

——— Tudományos Diákköri Dolgozat ———

LÉGRÁDY BONIFÁC

Cisztein konformerek vizsgálata Raman és Raman optikai aktivitás spektroszkópiával

Témavezetők:

Dr. Tarczay György, Szervetlen Kémiai Tanszék
Dr. Vass Elemér, Szerves Kémiai Tanszék



——— Eötvös Loránd Tudományegyetem ———
——— Természettudományi Kar ———
—— Budapest, 2014 ——

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani elsősorban témavezetőimnek a munkám során nyújtott sok segítségükért. Köszönöm Dr. Tarczay Györgynek az érdekes témát, és hogy mindig kész volt segíteni, amikor elakadtam, valamint hogy dolgozatom átolvasta, javította annak hibáit. Köszönöm Dr. Vass Elemérnek a mérések során nyújtott sok segítségét, illetve hogy részletesebben megismertette velem a módszer technikai, műszeres oldalát. Köszönettel tartozom továbbá testvéremnek, Légrády Dávidnak, valamint Hübler Tímeának, akik a számítási eredmények feldolgozásához használt scriptek alapjának megírásában nyújtottak segítséget.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	5
2. Célkitűzés	5
3. Irodalmi áttekintés	6
3.1. A VOA módszerek általános előnyei.....	6
3.1.1. Abszolút konfiguráció meghatározása	6
3.1.2. Konformációs analízis.....	7
3.1.3. Szolvatáció vizsgálata	7
3.1.4. Biomolekulák térszerkezetének vizsgálata.....	7
3.2. Aminosavak és más erős oldószerkölsönhatást mutató molekulák vizsgálata VOA spektroszkópiával.....	8
4. Elméleti áttekintés	12
4.1.1. A VCD és ROA spektrum.....	12
4.1.2. A Raman és ROA spektroszkópia elméleti áttekintése	13
4.2. A sűrűségfüggvény-elméletek alapjai.....	19
4.3. Oldószermodellek és a PCM	24
5. A ROA spektrométer.....	28
6. Kísérleti rész.....	33
6.1. A kísérleti körülmények.....	33
6.2. A kísérleti eredmények	35
7. A kísérleti eredmények értelmezése	41
7.1. Az ikerionos forma konformációs analízise	41
7.1.1. Az eredmények értelmezése implicit oldószermodell segítségével	42
7.1.2. Ciszteín-víz klaszterek vizsgálata	45
7.2. A protonált forma konformációs analízise.....	59
7.2.1. Az eredmények értelmezése PCM oldószermodellel	59
7.2.2. Ciszteín-víz klaszterek vizsgálata	64
8. Összefoglalás és kitekintés	70
9. Felhasznált irodalom	72
10. Függelék.....	74

1. Bevezetés ^[1-2]

A rezgési optikai aktivitás (Vibrational Optical Activity, VOA) alapja, ahogy nevében is benne van, az optikai aktivitás jelensége, melyet már a XIX. században megfigyeltek. Az optikai aktivitás eredeti megfigyelése az volt, hogy királis molekulák elforgatják a síkban polarizált fény síkját, mely forgatás mértéke hullámhosszfüggő mennyiség, valamint elektronátmeneteik során eltérő mértékben nyelik el az UV/látható tartományba eső cirkulárisan polarizált fényt. Az előbbi jelenséget az ORD (Optical Rotatory Dispersion), utóbbit az ECD (Electronic Circular Dichroism) vagy röviden, CD (Circular Dichroism) spektroszkópia használja ki. A VOA születését az optikai aktivitás rezgési spektroszkópiába történő bevezetése eredményezte.

A rezgési optikai aktivitás családjába két módszer tartozik, a rezgési cirkuláris dikroizmus (Vibrational Circular Dichroism, VCD) és a Raman optikai aktivitás (Raman Optical Activity, ROA). A rezgési cirkuláris dikroizmus a balra-, illetve jobbra cirkulárisan polarizált infravörös sugárzás molekulák rezgési átmenetei során történő elnyelésének a különbsége. A Raman optikai aktivitás definíció szerint pedig, a jobbra-, illetve balra cirkulárisan polarizált gerjesztő és/vagy szórt fény esetében mért eltérő intenzitású Raman-szórás.

