der C=O-Streckschwingungen von 1600-1800 cm^{-1} (Abb. 52) abgebildet.

Sie wurden aufgezeichnet über den elektronischen Ursprung des $S_1 \leftarrow S_0$ -Übergangs bei 35434 cm^{-1} . Im Bereich der N-H-Streckschwingungsmoden können drei Übergänge bei 3411 cm^{-1} , 3440 cm^{-1} und 3477 cm^{-1} beobachtet werden. Alle Schwingungen sind oberhalb von 3400 cm^{-1} lokalisiert, was sehr stark auf eine lineare β -Faltblattanaloge Struktur ohne intramolekulare H-Brücken hindeutet.

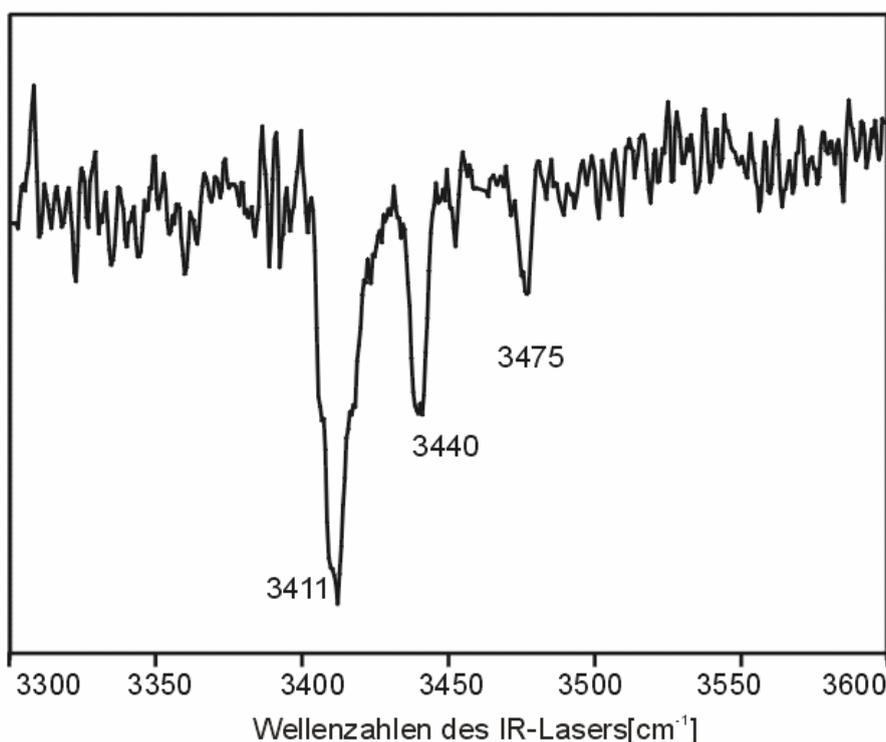


Abb. 51 IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich von $3300\text{-}3600 \text{ cm}^{-1}$

Die Schwingungsbanden solcher H-brückengebundenen N-H-Schwingungen sind typischerweise unterhalb von 3400 cm^{-1} zu finden (Siehe Kap. 5.9). Die N-H-Streckschwingung bei 3440 cm^{-1} ist sehr dicht bei dem Wert, der für die valinische N-H-Schwingung bei 3441 cm^{-1} im Spektrum des AcValPheOMe gemessen wurde und wird daher auch hier der N-H-Schwingung der Valin-N-H zugeordnet.

Die Übereinstimmung der beobachteten Frequenzen beider Systeme ist nicht überraschend, da die Anordnung in den linearen Konformeren bei AcValPheOMe

und AcValTyr(Me)NHMe annähernd identisch sein sollten. Aus den Messungen am AcPheNHMe⁸³ und AcTrpNHMe¹²¹ ist die N-H-Schwingung der NHMe-Schutzgruppe bei 3470 cm^{-1} bekannt. Aus diesem Grund kann die Bande bei 3477 cm^{-1} der N₃-H₃-Schwingung des AcValTyr(Me)NHMe zugeordnet werden (siehe Abb. 50). Die verbliebene Bande bei 3411 cm^{-1} gehört folglich zur N-H-Streckschwingung des Tyrosinteils. Ein direkter Vergleich mit der entsprechenden Schwingungsbande im System AcTyr(Me)NHMe ist leider nicht möglich, da dieses System bis heute noch nicht spektroskopisch untersucht worden ist.

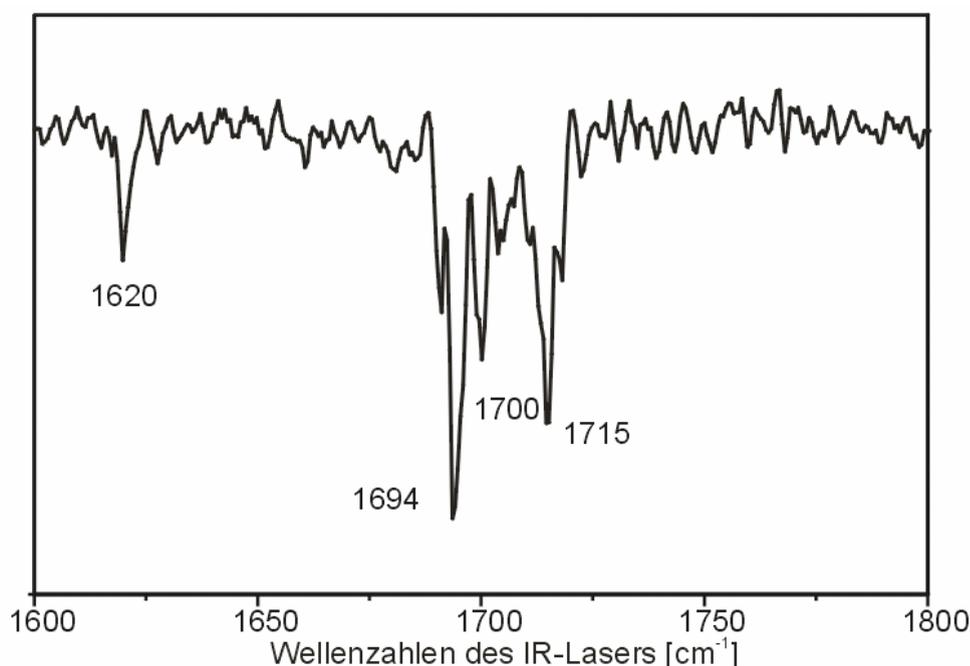


Abb. 52 IR/R2PI-Spektrum in C=O-Bereich von $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$

Jedoch erklären die Beobachtungen, die bei anderen geschützten Aminosäuren und Peptiden gemacht worden, die niedrige Frequenz von 3411 cm^{-1} (verglichen mit dem Wert von 3451 cm^{-1} für die NH-Schwingung des Phenylalaninteils im AcValPheOMe). Bei Gegenüberstellung der IR-Spektren von AcPheOMe⁹⁰ und dem AcPheNHMe⁸³ sowie der Systeme AcTrpOMe¹³¹ und AcTrpNHMe¹²¹ zeigten

die NH-Streckschwingungsfrequenzen im Peptidrückgrat eine Rotverschiebung von 20 cm^{-1} bzw. 25 cm^{-1} beim Tausch der Methyl- gegen die NHMe-Schutzgruppe. Auch beim Übergang vom AcPheOMe zum AcValPheOMe ist eine schwache Rotverschiebung der NH-Streckschwingung Phenylalaninrückgrat von 7 cm^{-1} zu verzeichnen. Sowohl die Erweiterung des Peptidrückgrats (von der geschützten Aminosäure bis hin zum Modelltripeptid) als auch die Wahl der NHMe-Schutzgruppe führen zur beobachteten Rotverschiebung der tyrosinischen N-H-Streckschwingungsfrequenz.

Die Zuordnung zu einer gestreckten β -Faltblattanalogen Struktur wird auch durch die C=O-Streckschwingungsfrequenzen des AcValTyr(Me)NHMe untermauert. Das IR/R2PI Spektrum zeigt drei Übergänge bei 1694 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} und 1715 cm^{-1} . Die Bande bei 1715 cm^{-1} ist in guter Übereinstimmung mit der Frequenz der C₁=O₁-Gruppe(Acetyl) aus dem AcValPheOMe (1711 cm^{-1}). Auch die Schwingung bei 1694 cm^{-1} ist fast identisch mit der im AcValPheOMe (1696 cm^{-1}) beobachteten C=O-Streckschwingung im Valinteil. Abschließend kann die verbliebene Bande bei 1700 cm^{-1} mit der C₃=O₃-Streckschwingung im Tyrosinteil korreliert werden.

Um die getroffene Zuordnung der Schwingungen zu untermauern wurden Kraftfeld- und *ab initio* Rechnungen durchgeführt. Zur Erzeugung von Startgeometrien für die *ab initio* Berechnungen wurde eine Vorauswahl durch Molekulardynamiken bei CFF Kraftfeldrechnungen durchgeführt. Mit Hilfe dieser Technik wurden ca. 30000 Strukturen minimiert und untereinander verglichen. Die CFF-Rechnungen zeigten, dass die β -Faltblattanalogen Strukturen die stabilsten Anordnungen lieferten, die sich lediglich in der Anordnung der Seitenkette unterschieden.

Aufgrund der sehr guten Übereinstimmung mit den experimentellen Frequenzen und um einen Vergleich mit den anderen untersuchten Systemen zu gewährleisten

wurden zur Interpretation der Schwingungen die skalierten Frequenzen auf HF/3-21G(d)-Niveau verwendet.

Alle β_L -analogen Strukturen wurden vollständig optimiert und die relativen Energien mit der Nullpunktenergie korrigiert. Die Schwingungsfrequenzen wurden mit den Skalierungsfaktoren des AcPheOMe (0,9076 für N-H-Streckschwingungen und 0,9140 für die C=O-Streckschwingungen) auf die experimentellen Frequenzen angeglichen. Die stabilste Anordnung lieferte das $\beta^V(g^-)\beta^T(a)$ -Konformer (V = Valin, T = Tyrosin). Die Torsionswinkel, die die Seitenketten- und die Rückgratkonformation charakterisieren, haben folgende Werte:

$$\begin{aligned}\phi^V(C_1-N_1-C_\alpha^V-C_2) &= -140^\circ, \psi^V(N_1-C_\alpha^V-C_2-N_2) = 164^\circ, \chi_1^V(N_1-C_\alpha^V-C_\beta^V-C_\gamma^V) = -68^\circ \\ \phi^T(C_2-N_2-C_\alpha^T-C_3) &= -166^\circ, \psi^T(N_2-C_\alpha^T-C_3-N_3) = 173^\circ, \chi_1^T(N_1-C_\alpha^T-C_\beta^T-C_\gamma^T) = -47^\circ\end{aligned}$$

Es ist zu erwähnen, dass zwei Strukturen von allen $\beta^V\beta^T$ -Konformeren diskutiert werden müssen, die sich nur in der Anordnung der OMe-Gruppe in der Tyrosin-Seitenkette unterscheiden. Bei einem positiven (negativen) Wert des Winkels χ_2^T wird die Struktur mit einem + (-) gekennzeichnet. Alle \pm Strukturen liefern annähernd identische Energien. Die Struktur in Abb. 53 ist eine $\beta^V(g^-)\beta^T(a)^+$ -Anordnung mit einem Torsionswinkel von $\chi_2^T(C_\alpha^T-C_\beta^T-C_\gamma^T-C_\delta^T) = 68^\circ$. Im $\beta^V(g^-)\beta^T(a)^-$ -Konformer ist die OMe Gruppe um ca. 180° um die C-O-Achse gedreht.

Die Werte für ϕ und ψ in den $\beta^V(g^-)\beta^T(a)^\pm$ -Strukturen weichen nicht mehr als 7° bei den Minimumsenergiestrukturen vom AcValPheOMe ab. Zwei strukturell unterschiedlichen Anordnungen ($\beta^V(g^+)\beta^T(a)^\pm$, $\beta^V(a)\beta^T(a)^\pm$) sind energetisch gesehen sehr dicht an der stabilsten Anordnung des AcValTyr(Me)NHMe. Ihre Energien zeigen unter Berücksichtigung der Nullpunktenergie eine Differenz von nur 100 cm^{-1} auf. Die auf dem HF/3-21G(d)-Niveau erhaltenen relativen Stabilitäten reichen für eine eindeutige Zuordnung nicht aus. Hinzu kommt, dass hier eine nicht β_L -Struktur die stabilste Anordnung ergab ($\gamma^V(g^-)\gamma^T(g)^+$, siehe Tabelle 9). Zusätzliche Rechnungen für die stabilsten Konformere mit dem höheren 6-31G(d,p) Basissatz lieferten dann wie bei den zuvor untersuchten

Systemen β_L -Anordnungen (stabilstes hier $\beta^V(g^-)\beta^T(a^+)$) als stabilste Konformere. Die berechneten Schwingungsfrequenzen der $\beta^V(g^-)\beta^T(a^+)$ -Anordnung sind in Tabelle 9 den experimentellen Frequenzen gegenübergestellt.

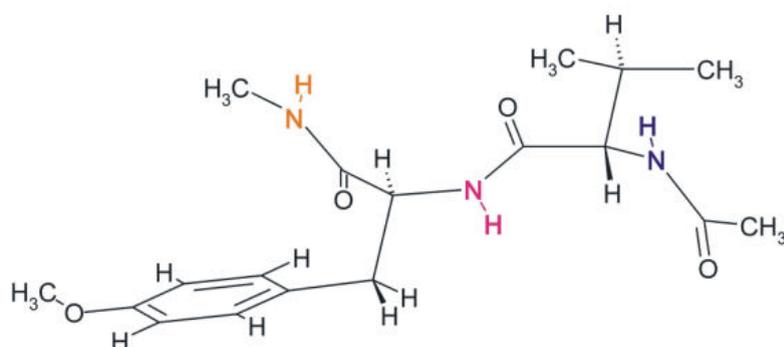


Abb. 53 Struktur AcValTyr(Me)NHMe in der stabilsten $\beta^V(g^-)\beta^T(a^+)$ Struktur

Rechnungen	6-31G(d,p)		3-21G(d)					
	ΔE	ΔE	Schwingungen					
Konformation	ΔE	ΔE	NHMe	NHTyr	NHVal	COAc	COVal	COTyr
$\beta g^- \beta a^+$	0	0	3464	3433	3451	1726	1664	1707
$\beta g^- \beta g^+$	642	806	3478	3429	3451	1726	1675	1716
$\beta g^- \beta a^+$	175	109	3463	3453	3443	1718	1660	1706
$\beta g^+ \beta g^+$		882	3479	3448	3450	1720	1673	1710
$\beta a \beta a^+$	230	109	3463	3443	3453	1718	1660	1704
$\gamma(g^-) \gamma(g^-)^+$	494	-347	3371	3490	3396	1686	1667	1716
$\beta(g^-) \gamma(g^-)^+$	738	497	3401	3474	3455	1726	1663	1718
Experiment	494		3477	3411	3440	1710	1694	1700

Tabelle 9 relative Stabilitäten (HF/3-21G(d)- und 6-31G(d,p)-Niveau), theoretische und experimentelle Schwingungsfrequenzen (HF/3-21G(d) Niveau) der stabilsten Konformere des AcValTyr(Me)NHMe. Die Frequenzen wurden mit den für AcPheOMe ermittelten Faktoren skaliert.

10 AcPheOMe-Templat-Cluster

10.1 Theoretische Betrachtungen

Wie in den vorhergehenden Kapiteln eingehend beschrieben ist, bilden die untersuchten, geschützten Aminosäuren im Molekularstrahl verschiedene Konformationen aus, die β -Faltblatt analoge Anordnungen einnehmen.

In verschiedenen Prionenkrankheiten^{1,132} wie BSE und Creutzfeldt-Jakob, zeigt sich das Fortschreiten der Krankheit durch großflächige Ausbreitung von β -Faltblattstrukturen im Protein.

Kemp *et al.*^{133, 134} konnte bereits 1988 die Stabilisierung einer β -Faltblattanordnung durch 2,8-Diaminoepindolidione nachweisen. In Arbeiten von Schrader *et al.*^{135,136} wurde mittels ¹H-NMR Spektroskopie gezeigt, dass verschiedene Derivate von substituierten Pyrazolen sehr stabile Cluster¹³⁷ mit geschützten Peptiden bilden. Die untersuchten Peptide konnten in dem gebildeten Cluster durch Ausbildung von intermolekularen WBB in β -Faltblattstrukturen stabilisiert werden.

In einer aktuellen Veröffentlichung wurde mittels Infrarotspektroskopie eine Lösung aus Ferrocenoyl-Dipeptiden mit 3-Aminopyrazol in Chloroform untersucht¹³⁸. Alle spektroskopischen Befunde deuteten auf eine Komplexbildung in β -Faltblattanordnung hin.

Entgegen den Untersuchungen in der flüssigen Phase, lassen die Untersuchungen im Molekularstrahl zusätzlich noch Aussagen über die Stabilität der einzelnen gebildeten H-Brücken zu. Auch ist in der Gasphase eine isomeren- und zustandsselektive Betrachtung im Gegensatz zur Flüssigphase möglich und es gibt die Möglichkeit einer Differenzierung zwischen verschiedenen tautomeren

Strukturen. Diese ist aufgrund der zu kurzen Zeitskala der Umlagerung bei reinen NMR- und IR-Spektroskopischen Methoden in der Lösung nicht zugänglich.

Weitere Templatmoleküle, außer dem im folgenden Kapitel behandelten Pyrazol und 5-Methyl-3-aminopyrazol (TF-MAP siehe Kap. 10.5) und deren Cluster mit einem anderen Dipeptid und Tripeptidmodell werden in nachfolgenden Kapiteln eingehend besprochen¹³⁹ (AcValPheOMe, siehe Kap. 8 und AcValTyr(Me)NHMe, siehe Kap. 12).

Die Struktur des Pyrazols und der zwei tautomeren Strukturen von MAP (5-Methyl-3-aminopyrazol) sind in Abb. 54 dargestellt.

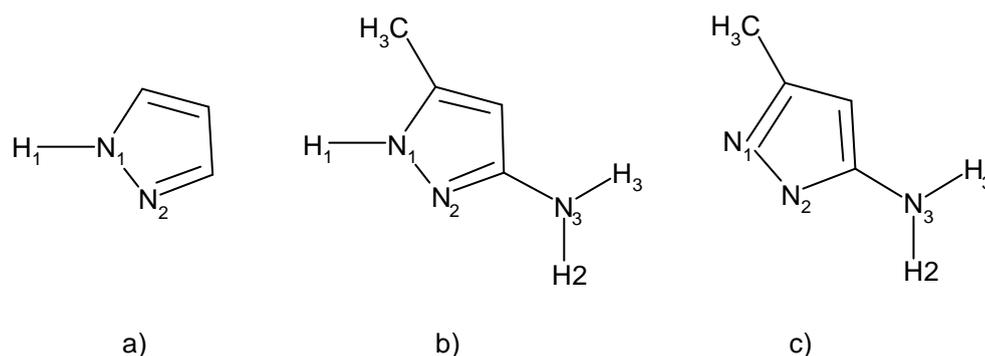


Abb. 54 Strukturen a) des Pyrazols und zwei tautomere MAP-Strukturen b) MAP1 und c) MAP2

10.2 AcPheOMe-Pyrazol-Cluster

Pyrazol ist in der Lage zwei Wasserstoffbrücken zum AcPheOMe auszubilden, eine als Protonendonator (N-H-Gruppe) und eine als -akzeptor (N-Atom des Ringes). Unter der Annahme einer solchen doppelt wasserstoffbrückengebundenen Struktur in β -Faltblattanordnung, ergibt sich für das spektroskopisch beobachtete Monomer des AcPheOMe, die in Abb. 55

dargestellte Anordnung. Die beiden Brücken bilden sich zwischen der Carbonylgruppe der Säurefunktion im Peptid und dem N¹-H¹ Atom des Pyrazolrings und zwischen der N'-H' Gruppe der Aminosäure und dem N² Atom des Pyrazolrings aus.