2. Célkitűzés

TDK munkám során a ciszteinmolekula ikerionos és protonált formáinak konformereit vizsgáltam Raman és Raman optikai aktivitás spektroszkópiával. A spektroszkópai méréseket vizes közegben végeztem, a kísérleti eredmények értelmezéséhez pedig DFT-, valamint kiegészítő MP2 számításokat alkalmaztam. Célom a molekula egyes formái konformációs eloszlásának meghatározása mellett vizsgálni a vizes közeg hatását az egyes konformerek geometriájára, azok elméleti spektrumára a kísérleti eredményekkel való minél jobb egyezés érdekében. A ciszteinmolekula protonált formájának vizsgálatakor célom a teljes konformereloszlás meghatározása, valamint a kationos és ikerionos konformerek szerkezete közti analógiák keresése volt.

3. Irodalmi áttekintés [1, 3–20]

3.1. A VOA módszerek általános előnyei

A VOA módszereknek számos egyedülálló tulajdonságuk és előnyük van a többi spektroszkópiai módszerrel szemben, melyek lehetőséget biztosítanak királis molekulák abszolút konfigurációjának megállapítására, konformereloszlások meghatározására, szolvatáció vizsgálatára, biomolekulák szerkezetének tanulmányozására a kisebbektől egészen biopolimer-komplexekig.

3.1.1. Abszolút konfiguráció meghatározása

Királis molekulák abszolút konfigurációjának meghatározásában a VCD és ROA módszerek nyújtják a leggazdagabb szerkezeti információt. Sok, ezen a téren elterjedten alkalmazott módszernél lényegesen gyorsabbak és olcsóbbak. Abszolút konfiguráció meghatározására sokat használt módszer az anomális röntgendiffrakció, ám ennél az eljárásnál a minta előkészítése igencsak körülményes. A módszer alkalmazhatóságához a molekula nehézatomot kell tartalmazzon, vagy nehézatom ionjával kell sót képezzen. Továbbá a vizsgált anyagból egykristályt kell növesztetni, ráadásul annak nem csak tisztának, de enantiomertisztának is kell lennie. A VOA módszereknél ezzel szemben nincsenek ilyen szigorú követelmények a vizsgálandó minta tisztaságára vonatkozóan, és a spektrumok értelmezhetőségéhez akár már 10%-os enantiomerfelesleg is elég. Egy másik lehetséges módszer a királis shift-reagenssel végzett NMR mérés. Ezeknél a méréseknél azt használják ki, hogy a királis shift reagens irreverzibilis módon diasztereomer komplexeket képez a minta enantiomerjével, azonban a két enantiomer komplexe nem azonos stabilitású. A komplexek kialakulása, illetve felbomlása az NMR mérés időskálájánál rövidebb. A két enantiomer komplexében bizonyos atomok NMR eltolódása geometriai okok miatt eltérő, így a mért átlagos eltolódásból meghatározható az enantiomerfelesleg [4]. Ennél a módszernél azonban ismerni kell a shift-reagens és a vizsgált molekula közt létrejövő bonyolult komplex pontos szerkezetét. Az ECD és ORD spektroszkópia is régóta alkalmazott módszer ilyen problémák megoldásában. E módszerek mellett az szól, hogy kivitelezésük gyors, és viszonylag egyszerű. Azonban ezen technikák csupán olyan molekulák esetén alkalmazhatók, melyek kromofór csoportot tartalmaznak, azaz van UV/látható tartományba eső elnyelésük. A módszer hátránya továbbá, hogy a kapott spektrumok értékelése sok esetben nehézkes. Egy, már a XX. század közepétől alkalmazott spektroszkópiai technikáról lévén szó, több empirikus szabályt is kidolgoztak a molekula spektruma és szerkezete közti kapcsolatokra vonatkozóan, mint például a helicitási-, oktáns- vagy a benzol szektorszabályt. Ezek a szabályok azonban nem minden esetben használhatók,

és ilyenkor a spektrumokat csak elektrongerjesztett állapotok kvantumkémiai számításával lehet értelmezni. Ezek a számítások időigényesek, és nagyobb tapasztalatot igényelnek. Az ECD, illetve ORD spektrumokkal kapcsolatos legnagyobb probléma, hogy azok többnyire csak egy-két sávot tartalmaznak, így azok rosszul történő értelmezése könnyen félrevezető lehet. Ezzel szemben, még ha egy VCD vagy ROA spektrumban egy-egy sáv előjelét rosszul is adják vissza a számítások, akkor sok más sáv alapján még mindig egyértelműen meghatározható az abszolút konfiguráció.

3.1.2. Konformációs analízis

A VOA módszerek egyedülálló lehetőséget biztosítanak kisebb flexibilis molekulák oldatfázisú konformációs eloszlásának vizsgálatára is. Az IR és Raman spektrumokkal szemben, nemcsak a sávok helye és alakja, hanem a VOA spektrumokban azok előjele és intenzitása is rendkívül érzékeny a konformációs változásokra, a konformerek eloszlására. Minthogy a konformerek egymásba alakulása lassabban megy végbe a rezgési átmeneteknél, a spektrum minden egyes konformer hozzájárulásából tevődik össze. Ezzel szemben a hosszabb időskálájú NMR spektroszkópiai mérés esetében csak egy átlagos konformáció spektruma kapható meg. Az egyes konformerek populációja alapján súlyozva az azokra számolt spektrumokat a kísérletivel összevetve, a konformereloszlás meghatározható.

3.1.3. Szolvatáció vizsgálata

VCD és ROA spektroszkópia segítségével pontosan modellezni lehet a molekulák és azok környezetének kapcsolatát is. Nemcsak azt tudjuk eldönteni, hogy egy oldószermolekula koordinálódott-e a vizsgált molekulánk valamelyik csoportjához, illetve atomjához, ahogy arra a legtöbb molekulaszpektroszkópiai módszer esetén következtethetünk a rezgési sávok frekvenciája, alakja, valamint finomszerkezete alapján, hanem a közeg molekuláinak térállását is megjósolhatjuk. Egy szolvatált királis molekula esetében az akirális oldószermolekulák a vizsgált molekulához, illetve egymáshoz viszonyított térállásáról is kaphatunk információt, hiszen ilyenkor azok is optikai aktivitást mutathatnak, rezgéseik királisan perturbálttá válhatnak [12].

3.1.4. Biomolekulák térszerkezetének vizsgálata

A VOA módszerek, kiválóan alkalmasak peptidek, fehérjék, nukleinsavak, nukleinsav-fehérje komplexek, cukrok, oligoszacharidok, vírusok, valamint baktériumok vizsgálatára is. A nukleinsavak és fehérjék szerkezetéről elsősorban röntgenkristallográfiai és NMR mérések