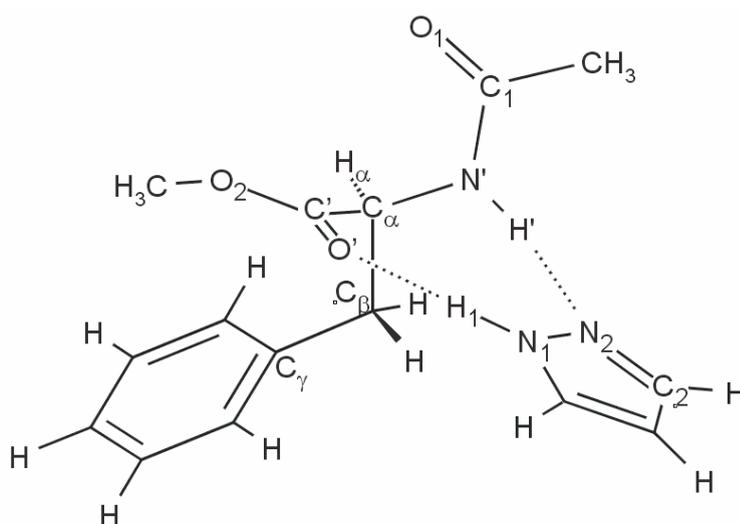


Abb. 55 AcPheOMe-Pyrazol-Cluster in b_L-Anordnung

10.3 R2PI-Spektrum des AcPheOMe-Pyrazol-Cluster

Im R2PI-Spektrum ist ein starker Übergang bei 37536 cm^{-1} zu beobachten, er ist 45 cm^{-1} gegenüber dem Monomer rot verschoben und liegt nur 1 cm^{-1} neben der Anregungswellenlänge des AcPheOMe-Dimers (37537 cm^{-1}). Außer dem Ursprung sind im Bereich bis 700 cm^{-1} auch noch zwei Schwingungsbanden bei 538 cm^{-1} und 563 cm^{-1} zu beobachten (siehe Abb. 56). Sie konnten aufgrund identischer IR-Schwingungsspektren eindeutig dem gleichen Isomer zugeordnet werden.

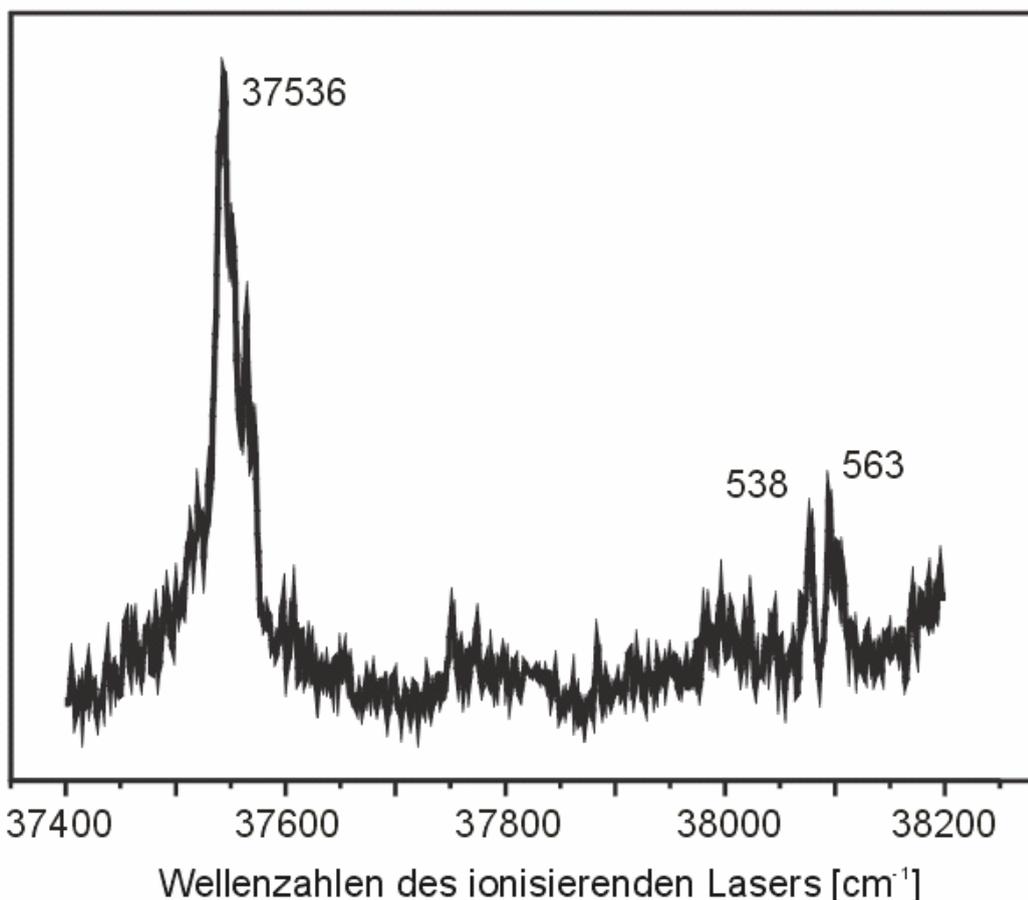


Abb. 56 R2PI-Spektrum des AcPheOMe-Pyrazol-Cluster von 37400-38200 cm^{-1}

10.4 IR/R2PI-Spektrum N-H-Bereich

Das Infrarotspektrum wurde über den Ursprung des R2PI-Spektrums bei 37535 cm^{-1} aufgenommen (siehe Abb. 57). Deutlich sind im Bereich von $3200\text{-}3350 \text{ cm}^{-1}$ zwei Übergänge (3259 cm^{-1} und 3312 cm^{-1}) zu erkennen. Sie sind stark gegenüber den Frequenzen der freien N-H-Schwingungen des AcPheOMe (3458 cm^{-1}) und des Pyrazols¹⁴⁰ (3508 cm^{-1}) verschoben. Dies ist ein eindeutiges Indiz für eine doppelt wasserstoffgebundene Struktur (Kap. 5.9). Typisch für in

H-Brücken gebundene N-H-Streckschwingungen sind die Banden gegenüber den Schwingungen freier N-H Gruppen verbreitert.

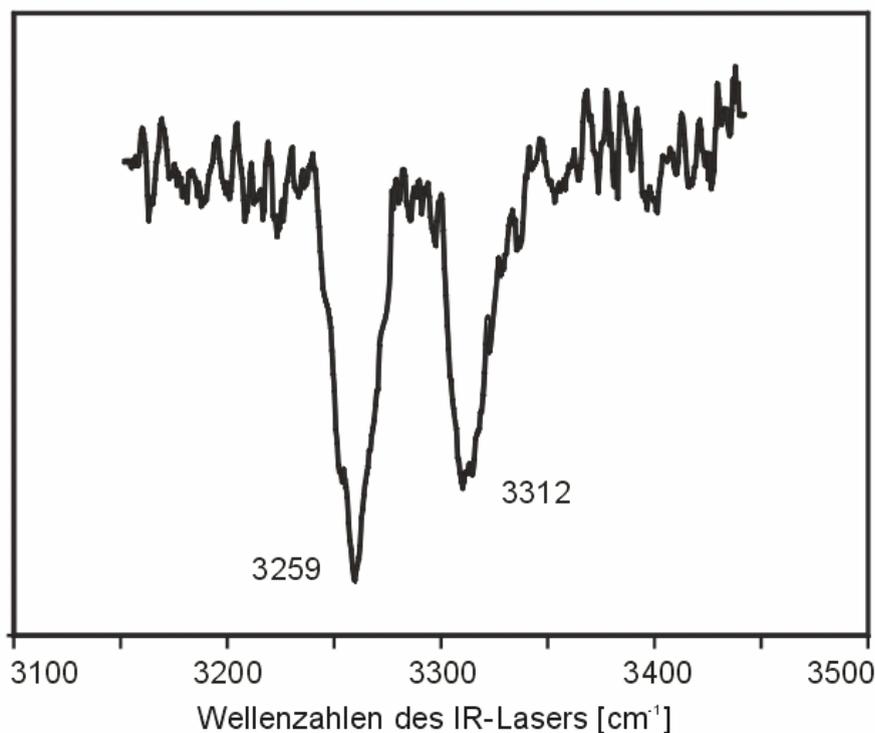


Abb. 57 IR/R2PI-Spektrum AcPheOMe-Pyrazol-Cluster im N-H-Bereich von 3150-3450 cm^{-1} via 37536 cm^{-1}

Ausgehend von den Monomerstrukturen ($\beta_L(a)$ und $\beta_L(g+)$) wurden auf DFT-Niveau mit einem B3LYP Funktional und dem auch für das Monomer verwendeten 6-31G(d) Basissatzes Berechnungen an den Clustern durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass die stabilsten Cluster, die in Abb. 55 abgebildeten Wasserstoffbrückenbindungen aufweisen. Die Schwingungsfrequenzen und relativen Stabilitäten der beiden β_L -Strukturen sind in

Tabelle 10 dargestellt. Analog zum $(\text{AcPheOMe})_2$ sind auch hier die an der Brücke beteiligten Bindungen $\text{C}'=\text{O}'$, N^1-H^1 und $\text{N}'-\text{H}'$ um 0,01-0,02Å länger als beim Monomer. Die Stabilität der beiden Strukturen unterscheidet sich um ca. 345 cm^{-1} unter Berücksichtigung der BSSE¹⁰¹ und Nullpunktenergiekorrektur. Die N-H-Schwingungsfrequenzen wurden mit dem Faktor 0,9587 skaliert.

(Skalierungsfaktor des AcPheOMe) Die skalierten Werte des $\beta_L(a)$ -Konformers stimmen sehr gut mit den experimentellen Schwingungsfrequenzen überein (siehe Tabelle 10). Dies ist nach den Berechnungen das stabilere Konformer. Die N-H-Schwingungen des $\beta_L(g+)$ Clusters weist deutlich stärkere Abweichungen bei gleichem Skalierungsfaktor auf.

Auch ist die Rotverschiebung der Banden im Cluster stärker als beim Dimer. Dies deutet auf deutlich stärkere Wasserstoffbrückenbindungen im Cluster hin. Sie wird auch durch die Berechnungen bestärkt, die beim Cluster eine um 980 cm^{-1} höhere Stabilisierungs- (Bindungs-) energie (1950 cm^{-1} Dimer, 2930 cm^{-1} Cluster) aufweist.

	NH (AcPheOMe)	NH (Pyrazol)	rel. Stabilität
$\beta_L(a)$ + Pyrazol	3265	3323	0
$\beta_L(g+)$ + Pyrazol	3298	3370	344
Exp. Freq.	3259	3312	

Tabelle 10 Stabilitäten und Schwingungsfrequenzen der beiden stabilsten Anordnungen des AcPheOMe-Pyrazol-Cluster (B3LYP/6-31G(d)Niveau)

10.5 AcPheOMe-MAP-Cluster

Für das 5-Methyl-3-AminoPyrazol (MAP) gibt es zwei tautomere Strukturen, die durch H-Shift des Protons zwischen den beiden Ring Stickstoffatomen ineinander übergehen (Abb. 54 b und c). Die erste tautomere Form (Abb. 54b) wird im Verlaufe mit MAP1 und die zweite tautomere Form (Abb. 54c) als MAP2 bezeichnet. Zu dem Molekül AcPheOMe können ausgehend von MAP1 oder MAP2 maximal zwei Wasserstoffbrücken ausgebildet werden. Neben unterschiedlichen, doppelt wasserstoffbrückengebundenen Strukturen, gibt es auch mögliche stabile Cluster mit nur einer Wasserstoffbrückenbindung. In Abb. 58 sind die verschiedenartigen Clustertypen abgebildet, die durch DFT

Rechnungen ermittelt wurden (B3LYP Funktional, 6-31G(d) Basissatz). Abb. 58a und b geben die Cluster mit MAP1 (a) und MAP (2) wieder, bei denen zwei Wasserstoffbrücken zum Pyrazolring ausgebildet werden, Abb. 58c eine doppelt wasserstoffbrückengebundene Struktur mit einer WBB zum Pyrazolring und eine zur 3-Amino Gruppe, Abb. 58d schließlich eine von vielen möglichen einfach wasserstoffbrückengebundenen Strukturen.

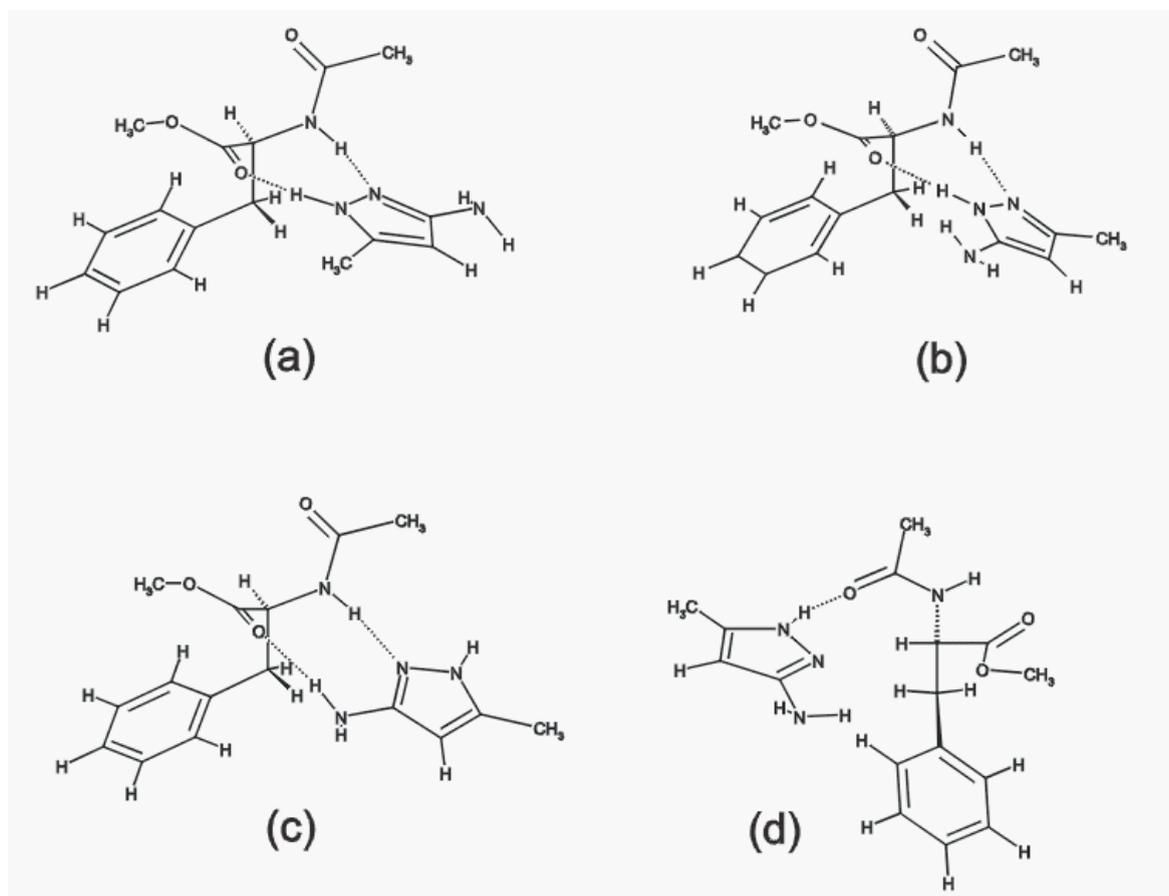


Abb. 58 Strukturen der verschiedenen mögliche AcPheOMe-MAP Cluster
a) und c) zeigen doppelt H-Brücken gebundene Strukturen des MAP1,
b) gibt eine vergleichbare Struktur des MAP2 wieder und d) zeigt eine von vielen
möglichen einfach brückengebundenen Strukturen, diese zeigt die C=O-Gruppe
der Aminosäure als Akzeptor und N-H-Gruppe des Pyrazols als Donor.

10.6 R2PI des AcPheOMe-MAP-Cluster

Im R2PI-Spektrum von $37300\text{--}38200\text{ cm}^{-1}$ sind zwei starke Übergänge bei 37517 cm^{-1} und 37558 cm^{-1} zu beobachten (siehe Abb. 59). Wie im weiteren Verlauf durch IR/UV-Untersuchungen ergab, repräsentieren die beiden Banden die 0-0 Übergänge zweier verschiedener Isomere des Clusters. Bei beiden Banden am blauen Ende des Spektrums handelt es sich mit einem Abstand von 537 cm^{-1} und 540 cm^{-1} zu Ihren Ursprüngen um Schwingungsbanden dieser beiden Isomere. Nach ab initio und DFT Rechnungen, kann diese Schwingung eindeutig der 6a Schwingung des aromatischen Ringes zugeordnet werden. Sie wurde auch im AcPheOMe Monomer mit einer Frequenz von 537 cm^{-1} in Bezug zum Ursprung gefunden. Auch hier ist, wie zuvor beim Pyrazol Cluster und beim $(\text{AcPheOMe})_2$, der Übergang gegenüber dem Monomer (37579 cm^{-1}) rot verschoben, was auf eine Stabilisierung durch die ausgebildeten Wasserstoffbrückenbindungen zurückzuführen ist.

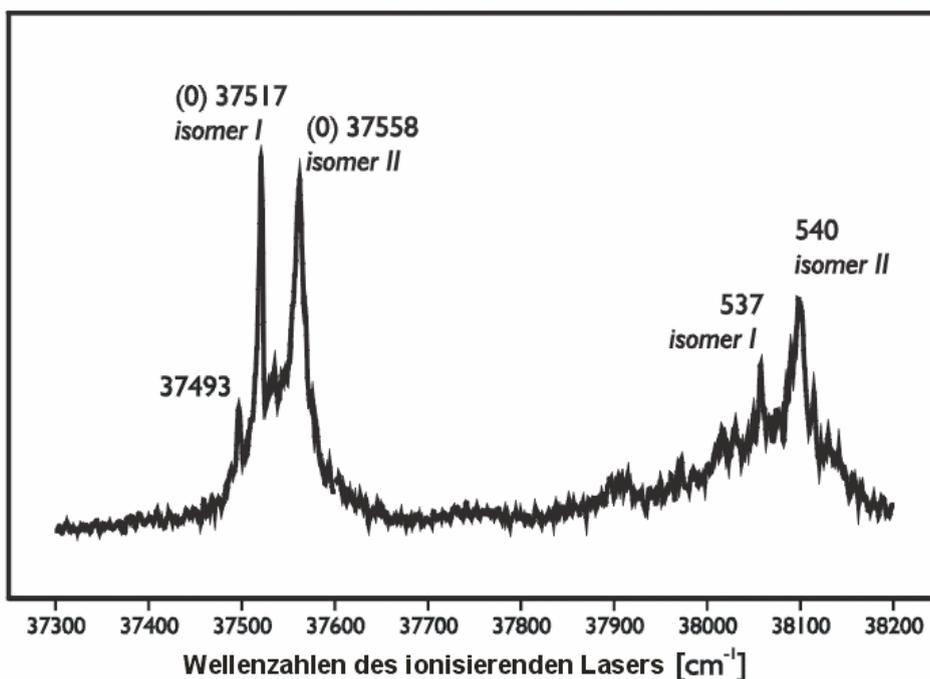
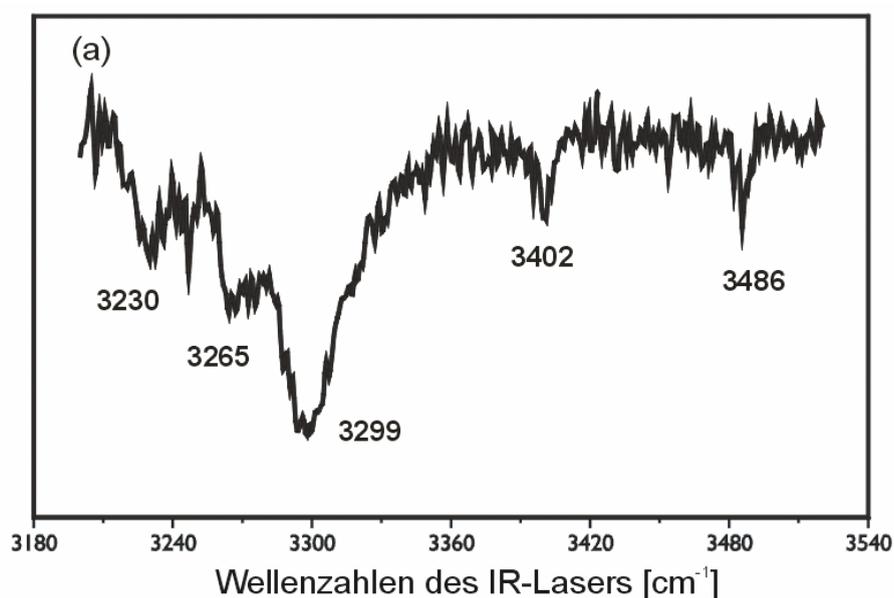


Abb. 59 R2PI-Spektrum des AcPheOMe-MAP-Clusters von $37300\text{--}38200\text{ cm}^{-1}$

10.7 IR/R2PI-Spektrum N-H-Bereich

Die S_0 -Spektren aufgenommen über die als Ursprünge der Isomere I und II postulierten Übergänge bei 37517 cm^{-1} und 37558 cm^{-1} , liefern unterschiedliche Spektren im N-H-Bereich (siehe Abb. 60) unterhalb von 3360 cm^{-1} . Im Spektrum des Isomers 1 (Abb. 60a) sind insgesamt 5 Banden zu erkennen. Im Spektrum des Isomers 2 sind lediglich 4 Übergänge. Auffällig ist, dass die Übergänge der beiden N-H-Schwingungen am blauen Ende der beiden Spektren bis auf 1 cm^{-1} ($3486\text{ cm}^{-1}/3402\text{ cm}^{-1}$ Isomer1 und $3487\text{ cm}^{-1}/3402\text{ cm}^{-1}$ Isomer2) identisch sind. Die niederfrequenten Schwingungen des Isomers 1 bei 3299 cm^{-1} , 3265 cm^{-1} und 3230 cm^{-1} sind deutlich weiter rot verschoben als im Spektrum des Isomers 2 (3340 cm^{-1} und 3315 cm^{-1}). Wie in Abb. 58 gezeigt, gibt es drei verschiedene, doppelt wasserstoffbrückengebundene Cluster. Eine Struktur analog Abb. 58c ist beim MAP2 nicht möglich, da dort die Protonendonator und -akzeptorgruppe nicht in den entsprechenden Abstand von 3 Atomen vorliegen.



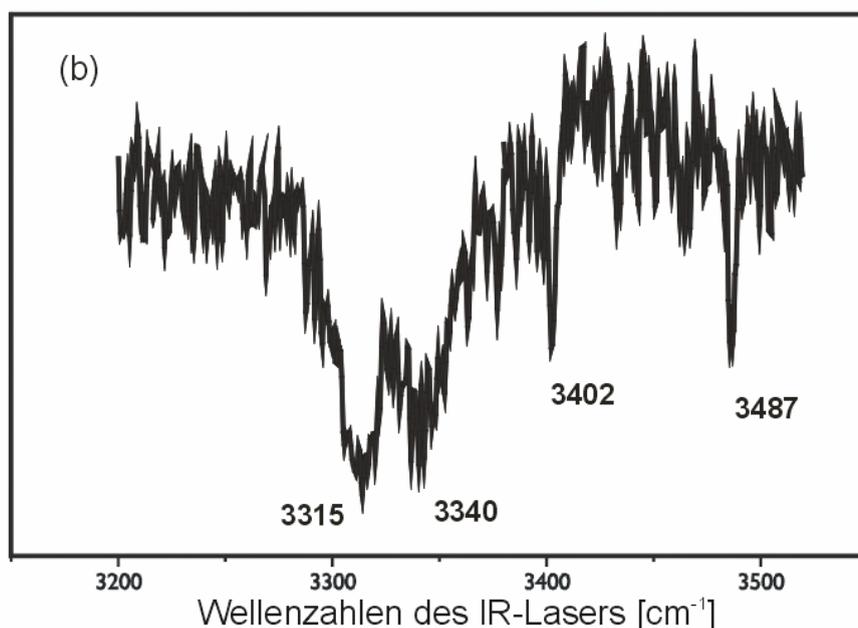


Abb. 60 IR/R2PI-Spektren im N-H-Bereich der AcPheOMe-MAP-Cluster a) Isomer I und b) Isomer II von 3200-3500 cm^{-1}

In Anlehnung an die Berechnungen zu den Clustern des $(\text{AcPheOMe})_2$ und des AcPheOMe-Pyrazols, wurden auch hier mit einem 6-31 G(d) Basissatz auf DFT-Niveau Rechnungen am System AcPheOMe/MAP1 und AcPheOMe/MAP2 durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass die beiden Schwingungen bei 3402 cm^{-1} und 3486 cm^{-1} (3487 cm^{-1}) der symmetrischen und antisymmetrischen N-H-Streckschwingung des MAP zugeordnet werden konnten, was zum Ausschluss der Struktur mit einer H-Brücke zur NH_2 -Gruppe (Abb. 58c) führt. Diese hätte eine freie NH-Schwingung bei 3471 cm^{-1} und eine gebundene bei 3332 cm^{-1} ergeben müssen.

Bei einer einfach brückengebundenen Struktur analog Abb. 58d, verblieben im Bereich von 3400 cm^{-1} bis 3500 cm^{-1} drei Übergänge von nicht gebundene Schwingungen, die der symmetrische und antisymmetrischen N-H-Streckschwingung der NH_2 -Gruppe aber auch der N-H-Streckschwingung des AcPheOMe entsprächen. In den Spektren der beiden beobachteten Isomere wurden jedoch nur zwei Übergänge im entsprechenden Frequenzbereich

beobachten, was den Ausschluss einer einfach gebundenen Struktur zur Folge hatte.

In Betracht für die Zuordnung zu den gemessenen Spektren, verbleiben schließlich nur noch Strukturen parallel zu den Abb. 58a und b. Für die endgültige Zuordnung, ob es sich bei den Clustern nun um Strukturen einer $\beta_L(a)$ oder $\beta_L(g+)$ analogen Konfiguration und mit entweder MAP1 oder MAP2 handelte, wurden alle vier möglichen Kombinationen vollständig auf bereits genanntem Niveau geometrieoptimiert und die Schwingungsfrequenzen und Stabilisierungsenergien gegeneinander aufgetragen.

	NH (AcPheOMe)	NH (Pyrazol/MAP)	NH (sym.)	NH (asym.)	rel. Energien
$\beta_L(a)$ + MAP(1)	3242	3352	3386	3479	0
$\beta_L(a)$ + MAP(2)	3242	3296	3389	3484	549
$\beta_L(g+)$ + MAP(1)	3232	3417	3375	3470	419
$\beta_L(g+)$ + MAP(2)	3262	3372	3384	3479	966

Tabelle 11 Relative Stabilitäten, berechnete (B3LYP/6-31G(d)Niveau) und experimentelle Schwingungsfrequenzen der möglichen MAP Cluster in β_L -Anordnung. Der Skalierungsfaktor von 0.9587 wurde aus den Untersuchungen am AcPheOMe übernommen

Der Vergleich der berechneten N-H-Schwingungsfrequenzen auf B3LYP/6-31G(d)Niveau für die verbliebenen Strukturen $\beta_L(a)$ AcPheOMe/MAP1 und $\beta_L(g+)$ AcPheOMe/MAP1, $\beta_L(a)$ AcPheOMe/MAP2 und $\beta_L(g+)$ AcPheOMe/MAP2 mit den experimentellen Frequenzen, ist ebenfalls in Tabelle 11 dargestellt. Die Schwingungsfrequenzen der symmetrischen und antisymmetrischen N-H-Streckschwingungen der NH_2 Gruppe des MAP, sind für beide Konformere annähernd identisch. Lediglich die Schwingungen der $\beta_L(g+)$ AcPheOMe/MAP1 Anordnung sind mit 3402 cm^{-1} (3402 cm^{-1}) und 3486 cm^{-1} (3487 cm^{-1}) geringfügig niedriger. Dies ist in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Daten.

Die berechneten Frequenzen der N-H-Streckschwingung des AcPheOMe sind mit Ausnahme für die $\beta_L(g+)$ AcPheOMe/MAP2 Anordnung sehr ähnlich, lediglich letztere liefert einen um 20-30 cm^{-1} höheren Wert für diese Schwingung. Nach den Berechnungen kann der Übergang bei 3230 cm^{-1} im Spektrum des Isomers 1 dem 1. Oberton der NH_2 Biegeschwingung zugeordnet werden. Die Schwingung der verbliebenen N-H-Streckschwingung des Pyrazolrings zeigt die beste Übereinstimmung mit der $\beta_L(a)$ AcPheOMe/MAP2 Struktur (ber. 2296 cm^{-1} , gem. 2299 cm^{-1}). Die berechnete Stabilisierungsenergie jedoch ist um fast 550 cm^{-1} ungünstiger, als die vergleichbare Anordnung im MAP1-Cluster. Dies weist deutlich auf eine Struktur hin, die das MAP1 Tautomer bevorzugt.

Auf HF/3-21G(d)-Niveau konnten die beiden Isomere des Spektrums durch zwei konformere AcPheOMe-Strukturen in einem Komplex mit dem gleichen Tautomer des MAP erklärt werden. Dies ist sowohl für Komplexe mit dem MAP1 als auch dem MAP2 möglich, beide Paare lieferten vergleichbar gute Übereinstimmungen. Die Unterschiede der beiden Isomere sind folglich in den unterschiedlichen Orientierungen der Seitenkette zu suchen. Aufgrund der Tatsache, dass sowohl auf ab initio, als auch auf DFT-Niveau, die Cluster mit dem MAP1 um ca. 500 cm^{-1} stabilere Strukturen bilden als vergleichbare Strukturen mit dem MAP2 (siehe Tabelle 11), kann angenommen werden, dass es sich bei beiden Isomeren um Komplexe mit dem Tautomer 1 des MAP handelt.

Ein Vergleich der Stabilisierungsenergien (ZPE und BSSE korrigiert) dieser Cluster mit dem $(\text{AcPheOMe})_2$ und des AcPheOMe/Pyrazol Cluster, lässt mit 4020 cm^{-1} eine um ca. 1100 cm^{-1} höhere Stabilität gegenüber dem Pyrazol-Cluster und eine um 2100 cm^{-1} höhere Stabilität als im Dimer erkennen.

11 AcValPheOMe MAP Cluster

11.1 Theoretische Betrachtungen

Das Dipeptid AcValPheOMe stellt das erste von uns untersuchte System dar, das in der Lage ist, mit einem geeigneten Templatmolekül eine dreifach H-brückengebundene Struktur auszubilden. Wie die Untersuchungen am geschützten Dipeptid ergaben (siehe Kap. 8), war das stabilste Konformer eine gestreckte β -Faltblattanordnung. Das MAP sollte mit seinen drei Stickstoffgruppen ein geeignetes Templat für eine Dreipunkthaftung darstellen.

11.2 R2PI-Spektrum des AcValPheOMe MAP Clusters

Das R2PI-Spektrum (siehe Abb. 61) weist eine schwache Bande bei 37516 cm^{-1} auf. Im Abstand von 514 cm^{-1} befindet sich bei 38030 cm^{-1} ein zweiter starker Übergang. Das Spektrum zeigt starke Übereinstimmungen mit den Anregungsspektren des freien Dipeptids (Banden bei 37574 cm^{-1} und $+539\text{ cm}^{-1}$) und des AcPheOMe (Banden bei 37584 cm^{-1} und $+531\text{ cm}^{-1}$) auf. Obwohl es nicht gelungen ist, über den rotesten Übergang bei 37516 cm^{-1} ein IR/R2PI-Spektrum aufzuzeichnen, so lässt sich in Anlehnung an die Spektren des AcValPheOMe und des AcPheOMe vermuten, dass diese Banden den 0-0 Übergang und eine Schwingungsbande desselben Isomers beschreiben. Bei der Schwingungsbande handelt es sich um die Bande der 6a Schwingungsmode des aromatischen Ringes im Phenylalanin.

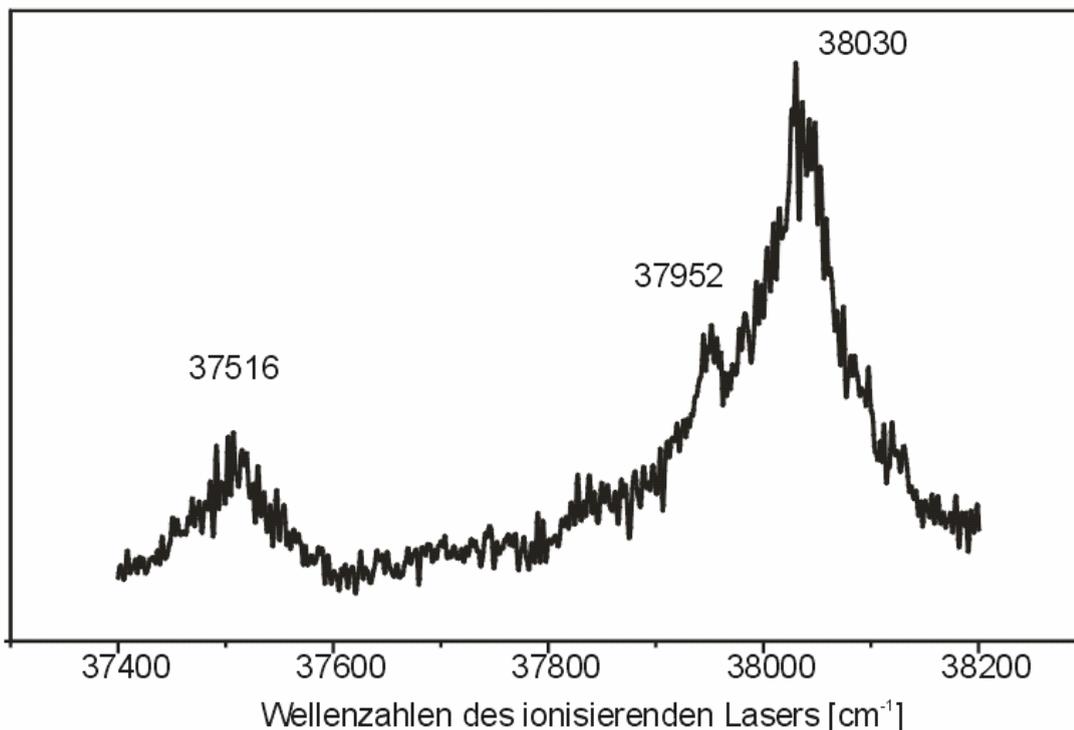


Abb. 61 R2PI-Spektrum des AcValPheOMe-MAP-Clusters von 37400-38200 cm^{-1}

11.3 IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich

Das Infrarotspektrum wurde über die Schwingungsbande bei 38030 cm^{-1} im R2PI-Spektrum aufgezeichnet. Im Bereich der gebundenen und freien N-H-Streckschwingungen sind insgesamt 6 Banden zu sehen (siehe Abb. 62).

Deutlich sind zwei schmale Banden im Bereich der freien N-H-Streckschwingungen bei 3481 cm^{-1} und 3443 cm^{-1} , zwei deutlich breitere Übergänge bei 3378 cm^{-1} und bei 3242 cm^{-1} und ein weiterer schwacher Übergang bei 3175 cm^{-1} zu erkennen. In der blauen Flanke der Bande bei 3378 cm^{-1} liegt eine weitere Bande, deren Maximum mittels Bandenanalyse bei 3395 cm^{-1} ermittelt wurde.

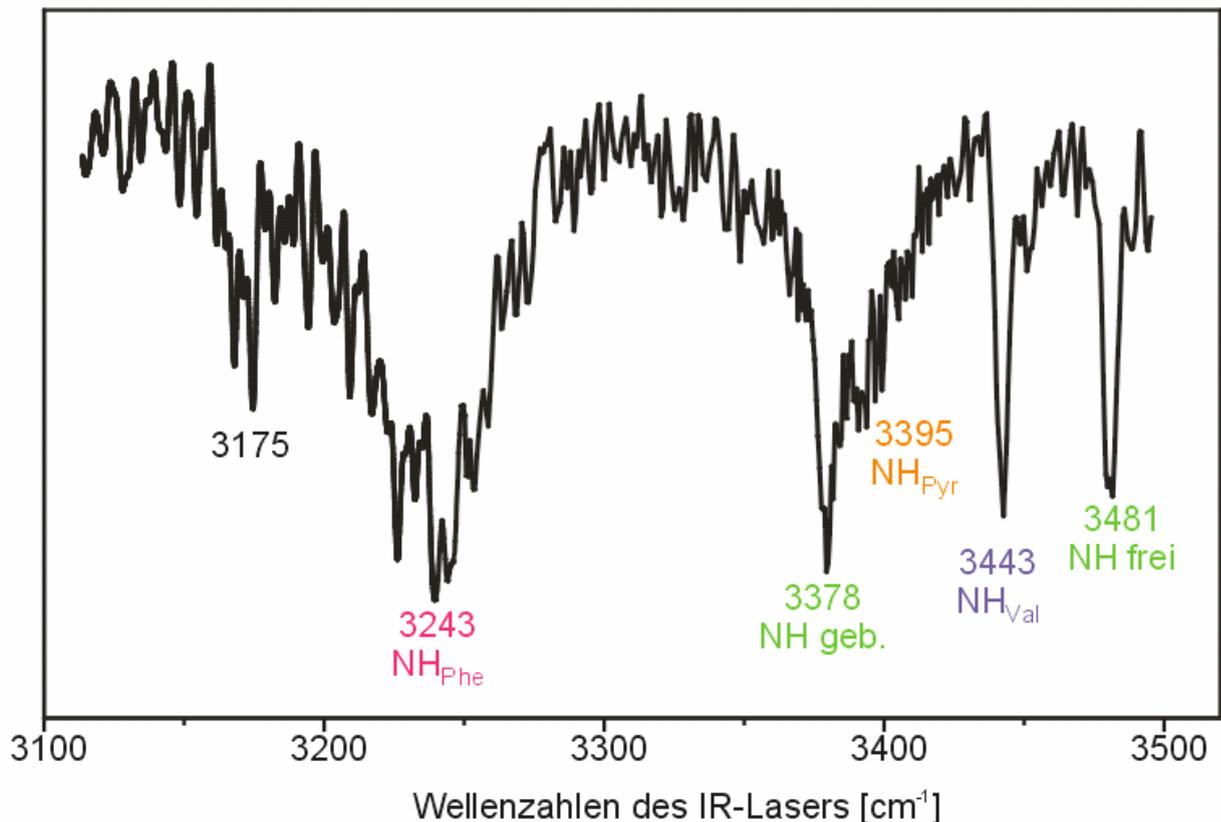


Abb. 62 IR/R2PI-Spektrum im N-H Bereich von 3100-3500 cm⁻¹

11.4 Diskussion der Ergebnisse

Aus den Messungen des AcPheOMe MAP Clusters sind die Schwingungsfrequenzen der freien N-H-Schwingungen der NH₂-Gruppe im MAP bekannt. Die Schwingungsbande im hier gemessenen IR/R2PI-Spektrum bei 3481 cm⁻¹ (3486 cm⁻¹) liegt im Bereich der freien NH-Streckschwingungen der NH₂-Gruppe im MAP. Die Abweichungen beträgt 5 cm⁻¹ bei der freien (antisymmetrischen) N-H-Schwingung.

Die Schwingungsfrequenz der freien valinischen NH Schwingung ist aus dem IR/R2PI-Spektrum des AcValPheOMe bekannt (3441 cm⁻¹) und zeigt eine

Abweichung von lediglich 2 cm^{-1} zum entsprechenden Übergang im Spektrum des AcValPheOMe-MAP-Clusters (3443 cm^{-1}).

Die Zuordnung der verbliebenen drei Banden zu den N-H-Schwingungen des Pyrazolrings und der des Phe-Rückgrats, erfolgte entsprechend den durchgeführten Rechnungen. Zu erwähnen sei jedoch, dass die Schwingungsfrequenzen der freien, nicht H-gebundenen Schwingungen durch harmonische Näherungen besser wiedergegeben werden können. Die Schwingungsfrequenzen von H-brückengebundenen N-H-Streckschwingungen weisen deutlich anharmonisches Verhalten auf und liefern damit stärkere Abweichungen von den theoretisch berechneten Schwingungsfrequenzen. Sie geben jedoch eine gute Abschätzung für die relative Zuordnung der verbliebenen Schwingungsbanden.

Bei den Berechnungen zu diesem System zeigten sich wiederum die Konformere mit gestrecktem Rückgrat als stabilste Anordnungen. Im Bereich von 800 cm^{-1} lagen drei unterschiedliche Konformere mit einer. Die beste Übereinstimmung der gemessenen Frequenzen mit denen aus den Frequenzläufen der *ab initio* Berechnungen lieferten die Konformere, bei denen sowohl der Valin- als auch der Phenylalaninteil in einer gestreckten β_L -Konformation vorlagen. Die beiden Anordnungen unterschieden sich lediglich in der Konfiguration der Seitenketten. Es zeigte sich auf *ab initio* Niveau, dass die berechneten Frequenzen des $V_{\beta(a)}P_{\beta(a)}$ -Konformers eine geringfügig schlechtere Übereinstimmung mit den experimentellen Daten ergaben, als die $V_{\beta(g+)}P_{\beta(g+)}$. Die Struktur ist in Abb. 63 wiedergegeben.

Nach der bereits durch Vergleich mit den zuvor erwähnten Messungen am AcPheOMe-MAP und dem AcValPheOMe bestimmten Schwingungsbanden erfolgte die Zuordnung der verbliebenen drei Schwingungsbanden im Bereich $>3400\text{ cm}^{-1}$ nach den theoretischen ermittelten Schwingungsfrequenzen. Danach liegt bei 3378 cm^{-1} die gebundene N-H Schwingung (theor. 3364 cm^{-1}) der NH_2 -

Gruppe des MAP und bei 3395 cm^{-1} die gebundene N-H-Schwingung (theor. 3395 cm^{-1}) des Pyrazolrings. Die Bande bei 3243 cm^{-1} gehört zur gebundenen N-H-Schwingung der Phenylalanin N-H (theor. 3286 cm^{-1}).

Die freie valinischen N-H-Schwingung bei 3443 cm^{-1} liefert einen theoretischen Wert von 3458 cm^{-1} . Und die freien N-H-Schwingung bei 3481 cm^{-1} der NH_2 -Gruppe im MAP liefert eine theoretische Schwingungsfrequenz von 3526 cm^{-1} . Bei dem verbleibenden Übergang bei 3175 cm^{-1} handelt es sich um den 1. Oberton einer prominenten N-H-Biegeschwingung. Die gemessenen Frequenzen sind den skalierten Schwingungsfrequenzen der *ab initio* Berechnungen in Tabelle 12 gegenüber gestellt. Die verwendeten Skalierungsfaktoren stammen aus den Berechnungen am AcPheOMe (Kap. 5)

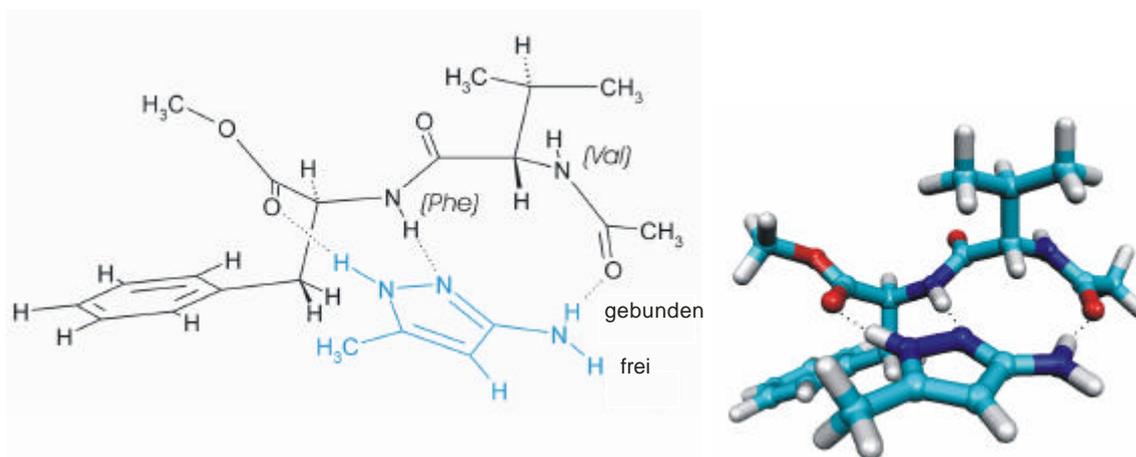


Abb. 63 Struktur des AcValPheOMe-MAP-Clusters in $V_{b(a)}P_{b(a)}$ Anordnung

Deutlich unterschiedlich sind die Verschiebungen der gebundenen N-H-Streckschwingungen gegenüber den Frequenzen der freien N-H-Streckschwingungen, die aus Messungen des MAP und des AcValPheOMe bestimmt wurden. Am stärksten ist die Verschiebung der Phe-N-H-Brücke ($\Delta\nu(\text{NH}_{\text{Phe}}) = 215\text{ cm}^{-1}$), deutlich schwächer bereits die Pyr-N-H-Brücke ($\Delta\nu(\text{NH}_{\text{Pyr}}) = 113\text{ cm}^{-1}$) und am schwächsten ist die N-H-Brücke der Templat- NH_2 -Gruppe ($\Delta\nu(\text{NH}_{\text{geb.}}) = 24\text{ cm}^{-1}$). Diese schwache H-Brücke, die sich im Komplex

mit dem MAP erstmals ausbilden konnte, könnte aufgrund seiner geringen Stabilität bei einer anderen Rückgratkonformation oder einem anderen Templat leicht wieder gebrochen werden.

	V_{b(a)}P_{b(a)} + MAP (Dreipunkthaftung)	V_{b(g+)}P_{b(g+)} + MAP (Dreipunkthaftung)	
HF/3-21G(d)	Frequenzen skal.	Frequenzen skal.	exp.
Freie NH	3528	3526	3481
Val NH	3452	3458	3443
Pyr NH	3363	3395	3395
Geb. NH	3351	3364	3378
Phe NH	3115	3286	3243

Tabelle 12 Theoretische (HF/3-21G(d)-Niveau) und experimentelle Schwingungsfrequenzen im AcValPheOMe-MAP-Cluster mit dreifacher H-Brücke

12 AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster

12.1 Theoretische Betrachtungen

Aufgrund der Möglichkeit des AcValTyr(Me)NHMe (Abb. 64a) ebenfalls drei Wasserstoffbrücken zu einem geeigneten Templatmolekül auszubilden zu können, untersuchten wir auch bei diesem System den Cluster mit dem 5-Methyl-3-Aminopyrazol. Das MAP kann sich in zwei verschiedenen Anordnungen an das AcValTyr(Me)NHMe anlagern, um drei WBB auszubilden. Bei der Einen ist die NH₂-Gruppe des MAP mit dem Carbonylsauerstoff der N-terminalen Schutzgruppe verbrückt (siehe Abb. 64b), bei der anderen Anordnung mit der tyrosinischen Carbonylfunktion (siehe Abb. 64c). Zusätzlich sind auch verschiedenen zweifach H-brückengebundene Strukturen möglich (s.u.).

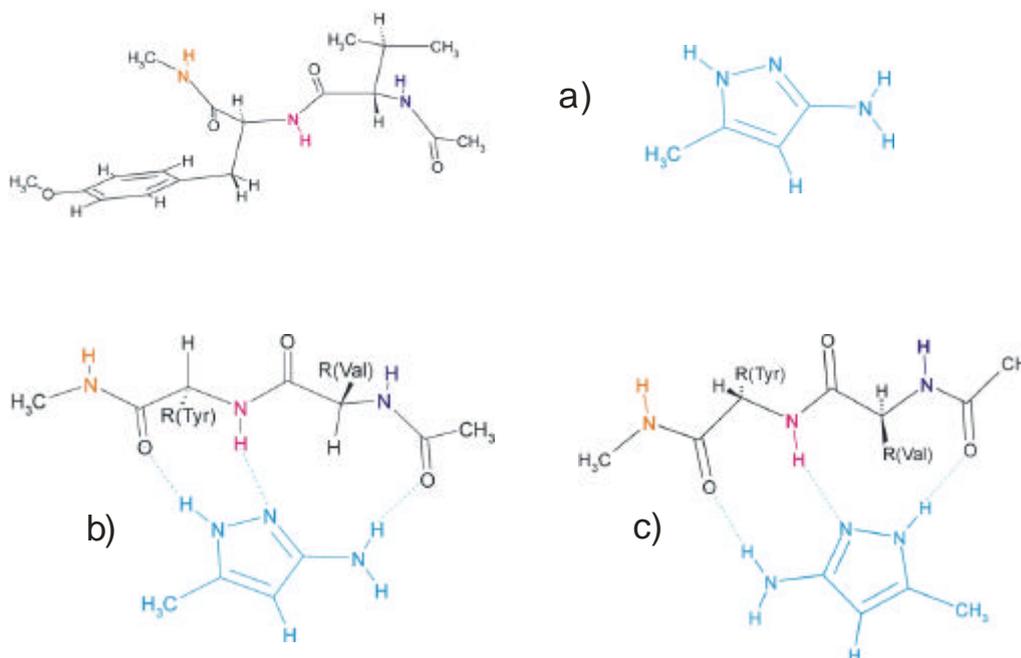


Abb. 64 a) Struktur des AcValTyr(Me)NHMe und b+c) unterschiedliche Anordnung des MAP im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster

12.2 IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich

Das Infrarotspektrum wurde aufgezeichnet über den Übergang bei 35612 cm^{-1} im R2PI-Spektrum. Im Bereich der N-H-Schwingungen von $3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ sind insgesamt sechs Banden zu erkennen. Drei der sechs Übergänge sind im Bereich der freien N-H-Streckschwingungen zwischen 3400 cm^{-1} und 3500 cm^{-1} lokalisiert (3402 cm^{-1} , 3455 cm^{-1} und 3486 cm^{-1}). Das Maximum der ersten Schwingung im Bereich der gebundenen N-H liegt bei 3368 cm^{-1} . In der roten Flanke der zweiten Bande bei 3286 cm^{-1} liegt eine dritte Bande bei 3250 cm^{-1} . Das Maximum dieser Bande wurde durch Bandenanalyse ermittelt. Der Übergang einer weiteren Schwingung ist bei 3150 cm^{-1} zu beobachten.

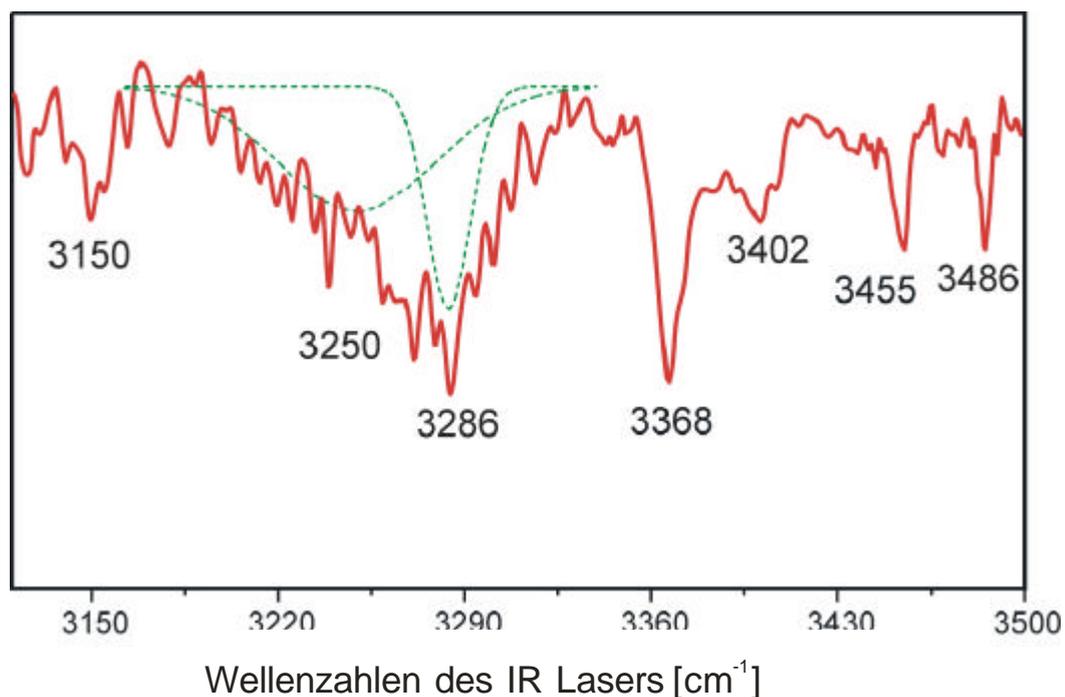


Abb. 65 IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich von $3100\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ mit Bandenanalyse der stark verbreiterten gebundenen N-H-Schwingungen der intermolekularen Wasserstoffbrücken

12.3 Diskussion der Ergebnisse

Die Übergänge bei 3486 cm^{-1} und 3402 cm^{-1} repräsentieren die freie antisymmetrische und symmetrische N-H-Streckschwingung der NH_2 -Gruppe des MAP, wie sie zuvor bereits im IR/R2PI-Spektrum des AcPheOMe-MAP-Clusters mit identischen Frequenzen gefunden wurden.

Es liegt folglich keine dreifach verbrückte Anordnung vor. Bei Annahme einer solchen Struktur wäre lediglich eine N-H-Schwingung des nicht gebundenen Wasserstoffs oberhalb 3400 cm^{-1} und eine rotverschobene Bande der gebundenen N-H-Schwingung dieser funktionellen Gruppe zu erwarten.

Die Bande bei 3455 cm^{-1} ist in guter Übereinstimmung mit den IR/R2PI-Spektrum des AcValPheOMe (3441 cm^{-1}) und dem AcValPheOMe-MAP-Cluster (3443 cm^{-1}) der freien valinischen N-H-Streckschwingung zuzuordnen.

Die Schwingung bei 3368 cm^{-1} liefert einen Wert, der ähnlich einer Schwingung ist, die in einem Isomer II des AcPheNHMe gefunden wurde. Das Rückgrat dieses Isomers nahm eine γ_{L} -Struktur ein, die entsprechende Bande bei 3362 cm^{-1} gehörte zur N-H-Schwingung der C-terminalen Schutzgruppe, die eine intramolekulare H-Brücke zum Rückgrat ausbildete.

Bei durchgeführten Rechnungen unter der Annahme einer zweifach H-brückengebundenen Struktur, konnte eine stabile Konformation identifiziert werden, die sich aus der Anordnung ableiten lässt, die in Abb. 64c wiedergegeben ist. Wie in Abb. 66 zu erkennen ist, weist der Tyrosinteil kein vollständig gestrecktes Rückgrat auf. Es beschreibt eine γ_{L} -Struktur. Die NH-Gruppe der NHMe-Schutzgruppe bildet dabei eine Wasserstoffbrücke zum Carbonylsauerstoff der valinischen Säuregruppe aus, wie aus der Schwingungsbande bei 3368 cm^{-1} bereits vermutet wurde. Aus der Verdrehung des Rückgrats resultiert auch die Blauverschiebung der valinischen N-H-

Schwingung um 15 cm^{-1} gegenüber der Schwingung im AcValTyr(Me)NHMe. Der tyrosinische Carbonylsauerstoff wird durch die γ -Struktur so weit aus der Achse zur MAP NH_2 -Gruppe herausgedreht, dass kein WBB zwischen diesen beiden funktionellen Gruppen ausgebildet werden kann.

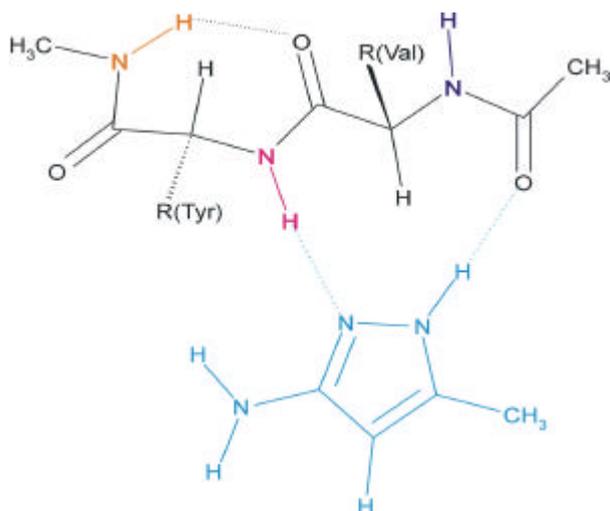


Abb. 66 Konformation im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster, zwei intramolekulare WBB zum MAP und eine intramolekulare WBB im Tyrosinteil, der eine γ -Konformation einnimmt

Die Zuordnung der beiden Schwingungsbanden bei 3250 cm^{-1} und 3286 cm^{-1} wurde entsprechend der Schwingungsfrequenzen der *ab initio* Berechnungen dieser Anordnung getroffen. Erstere gehört zur N-H-Gruppe des Tyrosins und letztere zur N-H-Gruppe des Pyrazolrings. Sie sind sehr stark gegenüber ihren freien Schwingungen rotverschoben. Mit Verschiebungen von 161 cm^{-1} und 222 cm^{-1} gegenüber den Schwingungsfrequenzen der freien NH-Schwingungen weisen sie auf sehr starke Wasserstoffbrücken hin. Die intramolekulare WBB ist mit 109 cm^{-1} deutlich schwächer.

Bei der Bande bei 3150 cm^{-1} handelt es sich um einen Oberton einer prominenten Schwingung im Bereich der N-H- und O-H-Biegeschwingungen (Abb. 65), wie sie bereits zuvor beim AcValPheOMe-MAP-Cluster bei 3175 cm^{-1} beobachtet wurde.

Im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluste konnten zwei sehr starke intermolekulare H-Brücken gebildet und im Gegensatz zum AcValPheOMe-MAP-Cluster zusätzlich eine Rückbindung über eine intramolekulare H-Brücke beobachtet werden. Es findet also entgegen dem AcValPheOMe-MAP-Cluster eine Rückkehr zur Zweipunkthaftung statt, jedoch ist der Komplex deutlich stärker gebunden, wie anhand der relativen Verschiebungen der H-brückengebundenen N-H-Schwingungsfrequenzen zu ersehen ist. Im AcValPheOMe Cluster wurde der dritte Haftungspunkt nur unter Inkaufnahme von zwei schwächeren, intermolekularen H-Brücken ermöglicht.

13 AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Cluster

13.1 Theoretische Betrachtungen

Beim AcValPheOMe konnte erstmals eine dreifach Hbrückengebundene Struktur zum MAP nachgewiesen werden. Es zeigte sich in den Untersuchungen, dass eine der drei WBB deutlich schwächer ausgebildet war als die übrigen beiden.

Im Cluster des AcValTyr(Me)NHMe mit dem MAP konnte nur noch eine zweifach H-brückengebundene Struktur beobachtet werden. Anstelle einer dritten intermolekularen WBB wurde eine intramolekulare Brücke, durch Ausbildung einer γ -Struktur im Rückgrat des Tyrosinteils, bevorzugt.

Es stellte sich die Frage, wie man zu einer dreifach intermolekular verbrückten Struktur zurückfinden kann. Zu diesem Zweck wurde das Templatmolekül modifiziert. Als weiteres Templat wurde in der Arbeitsgruppe Schrader eine Substanz synthetisiert, bei der eines der beiden Wasserstoffatome der NH_2 -Gruppe im MAP durch eine tri-Fluoracetyl-Gruppe ersetzt ist. Dadurch wurde die Azidität des verbliebenen Wasserstoffes der Aminogruppe im Trifluoracet-methylaminopyrazol (TFMAP, siehe Abb. 67) stark erhöht.

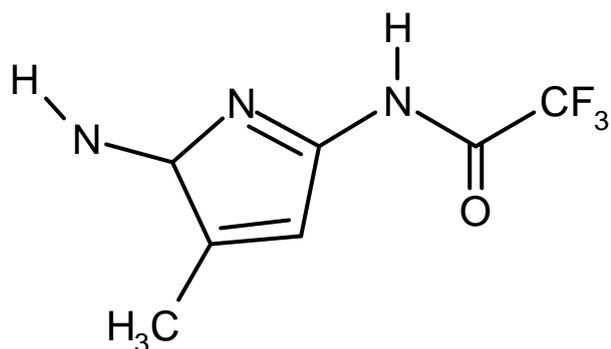


Abb. 67 Struktur von Trifluoroacet-methylaminopyrazol (TFMAP)

13.2 IR/R2PI-Spektrum im N-H-Bereich

Das Infrarotspektrum wurde aufgezeichnet über den $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang bei 34432 cm^{-1} . Im Bereich der freien nicht gebundenen N-H-Streckschwingungen ist nur ein einziger Übergang bei 3465 cm^{-1} zu erkennen. Eine zweite isolierte Bande liegt bei 3397 cm^{-1} . Die Maxima der drei Übergänge bei 3268 cm^{-1} , 3238 cm^{-1} und 3206 cm^{-1} wurden durch Bandenanalyse bestimmt. Aufgrund der Lage im Spektrum sind sie gebundenen N-H-Schwingungen zuzuordnen. Eine schwache Bande am roten Ende des IR/R2PI-Spektrums ist bei 3152 cm^{-1} zu erkennen.

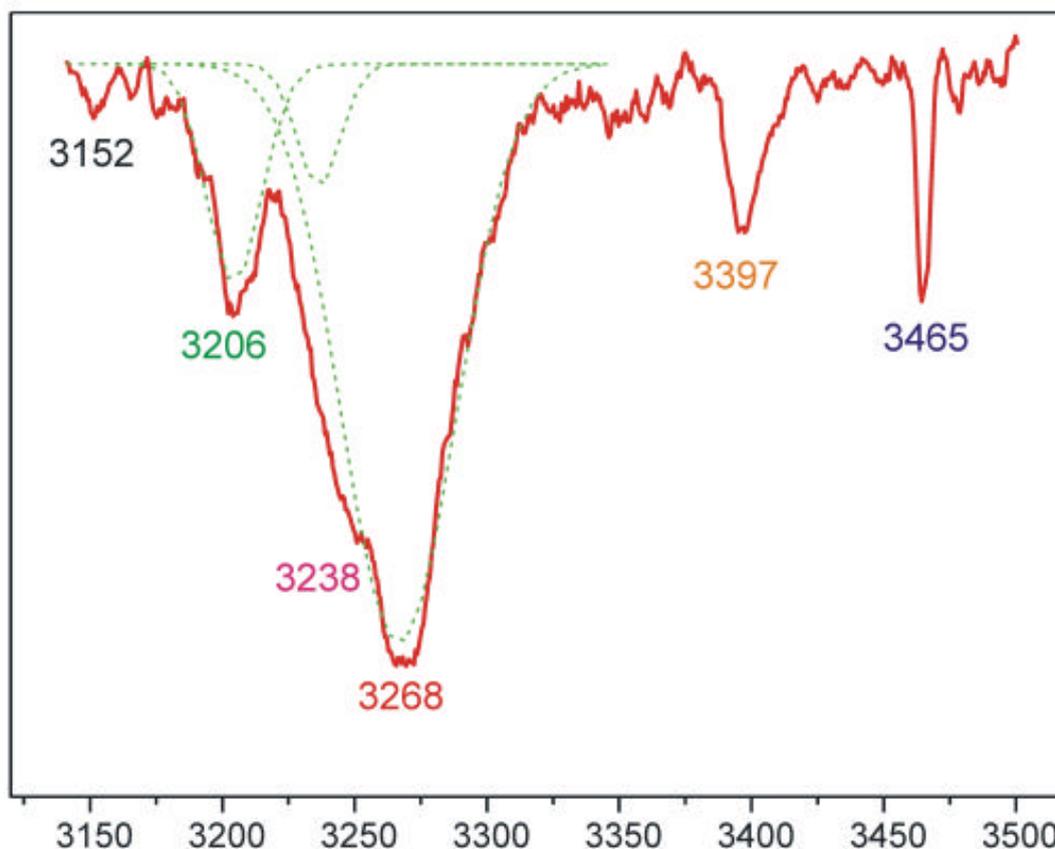


Abb. 68 IR/R2PI-Spektrum in N-H-Bereich von 3150-3500 cm^{-1} mit Bandenanalyse der drei intermolekular verbrückten N-H-Schwingungen

13.3 Diskussion der Ergebnisse

Durch die Anwesenheit nur einer Bande im Bereich der freien, nicht H-brückengebundenen N-H-Schwingungen konnte eine zweifach H-Brückengebundene Struktur wie im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster ausgeschlossen werden.

Die Bande bei 3465 cm^{-1} ist dabei der valinischen N-H-Streckschwingung zuzuordnen. Schon beim AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster zeigte sich eine Blauverschiebung dieser Schwingung um 12 cm^{-1} verursacht durch die Verdrehung

des Peptidrückgrats. Es ist aufgrund der noch stärkeren Verschiebung im hier gemessenen Spektrum zu vermuten, dass auch hier eine Verdrehung des Peptidrückgrats vorliegt.

Durch Vergleich mit den Stabilitäten verschiedener Konformationen bei theoretischen Berechnungen zeigte sich, dass es sich bei der stabilsten Anordnung um ein $\gamma_L(g)\gamma_L(g)$ -Konformer handelt. Die nächste mögliche Anordnung ($\epsilon_L(g)\delta_L(g)$ -Anordnung) ist fast 900 cm^{-1} instabiler.

In Übereinstimmung mit den Berechnungen auf *ab initio* Niveau handelt es sich bei der Bande bei 3397 cm^{-1} um die NH-Schwingung der C-terminalen Schutzgruppe. Aufgrund einer Verschiebung von 80 cm^{-1} gegenüber der freien Schwingung im AcValTyr(Me)NHMe lässt sich darauf schließen, dass sie in einer schwachen Brücke zur Carbonylfunktion des Tyrosins integriert ist.

Die theoretischen und experimentellen Schwingungsfrequenzen der beiden möglichen Konformationen sind in Tabelle 13 aufgelistet. Die Zuordnung der drei Schwingungsbanden, die in den intramolekularen H-Brücken involviert sind, wurde anhand der Abfolge der Schwingungen in den durchgeführten *ab initio* Berechnungen getroffen. Danach sind die drei Banden bei 3206 cm^{-1} , 3238 cm^{-1} und 3268 cm^{-1} in dieser Reihenfolge den drei N-H-Schwingungen der trifluoroacetylierten N-H Gruppe, der tyrosinischen N-H Gruppe und der NH Gruppe des Pyrazolrings zuzuordnen.

Zu erwähnen ist, dass sich das TFMAP gegenüber dem MAP im entsprechenden Cluster mit AcValTyr(Me)NHMe zur Ausbildung der drei Haftungsunkte um 180° gedreht hat (siehe Abb. 69).

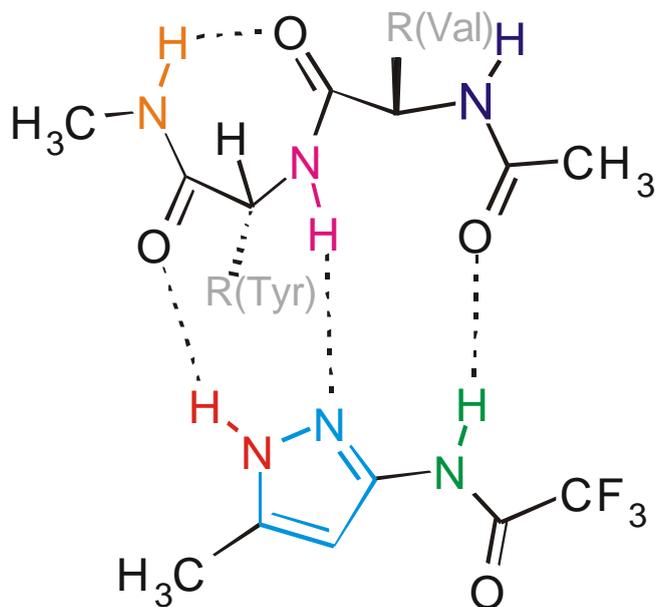


Abb. 69 Struktur des AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Clusters

Alle drei funktionellen Gruppen sind sehr stark in den entsprechenden intramolekularen WBB gebunden, sie weisen Verschiebungen von 173 cm^{-1} (N-H_{Tyr}), 240 cm^{-1} (N-H_{Pyr}) und sogar von 250 cm^{-1} ($\text{NH}_{\text{TFA-Gruppe}}$) gegenüber den entsprechenden nicht gebundenen Schwingungen auf. Zusätzlich existiert weiterhin wie im AcValTyr(Me)NHMe-MAP-Cluster eine intramolekulare N-H-Brücke.

3-21G(d) Rechnung		Schwingungen				
Konformation		Dipeptid		TFAMP		
		NHMe	NHVal	NHTyr	NHPy	NHA
$\gamma_{\text{L}}(\text{g-})\gamma_{\text{L}}(\text{g-})$	ν [cm^{-1}]	3397	3485	3318	3251	3128
Exp. Freq.		3397	3465	3268	3238	3206

Tabelle 13 relative Stabilitäten, theoretische (auf HF/3-21G(d)-Niveau) und experimentelle Schwingungsfrequenzen des stabilsten Konformers des AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Clusters

Durch die Rückkehr zur Dreipunkthaftung wurde die intramolekulare Brücke geschwächt, im MAP-Cluster war diese Wasserstoffbrücke noch 30 cm^{-1} stärker (3368 cm^{-1} siehe Kap. 12).

Wie bereits bei den MAP-Clustern des AcValPheOMe und AcValTyr(Me)NHMe ist auch in diesem IR/R2PI-Spektrum wieder eine Bande bei 3152 cm^{-1} zu beobachten. Wie bei den anderen Systemen handelt es sich auch hier um den Oberton einer prominenten N-H-Biegeschwingung. Die Struktur der beiden Aminosäuren des Dipeptids sind im Quadranten der γ_L -Konformation lokalisiert, sie ist nicht vollständig gestreckt, wie es bei einer β_L -Konformation der Fall wäre, sie ist jedoch immer noch weitestgehend gestreckt, aufgrund der Ausbildung von drei sehr starken intermolekularen und einer intramolekularen H-Brücke kann diese Verbiegung des Rückgrats jedoch optimal kompensiert werden.

Anhand dieser Befunde konnten wir Hinweise auf die Qualität der verwendeten Template für die Bildung von stabilen Komplexen mit Peptiden in β -Faltblattmodellen liefern. Das Problem der Zweipunkt-, Dreipunkthaftung konnte geklärt werden und die relativen Stabilitäten und damit die Stärken, die die Effizienz der Komplexierung widerspiegeln, der H-Brücken bestimmt werden. Die Fragestellung der Selektivität ist in nachfolgenden Studien weiter zu ergründen.

14 Aminophenol

14.1 Theoretische Betrachtungen

Nach der Nomenklatur nach Varsanyi¹⁴¹ gehört Aminophenol zu der Klasse der *di-light*-substituierten Benzene. In früheren Veröffentlichungen, auch aus dem Arbeitskreis M. Gerhards, sind bereits verschiedene, di-substituierte Benzene wie Resorcin¹⁴², Brenzkatechin¹⁴³ und Hydrochinon^{142,144} untersucht wurden. Die Ergebnisse wurden als Vergleich zu den hier aufgeführten experimentellen Untersuchungen verwendet.

Unserer Kenntnis nach war bis zum Zeitpunkt unserer experimentellen Forschung lediglich eine Publikation des 3-Aminophenol (3-AP) in Molekularstrahl veröffentlicht worden. Sie beschreibt die Schwingungsfrequenzen im Bereich von 0-2000 cm^{-1} mit Hilfe von DF- (Dispergierte Fluoreszenz) und LIF-Spektroskopie (Laser Induzierte Fluoreszenz).

Zu 4-Aminophenol sind bereits unterschiedliche Beiträge veröffentlicht worden. Mittels DF-, LIF- und R2PI Spektroskopie^{145,146,147} konnten die Schwingungsfrequenzen im S_0 - und S_1 -Zustand untersucht werden. Weiterhin wurden mit Hilfe der IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie die N-H- und O-H-Streckschwingung untersucht.

In der aktuellen Veröffentlichung unserer Arbeitsgruppe wurden darüber hinaus die N-H- und O-H-Streckschwingungsbanden oberhalb von 3000 cm^{-1} , der ionische Grundzustand (D_0) bezüglich des IPs (Ionisationspotential) und seiner Schwingungsbanden vom 3-AP sowie die ionische Grundzustand und seiner Schwingungsbanden im 4-AP untersucht.

3- und 4-Aminophenol verfügt im Gegensatz zu den oben genannten di-substituierten Benzenen über zwei unterschiedliche funktionelle Gruppen, eine Hydroxylgruppe in 1-Position und eine Aminogruppe in meta- (3-AP), bzw. in para-Stellung zur Hydroxylgruppe (4-AP).

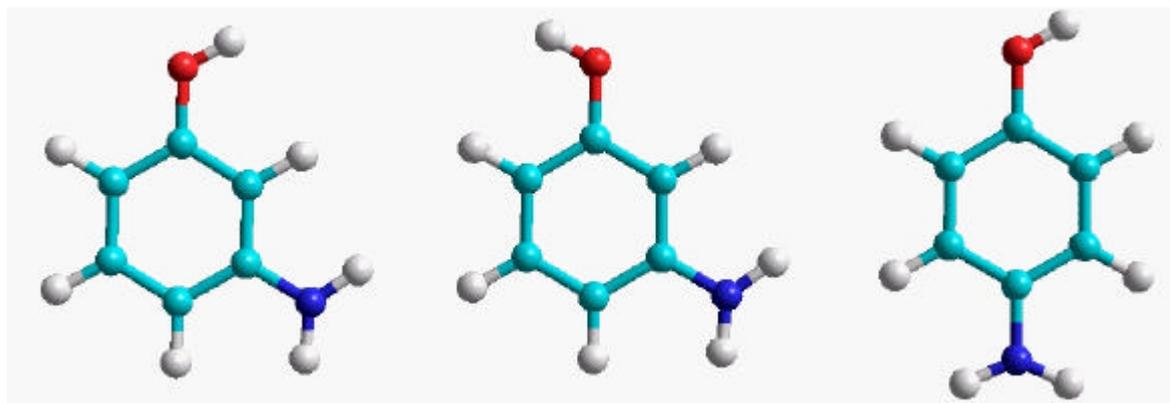


Abb. 70 a) 3-Aminophenol Isomer A, b) Isomer B und c) 4-Aminophenol

Unter Annahme der C_s Symmetrie (Spiegelebene durch die Ebene des Phenylrings) existieren bei 3-AP zwei konformere Strukturen und nur eine bei 4-AP. Die beiden Strukturen, die sich beim 3-AP ergeben, sind im Falle des 4-AP äquivalent. Im 3-Aminophenol ist bei Isomer A der Hydroxylwasserstoff der Aminogruppe zugewandt und bei Isomer B zeigt die Hydroxylgruppe von der NH_2 -Gruppe weg (siehe Abb. 70), diese beiden können beim 4-AP durch Rotation des ganzen Moleküls um die C_1 - C_4 Achse ineinander überführt werden. Die Zuordnung der Isomere erfolgte nach und Pratt et. al.¹⁴⁸, der die Ursprünge der beiden Isomere durch hochauflösende UV-Fluoreszenzuntersuchungen erstmals nachgewiesen hatte. Bei einem pyramidalen Aufbau der Aminogruppe (wie sie im elektronischen Grundzustand des 4-Aminophenol-Wasser Clusters bei theoretischen Berechnungen auf HF und DFT(B3LYP-Funktional) Niveau unter Verwendung des 6-31G(d,p) Basissatzes beobachtet worden ist), sind die beiden Konformere durch Rotation der Hydroxylgruppe in einander zu überführen, die dann aber spektroskopisch nicht mehr identisch wären. Nach den theoretischen Berechnungen und den experimentellen Daten ist dies jedoch nicht der Fall, wie

schon in unserer Arbeitsgruppe in vorangegangenen Messungen und Publikationen sichergestellt wurde. Anhand von theoretischen Berechnungen¹⁴⁹ und experimentellen Arbeiten^{52,150} wurden bereits Untersuchungen sowohl an den Neutralteilchen als auch an ionischen Zuständen sowohl an 3-AP, als auch 4AP und deren Wasserclustern durchgeführt. Die spektroskopischen Untersuchungen beschränkten sich bis dato auf die Messung der UV-Anregungsspektren und den Infrarotspektren im Frequenzbereich von 3000-3800 cm⁻¹ zur Bestimmung der Schwingungsfrequenzen von C-H-, N-H-, O-H-Schwingungen.

Ziel dieser Untersuchungen war es nun diese drei verbliebenen Isomere den in den Spektren gefundenen Banden im 3- und 4-Aminophenolspektrum zuzuordnen und die durch die theoretischen Berechnungen gefundenen Strukturen zu verifizieren.

14.2 R2PI-Spektrum des 3-Aminophenol

Im R2PI-Spektrum des 3AP finden sich zwei Übergänge, ein schwächerer bei 34108 cm⁻¹ und ein weiterer, sehr intensiver bei 34467 cm⁻¹ (siehe Abb. 71)

Zur Messung des MATI-Spektrums wurde nun zeitgleich mit dem ersten UV-Laser, der festfrequent auf dem S₁←S₀ Übergang bei 34108 cm⁻¹ (34467 cm⁻¹) eingestellt war, der Molekularstrahl mit einem zweiten UV-Laser räumlich und zeitlich überlappt, dessen Frequenz im Bereich von 27200-28400 cm⁻¹ durchgestimmt wurde. Zur Abtrennung der entstehenden Rydbergneutralen von den direkten Ionen wurde eine Trennungsspannung von 1-1,6V/cm angelegt, wodurch die direkten Ionen ohne Beeinflussung der Rydbergneutralen von der Flugbahn der Neutralen abgelenkt wurden. Die Störung des IPs, die durch dieses elektrische Feld induziert wurde, konnte mit Hilfe folgender Gleichung korrigiert werden.

$$\Delta E = c \sqrt{\frac{F}{V} * cm^{-1}} \quad (c=3,89 \text{ und } F=\text{el. Feldstärke in V/cm}) \quad (\text{siehe Kap. 1.1})$$

In diesem Fall ergab sich daraus eine Korrektur des IPs von 3-4,8 cm^{-1} , die in die angegebenen Werte der IPs bereits eingerechnet ist. Die Abb. 72 und Abb. 73 und zeigen die bei den entsprechenden Anregungswellenlängen des $S_1 \leftarrow S_0$ Übergang gemessenen MATI Spektren. Die 0-0 Übergänge der Spektren führen zu adiabatischen IPs von 61374 cm^{-1} (Isomer A) und 61732 cm^{-1} (Isomer B).

Die Spektren zeigen eine Reihe von Schwingungsbanden. Die Zuordnung wurde durch DFT und CASSCF Normalschwingungsanalysen getroffen und ist in Tabelle 14 wiedergegeben.

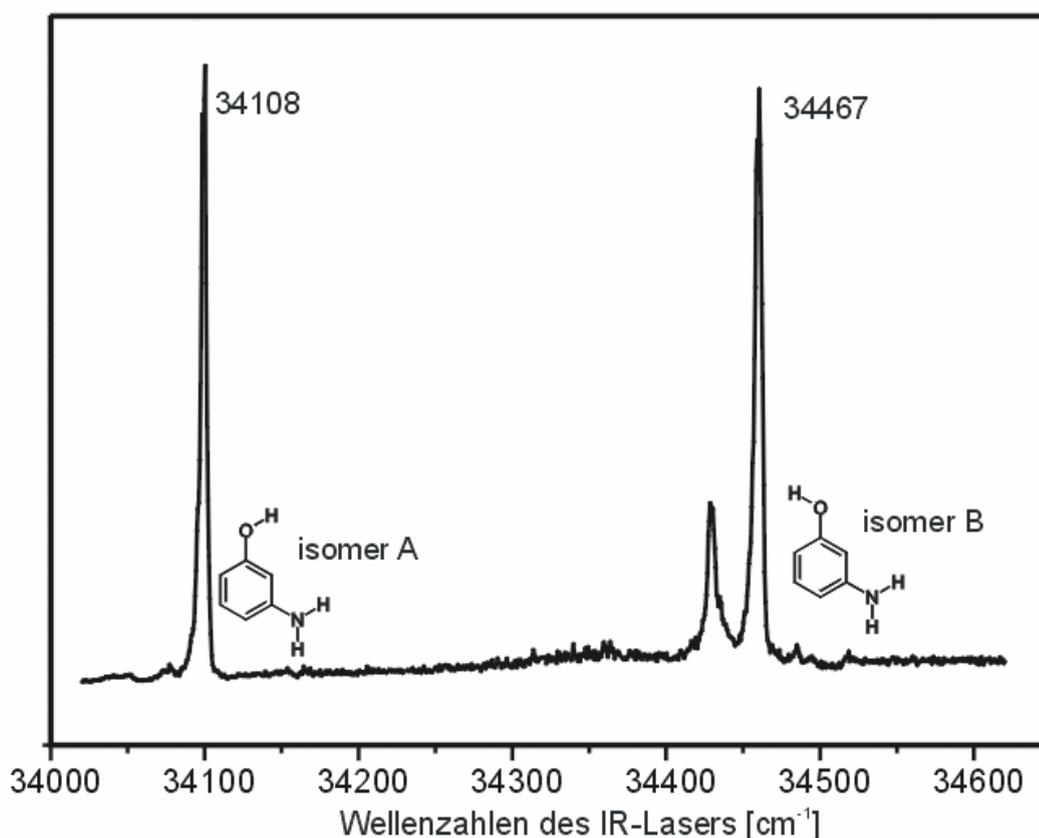


Abb. 71 R2PI-Spektrum des 3-Aminophenol von 34000-34500 cm^{-1}

14.2.a MATI-Spektrum 3-Aminophenol Isomer A

Das Spektrum des Isomers A wird dominiert von einer sehr intensiven Schwingungsbande bei $+742\text{ cm}^{-1}$ bezogen auf den stärksten Übergang bei 27266 cm^{-1} (Abb. 72). Diese konnte der Schwingungsmode 1 zugeordnet wurde. Sie ist genau wie die ebenfalls sehr intensive Schwingungsbande der 9a bei 330 cm^{-1} eine totalsymmetrische *in plane* Schwingung. Nicht totalsymmetrische (*out of plane*) Schwingungen wie die 16b (399 cm^{-1}), 16a (591 cm^{-1}), 4 (641 cm^{-1}), 17b (837 cm^{-1}) und 17a (880 cm^{-1}) liefern hingegen nur sehr schwache Übergänge. Des Weiteren liefern auch die total symmetrischen Schwingungsmoden der 6b (458 cm^{-1}), 6a (527 cm^{-1}) und 12 (977 cm^{-1}) lediglich schwache Banden im MATI-Spektrum. Zusätzlich können von der 16b Mode sowohl der Grundton (399 cm^{-1}) als auch der erste Oberton (798 cm^{-1}) mit ausreichender Intensität beobachtet werden, was mit einer möglichen Geometrieänderung bei der elektronischen Anregung erklärt werden kann. In Tabelle 14 sind die experimentellen Werte gegen die Berechnungen auf DFT und auf CASSCF Niveau gegeneinander aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass sich eine gute Übereinstimmung der gemessenen mit den Werten auf DFT Niveau ergeben, wobei die größte Abweichung bei der Schwingungsmode 17b mit 12 cm^{-1} bei nur 1,5 % liegt.

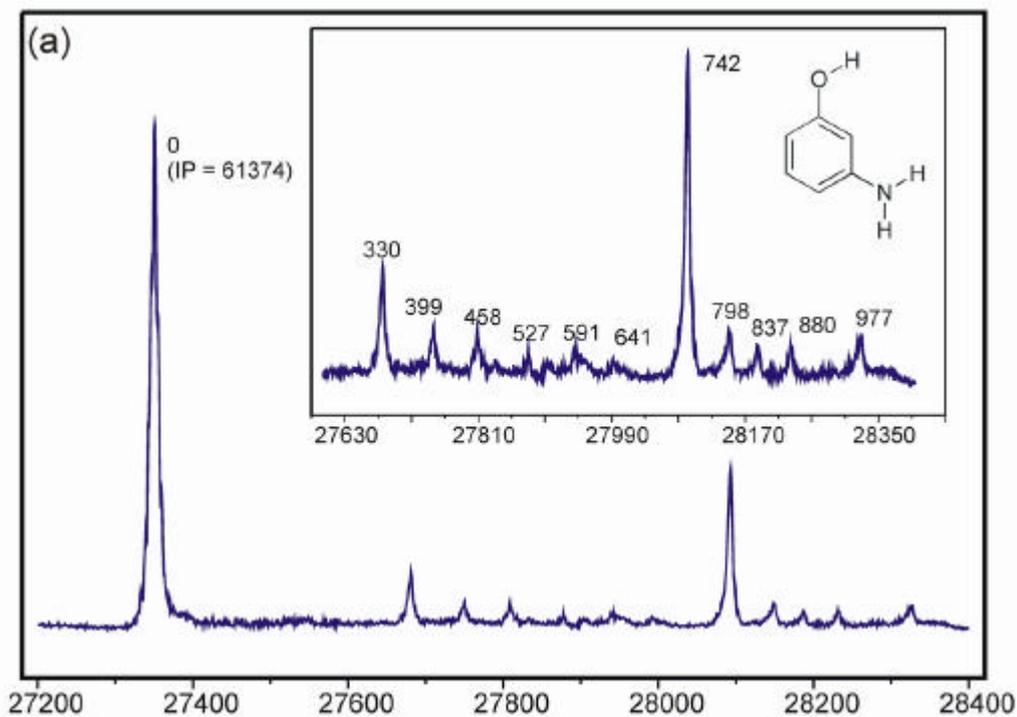


Abb. 72 MATI-Spektrum des 3-Aminophenols, Isomer A von 27200-28400 cm^{-1}

14.2.b MATI-Spektrum 3-Aminophenol Isomer B

Das MATI-Spektrum des Isomers B, aufgenommen über den Übergang bei 34467 cm^{-1} , lieferte ein adiabatisches IP von 61372 cm^{-1} . Analog zu dem Spektrum des Isomers A wird auch dieses Spektrum (Abb. 73) dominiert von der Schwingungsmode 1 bei 736 cm^{-1} , bezogen auf den Ursprung des Spektrums bei 26905 cm^{-1} . Gleiches Verhalten zeigen die total symmetrischen Schwingungen 6a, 12, 18a bei 528 cm^{-1} , 975 cm^{-1} und 1104 cm^{-1} . In weiterer Übereinstimmung mit Isomer A können auch hier die beiden, nicht total symmetrischen Moden, 16b (400 cm^{-1}) und ihr Oberton (800 cm^{-1}) beobachtet werden. Sehr schwache Übergänge bei 180 cm^{-1} (10b), 197 cm^{-1} (10a) und bei 853 cm^{-1} (17b) gehören zu weiteren a'' -symmetrischen Schwingungsmoden.

Auch hier zeigt sich wieder in Anlehnung zu Isomer A, dass die DFT basierenden Frequenzen eine deutlich bessere Übereinstimmung mit der experimentellen Werten liefern, als dies bei den CASSCF Daten der Fall ist.

Da beide Isomere strukturell sehr ähnlich sind zeigen auch ihre Schwingungsfrequenzen lediglich geringe Abweichungen von einander. Unter Berücksichtigung der total symmetrischen Schwingungen 6a, 1, 12, die in beiden Spektren auftreten, kann geschlussfolgert werden, dass ihre Schwingungsfrequenzen mit einer Abweichung von 2 cm^{-1} nahezu identisch sind, wo hingegen die Schwingungsbande der Mode 1 in Isomer B eine um 6 cm^{-1} niedrigere Frequenz liefert, als in Isomer A.

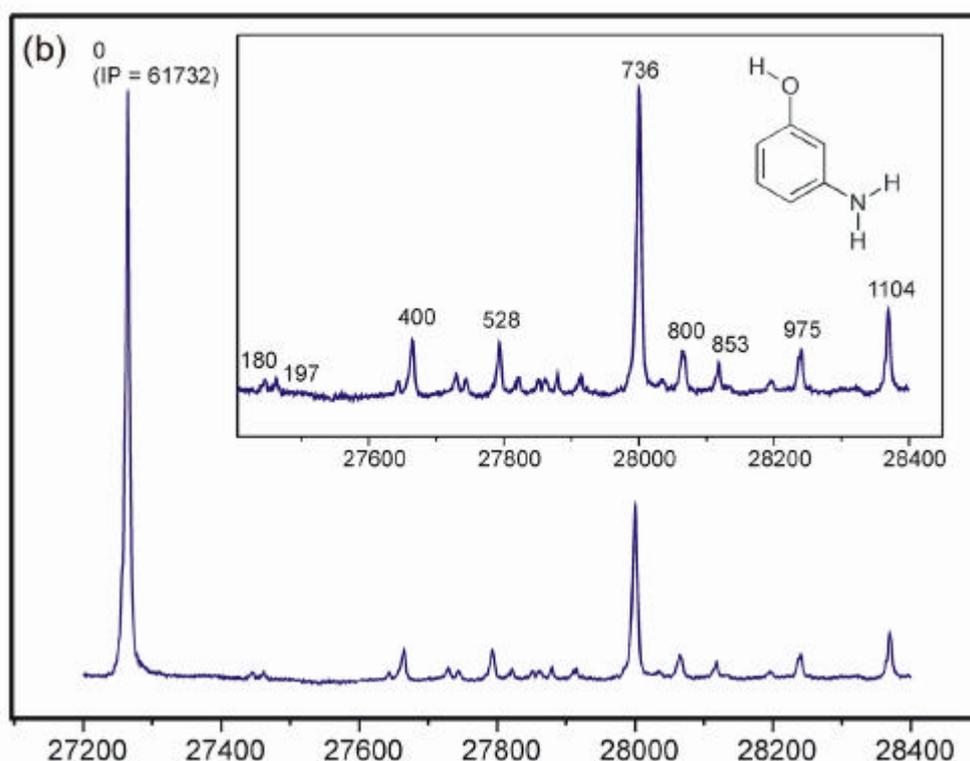


Abb. 73 MATI-Spektrum des 3-Aminophenols, Isomer B 27200-28400 cm^{-1}

Auch dies geben die DFT Rechnungen korrekt wieder, die entsprechenden berechneten Frequenzen der Moden 6a und 12 unterscheiden sich um 3 cm^{-1} , die der Mode 1 liegt bei Isomer B um 6 cm^{-1} tiefer als der entsprechende Wert bei Isomer A. Die theoretischen Schwingungsfrequenzen sind in Tabelle 14 den

3-Aminophenol

experimentellen Daten gegenübergestellt. Die theoretischen Frequenzen stammen aus Rechnungen auf B3LYP/6-311++G(d,p) ("DFT") und CASSCF(9,8)/6-31G(d,p) Niveau, die erhaltenen Schwingungsfrequenzen sind nicht skaliert.

Isomer A			Isomer B			Zuordnung (Symmetrie)
Exp.	DFT	CASSCF	Exp.	DFT	CASSCF	
	185	184	180	184	184	10b (a'')
	198	215	197	197	216	10a (a'')
330	334	359		328	340	9a (a')
399	405	421	400	402	424	16b (a'')
458	467	506		484	514	6b (a')
527	537	564	528	540	566	6a (a')
591	596	779		591	655	16a (a'')
641	639	653		643	567	4 (a'')
742	753	791	736	747	784	1 (a')
798	2×405= 810	2×421=842	800	2×402= 804	2×424=848	2×16b
837	825	822	853	845	843	17b (a'')
880	895	876		879	865	17a (a'')
977	984	1037	975	985	1039	12 (a')
	1121	1182	1104	1128	1177	18a (a')

Tabelle 14 Experimentelle und theoretische (DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) und CASSCF(9,8)/6-31G(d,p)-Niveau) Schwingungsfrequenzen des 3-Aminophenols, Isomer A und B.

14.3 4-Aminophenol

Im R2PI-Spektrum des 4-AP zeigt sich, wie erwartet, nur eine einzige prominente Bande bei 31395 cm^{-1} (Abb. 74). Die beiden schwachen Übergänge bei 31222 cm^{-1} und 31376 cm^{-1} sind Banden die durch Fragmentation des 4-AP(H_2O) Clusters entstehen.

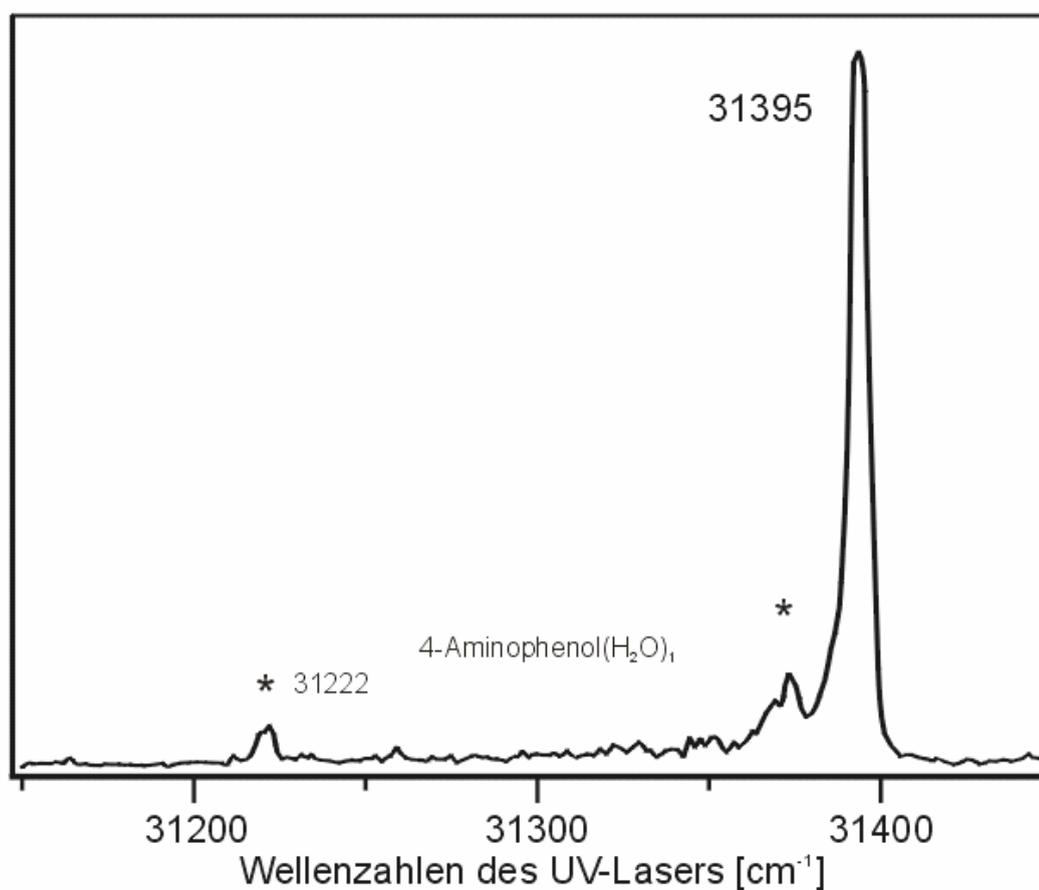


Abb. 74 R2PI-Spektrum des 4-Aminophenol von $31000\text{-}31500\text{ cm}^{-1}$

14.3.a MATI Spektrum 4-Aminophenol

Das MATI-Spektrum wurde folglich über die Bande bei 31195 cm^{-1} aufgenommen und führt, wie in Abb. 75, dargestellt zu einem adiabatischen IP von 58790 cm^{-1} . Im Gegensatz zu den MATI-Spektren der beiden Konformeren des 3-AP, liefert das Spektrum des 4-AP eine geringere Anzahl von Schwingungsübergängen. Die entsprechende Zuordnung durch die vergleichenden Berechnungen, wie bei 3-AP auf DFT und CASSCF Niveau, ist in Tabelle 14 dargestellt. Das theoretische Niveau der Berechnungen wurde dabei identisch zu dem des 3-AP gewählt (B3LYP/6-311++G(d,p) ("DFT") und CASSCF(9,8)/6-31G(d,p)).

Analog zum Spektrum des Resorcin-Kations wird dieses Spektrum dominiert von den total symmetrischen Schwingungsmoden. Wie bei den 3-AP Spektren, ist auch hier wieder die 1-Mode die prominenteste Bande im Spektrum und lediglich die 16b und 16a sind aus dem Bereich der nicht total symmetrischen *out of plane* Schwingungsbanden als Schwache Übergänge im Spektrum wieder zu finden. Wiederum zeigen die Berechnungen auf DFT Niveau eine ausgezeichnete Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. Die experimentellen und theoretischen Schwingungsfrequenzen sind in Tabelle 15 gegeneinander aufgetragen. Zu bemerken ist, dass beim 4-AP⁺ die Frequenz der Mode 1 (839 cm^{-1}) um ca. 100 cm^{-1} höher liegt, als die vergleichbare Schwingung im 3-AP⁺ (742 cm^{-1} / 736 cm^{-1}), was durch die unterschiedlichen Substitutionsmuster (para-di-light bzw. meta-di-light) zu erklären ist.

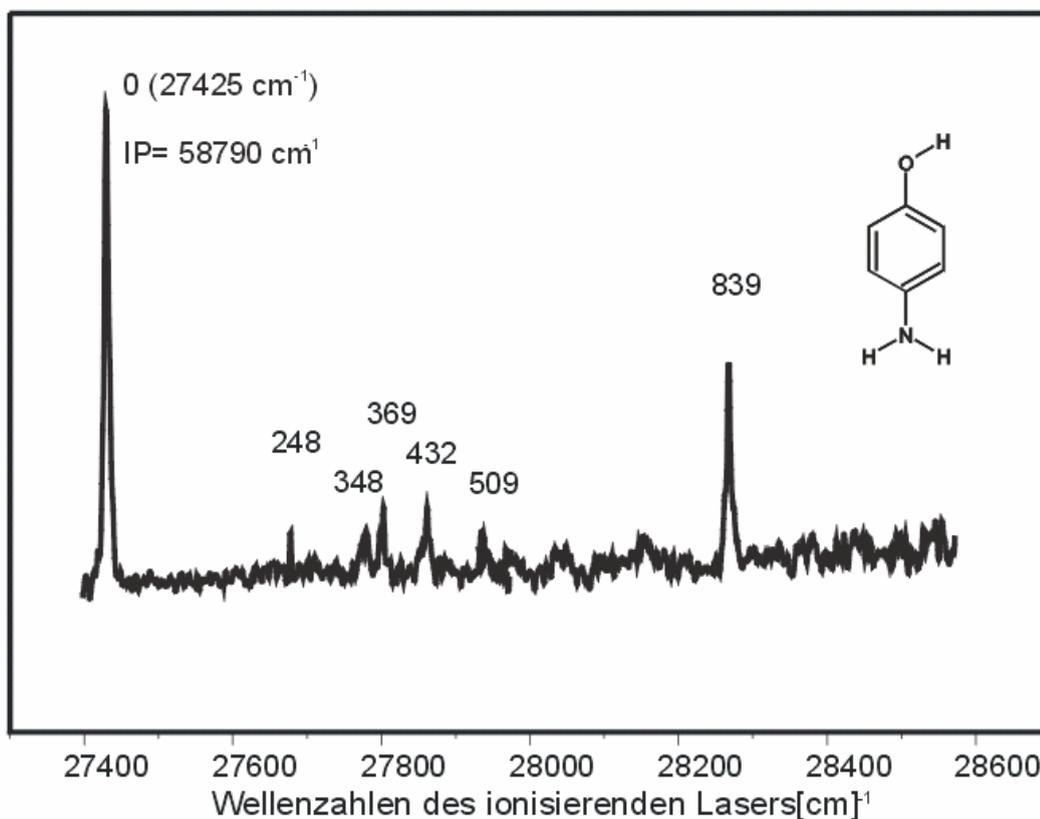


Abb. 75 MATI-Spektrum 4-Aminophenol von 27400-28500 cm^{-1}

Exp.	DFT	CASSCF	Zuordnung (Symmetrie)
248	$2 \times 126 = 252$ 2	$2 \times 136 = 272$	$2 \times 10a (a'')$
348	348	374	9a (a')
369	375	398	16b (a'')
432	469	492	6a (a')
509	514	530	16a (a'')
839	846	879	1 (a')

Tabelle 15: Experimentelle und theoretische (DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) und CASSCF(9,8)/6-31G(d,p)-Niveau) Schwingungsfrequenzen des 4-Aminophenols

Vergleichbare Ergebnisse liefern die Betrachtungen der 1-Mode von para-substituiertem Dihydroxybenzen (cis-/trans-Hydroxychinon, 834 cm^{-1} / 837 cm^{-1}) und meta-substituiertem Dihydroxybenzen (Resorcin, Isomer A 736 cm^{-1} und Isomer B 733 cm^{-1}), wobei die Substituenteneffekte aller Spezies mit para-Substitution nahezu

identisch sind und im Vergleich um ungefähr 100 cm^{-1} von allen Spezies mit meta-Substitution abweichen.

14.4 Vergleich der berechneten mit experimentell bestimmten IPs

Aus den auf CASSCF optimierten Strukturen im S_0 - und D_0 -Zustand wurden für die beiden Isomere A und B des 3-AP auf CASMP2 Niveau *single-point* Energie Berechnungen durchgeführt, die Werte von 62758 cm^{-1} (Isomer A) und 62153 cm^{-1} (Isomer B) ergaben, wobei die Nullpunktsenergie berücksichtigt wurden, indem die unskalierten harmonischen Frequenzen der CASSCF Methode verwendet wurden.

Auch wenn die Reihenfolge der beobachteten IPs (IP Isomer A < IP Isomer B) durch die Berechnungen nicht korrekt wiedergegeben wurde, stimmen die absoluten Werte mit einer Abweichung unterhalb von 0.2 eV dafür, dass die CASMP2 Energieberechnungen ein probates Mittel zur Berechnung dieser IPs darstellen.

Bei den Ionisationspotentialen, die auf B3LYP/631++G(d,p) Berechnungen beruhen, wird die Reihenfolge der IPs mit 59938 cm^{-1} und 60280 cm^{-1} zwar richtig wiedergegeben, die absoluten Werte jedoch zeigen eine schlechtere Übereinstimmung mit den experimentellen Werten, als die auf CASSCF/CASMP2 Niveau.

Auch bei den Berechnungen zum 4-Aminophenol zeigt sich ein analoges Ergebnis zu den Isomeren bei 3-AP.

Die Abweichung des auf CASSCF/CASMP2 Niveau ermittelten adiabatischen IPs, liegt mit 59351 cm^{-1} um weniger als $0,1\text{ eV}$ oberhalb des Wertes, der aus den experimentellen Daten erhaltenen (58790 cm^{-1}) und wiederum liegt der aus B3LYP Berechnungen erhaltene Wert signifikant tiefer (57173 cm^{-1}).

Auch dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Erfahrungen, die mit den vergleichbaren Systemen Resorcin und Brenzkatechin erhalten wurden.

Das Ergebnis zeigt weiterhin deutlich, welches probates Mittel die MATI-Spektroskopie zur Unterscheidung unterschiedlicher Isomere über die Bestimmung der IPs darstellt.

Trotz so geringer struktureller Unterschiede und geringer Abweichung der zu erwartenden Schwingungsfrequenzen, zeigen doch die IPs einen deutlichen Unterschied von nahezu 300 cm^{-1} .

15 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ich habe mich im Rahmen meiner Doktorarbeit mit Sekundärstrukturmotiven von Peptiden im Molekularstrahl beschäftigt. Als Methode wurde die IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie eingesetzt, die massen-, isomeren- und zustandsselektive Informationen liefert. Für jedes beobachtete Isomer kann ein IR/R2PI-Spektrum aufgenommen werden, wobei dies erstmals sowohl im Bereich der N-H-Streckschwingungen als auch im Bereich der C=O-Streckschwingungen gelang. Diese funktionellen Gruppen sind für die Ausbildung von Strukturmotiven in Peptiden entscheidend. Spezielles Interesse lag dabei auf der Betrachtung des Bindungsmotivs von β -Faltblattanordnungen.

Die Untersuchungen wurden an kleinen Systemen begonnen um dann die Studien systematisch auf größere Systeme auszuweiten. Um eine ausschließliche Betrachtung von Wechselwirkungen im Peptidrückgrat zu gewährleisten, wurden die polaren Enden der Aminosäuren und Peptide mit Schutzgruppen versehen.

Die Suche nach einem geeigneten Modellsystem für ein β -Faltblattsystem führte uns zur geschützten Aminosäure AcPheOMe. Es zeigte sich in den spektroskopischen Untersuchungen kombiniert mit den durchgeführten Berechnungen, dass AcPheOMe eine β -Faltblatt analoge Struktur (β_L -Struktur) ausbildet und dass das AcPheOMe-Dimer das erste in der Gasphase analysierte β -Faltblattmodell darstellt.

In weiteren Studien wurde die Methylgruppe der Schutzgruppe des C-Terminus durch eine NHMe-Gruppe ersetzt. Durch Einführung der zweiten Amidgruppe erhielt man ein Dipeptidmodell. Auch bei diesem Monomer bildete sich als stabilste Struktur ein β_L -System aus. Zusätzlich aber auch noch eine γ_L -Struktur mit einer H-Brücke zwischen der N-H- und der C=O-Funktion der Schutzgruppen. Das Dimer des AcPheNHMe bildete wieder ein β -Faltblattmodell.

Beim (AcPheNHMe)₂ zeigte sich jedoch ein von dem (AcPheOMe)₂ abweichendes β -Faltblattstrukturmotiv. Hier bildeten sich die beiden H-Brücken entgegen dem

Dimer des AcPheOMe nicht über die amidische N-H- und C=O-Gruppen des Rückgrates, sondern über die N-H- und C=O-Gruppen der Schutzgruppen aus, was eine aussengebundene Struktur darstellt. Eine innengebundene Struktur konnte nicht beobachtet werden.

In folgenden Studien sollte der Einfluss der Seitenkette von Aminosäuren auf das Rückgrat und die Struktur von Monomer und Dimer untersucht werden. Zu diesem Zweck wählten wir die Aminosäure Tryptophan in Kombination mit der Methylschutzgruppe für den C-Terminus. Das AcTrpOMe besitzt eine polare Seitenkette. Auf die Konformation des Monomers hatte diese keinen Einfluss, auch hier bildete sich eine β_L -Struktur. Bei der Untersuchung des Dimers zeigte sich, dass eine Bindung über die polaren Seitenketten gegenüber einer doppelt H-brückengebundenen Struktur über die funktionellen Gruppen des Rückgrates bevorzugt wurde. Dabei bildet sich eine asymmetrisch verbrückte Struktur aus, bei der die eine H-Brücke ausgehend von der indolischen N-H zur Carbonylfunktion des Rückgrates und die andere zur Carbonylfunktion der Schutzgruppe verläuft. Diese Struktur stellt kein β -Faltblattmodell dar. Daher wurden in weiteren Untersuchungen polare Seitenketten vermieden.

Für weitere Untersuchungen an größeren Systemen (Dipeptide und Tripeptidmodell) wurden Phe und Tyr als Chromophorträger verwendet. Beim Übergang zu diesen Systemen konnten die Ergebnisse (Frequenzen der einzelnen Schwingungen), die bei den kleineren Systemen erhalten wurden, inkrementell übertragen werden.

Das zuerst untersuchte Dipeptid ist das AcValPheOMe. Auch hier zeigte sich, dass es sich bei der experimentell beobachteten Anordnung um ein Konformer in β_L -Struktur handelt.

Aufbauend auf diese experimentellen Studien wurde das AcValTyr(Me)NHMe betrachtet. Es stellt durch seine zusätzliche Amidgruppe ein Tripeptidmodell dar.

Trotz der hohen Flexibilität des Rückgrats und der Möglichkeit einer intramolekularen H-Brücke zur NHMe-Schutzgruppe (wie zuvor bei einem Isomer des AcPheNHMe beobachtet) weist das AcValTyr(Me)NHMe nur eine einzige, gestreckte

Rückgratanordnung auf. Es handelt sich eindeutig um eine β -Faltblatt analoge Struktur.

Ein Kernpunkt der Arbeit stellte die Forschung an den Komplexen von Peptiden mit Templatmolekülen in Kooperation mit der präparativ arbeitenden Gruppe T. Schrader (Marburg) dar, wobei hier Template auf der Basis von Aminopyrazolen verwendet wurden. In der Praxis sollen die Template zur Inhibition der katalytische Wirkung von pathogenen β -Faltblattstrukturen eingesetzt werden. Bei den verwendeten Template existierten zwei tautomere Strukturen, deren relative Stabilitäten es zu bestimmen galt. Weiterhin sollten die Stärken der individuellen H-Brücken bestimmt und die Qualität (Selektivität und Effizienz) der H-Brücken auf molekularer Ebene analysiert werden. Beginnend mit kleineren Modellsystemen aus AcPheOMe wurden doppelt H-brückengebundene Komplexe mit Pyrazol und MAP untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass sich die geschützte Aminosäure in diesen Templat-Clustern weiterhin in einer β -Faltblatt analogen Anordnung befand. Beim Übergang zum größeren System des Dipeptids AcValPheOMe konnte die Anzahl der ausgebildeten H-Brücken im Komplex mit MAP auf drei erhöht werden. Wie zuvor beim Pyrazol-Cluster stellen sie die maximale Anzahl von H-Brücken dar, die zwischen Templat und Peptid ausgebildet werden können. Eine der drei H-Brücken wies dabei jedoch eine deutlich geringere Stabilität als die anderen zwei Brücken auf.

Ein weiteres System, bei dem eine Dreipunkthaftung des Templatmoleküls zum Peptid möglich ist, stellt das Tripeptidmodellsystem AcValTyr(Me)NHMe in Verbindung mit dem MAP dar. Es zeigte sich jedoch, dass eine zweifach intermolekular verbrückte Struktur mit einer zusätzlichen intramolekularen H-Brücke im Peptidrückgrat bevorzugt wird. Die NH_2 -Gruppe des MAP liegt in diesem Cluster unverbrückt vor. Die beiden intermolekularen Brücken wiesen eine sehr hohe Stabilität auf.

Um den Komplex in eine dreifach H-brückengebundene Struktur zu zwingen, wurde eine derivatisiertes Templatmolekül eingesetzt. Anstelle der NH_2 -Gruppe wurde eine

Trifluoracetamid-Gruppe ($F_3C-CO-NH$) eingeführt. Diese Derivatisierung bewirkt eine deutliche Erhöhung der Azidität der verbliebenen N-H-Bindung.

Im AcValTyr(Me)NHMe-TFMAP-Cluster findet man folglich auch wieder eine dreifach brückengebundene Struktur. Alle drei H-Brücken zeigten eine starke Verschiebung der Schwingungsfrequenzen gegenüber den Schwingungen im freien Peptid und Templat, welche ein eindeutiges Zeichen hoher Stabilität der H-Brückenbindung ist. Das Rückgrat des Peptides in diesem Komplex weist eine starke Deformation (Verkrümmung) auf, die in Bezug auf das Monomer ungünstiger ist. Bedingt durch die mit den drei H-Brücken einhergehende deutliche Stabilisierung kann dies jedoch deutlich überkompensiert werden.

Zur Untersuchung der Potentialhyperfläche der zuvor beschriebenen Systeme von geschützten Aminosäuren, Peptiden, Dipeptiden, Tripeptidmodellen und deren Dimere und Cluster mit Templaten haben sich Kraftfeldrechnungen (Klasse II Kraftfelder, CFF Methode) bewährt. In Verbindung mit der *modified quenched dynamics* Methode konnten bei geeigneter Wahl der verwendeten Parameter die Suche nach möglichen stabilen Konformeren deutlich gegenüber einer reinen Suche auf *ab initio* Niveau vereinfacht werden. Gleichzeitig konnte eine Vorauswahl von Konformationen für nachfolgende *ab initio* Berechnungen getroffen werden.

Die *ab initio* Berechnungen an den noch relativ kleinen Systemen konnten auf einem hohen theoretischen Niveau durchgeführt werden, wodurch eine sehr gute Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen erzielt werden konnte. Dadurch war eine eindeutige Zuordnung der gemessenen Spektren zu definierten Konformeren möglich. Bei den Berechnungen hat sich gezeigt, dass die für das System AcPheOMe gewonnenen Erkenntnisse eine sehr gute Vorhersage für weitere Systeme darstellten und dass die Skalierungsfaktoren, die für die Schwingungsfrequenzen des Phenylalanin bestimmt wurden auch auf die anderen Aminosäuren und Peptide übertragen werden konnten.

Weiterhin zeigte sich, wie hilfreich und wirkungsvoll das in diesem Arbeitskreis entwickelte IR-Lasersystem zur Messung auch des Frequenzbereichs von 1400-2100 cm^{-1} (Bereich der N-H-Biegeschwingungen und C=O-Streckschwingungen) für die Bestimmung der Konformation solcher biologischer Systeme ist. Bei solch komplexen Strukturen existiert eine Vielzahl verschiedener Konformere und nur durch die Bestimmung aller Schwingungsfrequenzen der im Rückgrat befindlichen funktionellen Gruppen (N-H und C=O) ist eine genaue Zuordnung zu unterschiedlichen Strukturen erst möglich. Durch dieses Lasersystem konnten Unterscheidungen zwischen möglichen Isomeren aufgrund der Anzahl von beobachteten C=O-Schwingungen getroffen werden. Weiterhin konnten durch Messung von Frequenzen der C=O-Grundtöne Schwingungen im N-H-Bereich den 1. Obertönen zugeordnet werden.

Zusammenfassend konnten die Bindungsstärken verschiedener H-Brücken analysiert und der Einfluss unterschiedlicher Template auf molekularer Ebene untersucht werden. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass lediglich ein Tautomer der beiden möglichen MAP-Tautomere stabile Komplexe ausbildete. Bei den dreifach verbrückten Komplexen wurde eine hohe Stabilität der Cluster durch zwei Donor- und eine Akzeptor-Brücke am Peptidrückgrat erreicht. Durch die starken Brücken resultierte eine Beeinflussung des Peptidrückgrats.

Diese Erkenntnisse geben eindeutige Hinweise für die gezielte Synthese von neuen Templatmolekülen, die zur Inhibierung von β -Faltblättern in größeren Systemen dienen.

-
- [1] R. Mestel, *Science*, **273**, 184 (1996)
- [2] S. B. Prusiner, *Current topics Microbiol. Immunol.*, **207** (1996)
- [3] *Anorganische Chemie*, E. Riedel, 3. Verbesserte Auflage. Walter de Gruyter, Berlin, New York (1994)
- [4] *Biochemie*, Lubert Stryer, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1. korrigierter Nachdruck (1999) der 4. Auflage (1996)
- [5] G.E. Schulz, R.H. Schirmer: *Principles of Protein Structure*, Springer, Berlin (1979)
- [6] C.B. Anfinsen, H.A. Scheraga, *Adv. Protein Chem.*, **29**, 205 (1975)
- [7] G. Némethy, H.A. Scheraga, *Annu. Rev. Biophys.*, **10**, 239 (1977)
- [8] G.M. Crippen, H.A. Scheraga, *Arch. Biochem. Biophys.*, **144**, 453 (1971)
- [9] H.A. Scheraga in : M. Goodman (Hrsg.): *Petpides, Polypeptides and Proteins: Interactions and their biological Implications*
- [10] R. Jaenicke, (Hrsg.): *Protein folding*, Elsevier, Amsterdam (1980)
- [11] J.S. Richardson, *Adv. Protein Chem.* **34**, 167 (1981)
- [12] M. Goodman (Hrsg.): *Petpides, Polypeptides and Proteins: Interactions and their biological Implications*
- [13] T.E. Creighton, *J. Mol. Biol.*, **113**, 275 (1977)
- [14] S. Tanaka, H.A. Scheraga., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 1320 (1977)
- [15] H.A. Scheraga in P.D. Boyer (Hrsg.): *The Enzymes*, Vol **2**, Academic Press, New York, S.46 (1970)
- [16] S. Tanaka, H.A. Scheraga, *Macromolecules*, **10**, 291 (1977)
- [17] M. Karplus, A. Caflisch, A. Sali, E. Shakhnovich, in *Modelling of Biomolecular Structures and Mechanisms* (Hrsg.: A. Pullman), Kluwer, Dordrecht, 69 (1995)
- [18] C.M. Dobson, A. Sali, M. Karplus, *Angew. Chemie*, **110**, 908 (1998)
- [19] C. Levinthal, *J. Chim. Phzys.*, **65**, 44 (1968)
- [20] G.A. Chasse, A.M. Rodriguez, M.L. Mak, E. Deretey, A. Perczel, C.P. Sosa, R.D. Enriz, I.G. Csizmadia, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **537**, 319 (2001)
- [21] S.J. Martinez III., J.C. Alfano, D.H. Levy, *J. Mol. Spectrosc.* **156**, 421 (1992)
-

-
- [22] R.W. Cowgill, *Biochim Biophys. Acta*, **75**, 272 (1963)
- [23] I. Munro, I. Pecht, L. Stryer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 56 (1979)
- [24] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature 1974
- [25] J.T. Edsall, P.J. Flory, J.C. Kendrew, A.M. Liquori, G. Némethy, G.N. Ramachandran, H.A. Scheraga, *J. Biol. Chem.*, **241**, 1004 (1966)
- [26] M. Mutter., *Angew. Chemie*, **97**, 639 (1985)
- [27] J.S. Richardson in T. Vorherr, M. Mutter, *Int. J. Biol. Macromol.*, im Druck
!!!! S. 41
- [28] C. Chothia, M. Levitt, D. Richardson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 4130 (1970)
- [29] O. Ptitsyn, A. Finkelstein in R. Jaenicke, (Hrsg.): *Protein folding*, Elsevier, Amsterdam (1980)
- [30] F. Maser, K. Bode, V.N.R. Pillai, M. Mutter, *Adv. Polym. Sci.*, **65**, 177 (1984)
- [31] M. Goodman, A. Verdini, C. Toniolo, W. Phillips, F. Bovey, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **64**, 444 (1969)
- [32] M. Rinaudo, A. Domard, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 6360 (1976)
- [33] M. Goodman, C. Toniolo, F. Naider in E.R. Blout, F.A. Boyer, M. Goodman, N. Lotan (Hrsg.): *Peptides, Poypeptides and Proteins*, Wiley, New York, 308 (1974)
- [34] V.N.R. Pillai, M. Mutter, *Acc. Chem. Res.*, **14**, 122 (1981)
- [35] G.M. Bonora, C. Toniolo, M. Mutter, *Poymer*, **19**, 1382 (1978)
- [36] C. Toniolo, G.M. Bonora, M. Mutter, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 450 (1979)
- [37] G.M. Bonora, M. Palumbo, C. Toniolo, M. Mutter, *Makromol. Chem.*, **180**, 1293 (1979)
- [38] A.A. Ribeiro, R. Saltman, M. Goodman, M. Mutter, *Biopolymers*, **21**, 2225 (1982)
- [39] H.R. Kricheldorf, M. Mutter, F. Maser, D. Müller, H. Förster, *Biopolymers*, **22**, 1357 (1983)
- [40] M. Goodman, F. Naider, F. Rupp, *Bioorg. Chem.*, **1**, 310 (1971)
- [41] M. Sueki, S. Lee, S.P. Powers, J.B. Denton, Y. Konishi, H.A. Scheraga, *Macromolecules*, **17**, 2148 (1984)
-

-
- [42] V. Sasisekharan, Stereochemical criteria for polipeptide and protein structures, S. 39, Ed. G.N. Ramachandran, Wiley, Indiana (1962)
- [43] Standard structures in proteins, A.V. Efimov, Prog. Biophys. molec. biol. Vol. **60** 201 (1993) GB
- [44] E. Langella, N. Rega, R. Improta, O. Crescenzi, V. Barone. J. Comput. Chem., **23**, 650 (2002)
- [45] A. Perczel, J.A. Ángyán, M. Kajtár, W. Viviani, J.L. Rivail, J.F. Marcoccioa, I.G. Csizmadia
- [46] M. Ramek, J. Phys. Chem A, **104**, 9636 (2000)
- [47] Internal temperatures have not been reported for the amino acids in seeded beams, For tetracene-Ar complexes internal temperatures in the range of 5-35 K have been reported, N.B. Horin, U. Even, J. Jortner, and S. Leutwyler, J. Chem. Phys., **97**, 5296 (1992)
- [48] G. Meijer, M.S. de Vries, H.E. Hunziker, H.R. Wendt, Appl. Phys. B: Photophys. Laser Chem., **51**, 395 (1990)
- [49] Markus Gerhards, Dissertation (Düsseldorf 1995)
- [50] W. C. Wiley, I. H. McLaren, Rev. Sci. Instr. **26**, 1150 (1950)
- [51] M. Gerhards, submitted to Opt. Comm.
- [52] Dissertation Claus Unterberg, Heinrich Heine Universität Düsseldorf (2002)
- [53] U. Boesl, H. J. Neusser, E. W. Schlag, Z. Naturforsch. A **33**, 1546 (1978)
- [54] V. S. Letokhov, Laser Photoionization Spectroscopy, Academic Press, New York 1987
- [55] G. Reiser, W. Habenicht, K.-Müller-Dethlefs, E.W. Schlag, Chem. Phys. Lett. **152**, 119 (1988),
- [56] K. Müller-Dethlefs, E. W. Schlag, Ann. Rev. Phys. Chem. **42**, 109 (1991)
- [57] K. Müller-Dethlefs in High Resolution Laser Photoionization and Photoelectrons Studies, Hrsgb. I. Powis, T. Baer, C. Y. Ng, J. Wiley&Sons Ltd, New York, 1995
- [58] K. Müller-Dethlefs, E. W. Schlag, Angew. Chem., Int. Ed. **37**, 1346 (1998) und darin enthaltene Referenzen
- [59] L. Zhu, P.M. Johnson, J. Chem. Phys. **94**, 5769 (1991)
-

-
- [60] H.-J. Dietrich, R. Lindner, K. Müller-Dethlefs, *J. Chem. Phys.* **101**, 3399 (1994)
- [61] W. A. Chupka, *J. Chem. Phys.* **98**, 4520 (1993)
- [62] W. A. Chupka, *J. Chem. Phys.* **99**, 5800 (1993)
- [63] *J. Phys. Chem. A*, **105**, 4865 (2001)
- [64] 1991 von Kikujiro Ishii et al
- [65] E.G. Robertson, M.R. Hockridge, P.D. Jelfs, J.P. Simons *J. Phys. Chem. A*, **104**, 11714 (2000)
- [66] T.S. Zwier, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **47**, 205 (1996)
- [67] T. Ebata, A. Fujii, N. Makami, *Int. Rev. Phys. Chem.*, **17**, 331 (1988)
- [68] E.G. Robertson, *Chem. Phys. Lett.*, **325**, 299 (2000)
- [69] E.G. Robertson, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 786 (2001)
- [70] J. R. Carney, A. V. Fedorov, J. R. Cable, T. S. Zwier, *J. Phys. Chem. A* **105**, 3487 (2001)
- [71] A. V. Fedorov, J. R. Cable, J. R. Carney, T. S. Zwier, *J. Phys. Chem. A* **105**, 8162 (2001)
- [72] G.M. Florio, C.J. Gruenloh, T.S. Zwier, *Abstr. Pap. Am. Chem. S218-U282* (1999)
- [73] Y. Matsuda, T. Ebata, N. Mikami, *J. Chem. Phys.*, **110**, 8397 (1999)
- [74] G. M. Florio, C. J. Gruenloh, R. C. Quimpo, T. S. Zwier, *J. Chem. Phys.* **113**, 11143 (2000)
- [75] H.A. Baldoni, G.N. Zamarbide, R.D. Enriz, E.A. Jauregui, Ö. Farkas, A. Perczel, S.J. Salpietro, I.G. Csizmadia, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **500**, 97 (2000)
- [76] A.G. Császár, A. Perczel, *Prog. Biophys. Mol. Biol* **7**, 243 (1999)
- [77] P. Hudáky, I Jákli, A. G. Császár, A. Perczel, *J. Comp. Chem.* **22**, (2001)
- [78] A. Perczel, Ö. Farkas, A. G. Császár, I. G. Csizmadia, *Can. J. Chem* **75**, 1120 (1997)
- [79] I. Jákli, A. Perczel, Ö. Farkas, M. Hollósi, I. G. Csizmadia, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **455**, 303-314 (1998)
- [80] A. Perczel, J. G. Ángyán, M. Kajtár, W. Viviani, J.L. Rivail, J.F. Marcoccia,
-

-
- I.G. Csizmadia, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 6256 (1991)
- [81] T.R. Rizzo, Y.D. Park, L.A. Pereanu, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.* **84**, 2534 (1986)
- [82] L. C. Snoek, E. G. Robertson, R. T. Kroemer, J. P. Simons, *Chem. Phys. Lett.* **321**, 49 (2000)
- [83] M. Gerhards, C. Unterberg, A. Gerlach, A. Jansen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6** (2004)
- [84] G.N. Ramachandran, V. Sasisekharan, C. Ramkrishan, *Biochem. Biophys. Acta* **112**, 168 (1966)
- [85] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *J. Chem. Phys.* **118** (18), 8296 (2003)
- [86] I. Hünig, K. Kleinermanns, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6** (2004) (Advance Article)
- [87] W. Chin, M. Mons, J.P. Dognon, F. Puizzi, B. Tardivel, I. Dinicoli, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6** (2004) in press
- [88] R.J. Lipert, S.D. Colson, *J. Phys. Chem.* **93**, 3894 (1989)
- [89] I. Hünig, K.A. Seefeld, K. Kleinermanns, *Chem. Phys. Lett.* **369**, 173 (2003)
- [90] M. Gerhards, C. Unterberg, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 1760 (2002)
- [91] M. Gerhards, C. Unterberg, A. Gerlach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 5563 (2002)
- [92] Gaussian 98, Revision A.11, M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, V.G. Zakrzewski, J.A. Montgomery, Jr., R.E. Stratmann, J.C. Burant, S. Dapprich, J.M. Millam, A.D. Daniels, K.N. Kudin, M.C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G.A. Petersson, P.Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, P. Salvador, J.J. Dannenberg, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J. Cioslowski, J.V. Ortiz, A.G. Baboul, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, J.L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-
-

-
- Gordon, E.S. Replogle, and J.A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2001.
- [93] CFF Consistent Force Field and DISCOVER Molecular Simulation Program, Version 2000. Molecular Simulations Inc., San Diego 2000
- [94] J. R. Maple, M.-J. Hwang, T. P. Stockfisch, U. Dinur, M. Waldmann, C. S. Ewig, A. T. Hagler, *J. Comput. Chem.* **15**, 162 (1994)
- [95] M. J. Hwang, T. P. Stockfisch, A. T. Hagler, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 2515 (1994)
- [96] J. R. Maple, M.-J. Hwang, K. J. Jalkanen, T. P. Stockfisch, A. T. Hagler, *J. Comput. Chem.* **19**, 430 (1998)
- [97] F. H. Stillinger, T. A. Weber, *Phys. Rev. A* **25**, 978 (1982)
- [98] F. H. Stillinger, T. A. Weber, *J. Phys. Chem.* **87**, 2833 (1983)
- [99] K. Vacek, P. Hobza, *J. Phys. Chem.* **99**, 17088 (1995)
- [100] M. Kratochvil, J. Šponer, P. Hobza, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 3495 (2000)
- [101] S. Boys, F. Bernardi, *Mol. Phys.* **19**, 553 (1970)
- [102] L.A. Philips, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **85**, 1327 (1986)
- [103] G. Berden, W.L. Meerts, E. Jalviste, *J. Chem. Phys.*, **103**, 9596 (1995)
- [104] L.A. Philips, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **89**, 85 (1988)
- [105] Y.R. Wu, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.* **91**, 5278 (1989)
- [106] J.R. Carney, T.S. Zwier, *Chem. Phys. Lett.*, **341**, 77 (2001)
- [107] L.A. Philips, D.H. Levy, *J. Phys. Chem.*, **90**, 4921 (1986)
- [108] M.J. Tubergen, J.R. Cable, D.H. Levy, *H. Chem. Phys.*, **92** (1), 51 (1990)
- [109] S.J. Martinez III., J.C. Alfano, D.H. Levy, *J. Mol. Spectrosc.*, **158**, 82 (1993)
- [110] L. Li, D. Lubman, *Appl. Spectrosc.*, **42**, 418 (1988)
- [111] L.A. Peteanu, D.H. Levy, *J. Phys. Chem.*, **92**, 6554 (1988)
- [112] F. Puizzi, L. Dimicoli, M. Mons, B. Tardivel, Q. Zhao, *Chem. Phys. Lett.*, **320**, 282 (2000)
- [113] L.C. Snoek, M.R. Hockridge, R.T. Kroemer, J.P. Simons, in preparation
- [114] T.R. Rizzo, Y.D. Park, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **85**(12), 6945 (1986)
- [115] L.A. Philips, S.P. Webb, S.J. Martinez III, G.R. Fleming, D.H. Levy, *J. Am. Chem. Soc.*, **110** (5), 1352 (1988)
-

-
- [116] J.R. Cable, M.J. Tubergen, D.H. Levy, *J. Am. Chem. Soc.*, **111** (25) 9032 (1989)
- [117] Y.D. Park, T.R. Rizzo, L.A. Peteanu, D.H. Levy, *J. Chem. Phys.*, **84**, 6539 (1986)
- [118] J.H. Jensen, M.S. Gordon, *Acc. Chem. Res.* **29**, 536 (1996)
- [119] J.H. Jensen, M.S. Gordon., *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8159 (1995)
- [120] B.C. Dian, A. Longarte, T.S. Zwier, *Science*, **296**, 2369 (2002)
- [121] B.C. Dian, A. Longarte, S. Mercier, D.A. Evans, D.J. Wales, T.S. Zwier, *J. Chem. Phys.*, **117**, 10688 (2002)
- [122] J.R. Carney, T.S. Zwier, *J. Phys. Chem. A*, **103**, 9943 (1999)
- [123] R. H. Page, Y. R. Shen, Y. T. Lee, *J. Chem. Phys.*, **88**, 4621 (1988)
- [124] C. Riehn, C. Lahmann, B. Wassermann, B. Brutschy, *Chem. Phys. Lett.* **197**, 3197 (1992)
- [125] S. Tanabe, T. Ebata, M. Fujii, N. Mikami, *Chem. Phys. Lett.* **215**, 347 (1993)
- [126] T. S. Zwier, *Ann. Rev. Phys. Chem.*, **47**, 205 (1996) and references therein
- [127] M. Gerhards, C. Unterberg, K. Kleinermanns, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2**, 5538 (2000)
- [128] M. Mons, I. Dimicoli, B. Tardivel, F. Piuzzi, E. G. Robertson, J. P. Simons, *J. Phys. Chem. A* **105**, 969 (2001)
- [129] J. R. Cable, M. J. Tubergen, D. H. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 7349 (1988)
- [130] R. Cohen, B. Brauer, E. Nir, L. Grace, M. S. de Vries, *J. Phys. Chem. A* **104**, 6351 (2000)
- [131] A. Gerlach, C. Unterberg, M. Gerhards, in preparation
- [132] S.B. Prusiner Current Topics
- [133] D.S. Kemp, B.R. Bowen, *Tetrahedron Lett.*, **29**, 5077 (1988)
- [134] D.S. Kemp, *Trends Biotechnol.*, **8**, 249 (1990)
- [135] T. Schrader, C. Kirsten, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 2089 (1996)
- [136] C. Kirsten, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 12061 (1997)
- [137] P. Saweczko, G. D. Enright, H.-B. Kraatz, *Inorg. Chem.* **40**, 4409 (2001)
-

-
- [138] P. Saweczko , G.D. Enright, H.-B. Kraatz, *Inorg. Chem.* **40**, 4498 (2001)
- [139] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *European Physical Journal D*, special issue in Molecular Physics about building blocks of life, **20**, 543 (2002)
- [140] V. Tabacik, H. Günthard, *J. Mol. Struct.* **45**, 316 (1973)
- [141] G. Varsanyi, *Assignments of Vibrational Spectra of 700 Benzene Derivatives*, New York, Wiley (1974)
- [142] M. Gerhards, C. Unterberg, S. Schumm, *J. Chem. Phys.* **111**, 7966 (1999)
- [143] M. Gerhards, S. Schumm, C. Unterberg, K. Kleinermanns, *Chem. Phys. Lett.* **294**, 65 (1998)
- [144] J. L. Lin, L. C. L. Huang, W. B. Tzeng, *J. Phys. Chem. A* **105**, 11455 (2001)
- [145] S. Wategaonkar, S. Doraiswamy, *J. Chem. Phys.* **105**, 1786 (1996)
- [146] H. Mori, H. Kugisaki, Y. Inokuchi, N. Nishi, E. Miyoshi, K. Sakota, K. Ohashi, H. Sekiya, *Chem. Phys.* **277**, 105 (2002)
- [147] M. Gerhards, C. Unterberg, *Appl. Phys. A-Mater* **72**, 273 (2001)
- [148] D.W. Pratt, private Mitteilung
- [149] Dissertation Andreas Jansen, Heinrich Heine Universität Düsseldorf (2003)
- [150] Habilitationsschrift Dr. Markus Gerhards, Heinrich Heine Universität Düsseldorf (2001)