alapján vannak ismereteink. A krisztallográfiához egykristály növesztése szükséges, ami nem minden esetben tehető meg. Az NMR mérések alkalmazhatóságának pedig a biomolekulák mérete szab határt. Az amid kromofór jelenléte miatt a peptidek és fehérjék térszerkezetének vizsgálata ECD spektroszkópiával is lehetséges, ám a VOA spektrumok ennél sokkal részletgazdagabb információt szolgáltatnak. A VOA, azon belül is elsősorban a ROA, módszerek nagy előnye, hogy a mérések vizes közegben, azaz a biomolekulák natív környezetében végezhetők. Peptidek és fehérjék vizes oldatának VOA vizsgálatához a spektrumok sávjainak kis intenzitása, és VCD esetén a víz infravörös elnyelése miatt igen tömény oldatokat kell készíteni, ami sokszor nem lehetséges a kis oldhatóság miatt. Egy másik nehézség az ilyen méréseknél a spektrumok értelmezése. Nagyobb biomolekulák esetén a precíz, magas szintű kvantumkémiai számítások (elektronkorrelációs módszerek) gyakorlatilag alkalmazhatatlanok. Egyes sávok alakjából, előjeléből azonban lehet következtetni szerkezeti paraméterekre, elsősorban szögekre, torziós szögekre, valamint a spektrumban a molekula szerkezetének módosítására bekövetkező változások alapján azokat empirikus úton értelmezni lehet. ROA esetén az oldhatóságbeli problémák kiküszöbölésére, és híg oldatok mérésére több alternatíva is kínálkozik, a Raman spektroszkópiában a sávok intenzitásnövelésére alkalmazott technikák analógiájára. Ilyen megoldás lehet a felület érzékenyített ROA [6, 13] (Surface Enhanced Raman Optical Activity, SEROA), mikor a vizsgált mintát elég nagyon kis koncentrációban hozzáadni egy általában ezüst nanorészecskéket tartalmazó diszperzióhoz. A molekulák adszorbeálódnak a nanorészecskék felületén, és így a plazmon-rezonancia miatt nagyságrendekkel intenzívebb sávok kaphatók. Több publikáció is megjelent már ezzel a módszerrel kapcsolatban, azonban az eddigi eredmények még nem teljesen elfogadottak. Másik lehetőség a rezonancia ROA [14, 15] (Resonance Raman Optical Activity, RROA), melynél a gerjesztő fény frekvenciáját egy elektrongerjesztésnek megfelelő frekvencia közelébe hangoljuk, így érve el nagyobb jelintenzitást, bár ennek technikai megvalósítása bonyolult. Az előző két speciális technikát természetesen kombinálni is lehet, ekkor SERROA-ról (Surface Enhanced Resonance Raman Optical Activity) beszélünk [14, 15].

3.2. Aminosavak és más erős oldószerkölcönhatást mutató molekulák vizsgálata VOA spektroszkópiával

Kiaknázva azok fent bemutatott előnyeit, a VOA módszereket gyakran használják kisebb biomolekulák, cukrok, peptidek, aminosavak vizsgálatára. Az ilyen tanulmányok legáltalánosabb célja a vizsgált molekulák konformereinek meghatározása mellett az oldószer

– többnyire víz vagy nehézvíz – a szerkezetre gyakorolt hatásának, és a solvatáció módjának vizsgálata. Számításokkal meghatározhatók a molekulák konformerei, és az azokra számított spektrumokat összehasonlítva a mért VOA spektrumokkal pontos képet kaphatunk azok pontosságáról, minthogy a kísérleti spektrumok az összes konformer hozzájárulásából tevődnek össze. A konformerek kereséséhez legtöbbször elég az implicit oldószermodell alkalmazása, azonban a frekvenciaszámításhoz, kiváltképp poláris csoportok rezgéseinek leírásához szükséges explicit oldószermolekulák figyelembevétele is. A hisztidin molekulát VCD és ROA módszerekkel is tanulmányozó publikációban [7] az aminosav hat konformerét külön vizsgálták, és öt különböző oldószermodellt is összehasonlítottak. Használtak implicit oldószermodelleket (COSMO és PCM), valamint a hisztidin 13 és 17 vízmolekulával alkotott klasztereit is tanulmányozták. Kipróbálták a módszerek kombinációit is. Eredményeik bemutatásakor hangsúlyozzák, hogy a solvatáció pontos leírása szempontjából kiemelkedően fontos a vízmolekulák explicit módon történő figyelembevétele. Az explicit vízmolekulák hatására több új sáv is megjelenik számított spektrumaikban, jelezve a csatolást az aminosav és a vízmolekulák rezgései közt. Továbbá nagymértékben megváltoznak a sávok relatív intenzitásai is. Az implicit oldószermodellek növelik a sávok intenzitását spektrumaikban, ami a vizes közeg okozta sáv kiszélesedésekre utal. Dolgozatom közvetlen előzményének tekinthető a ciszteinmolekula különböző konformereit és azok solvatációját vizsgáló publikáció [8], melyben Pecul és munkatársai ROA, valamint VCD mérések eredményeit mutatják be. Kísérleti eredményeik értelmezéséhez molekuladinamikai módszereket, és DFT számításokat használtak. A cisztein solvatációját a klasszikus molekuladinamikai számításoknál explicit módon vizsgálták, a DFT esetében pedig PCM modellt, és explicit vízmolekulákkal kombinált PCM modellt alkalmaztak. A kísérleti spektrumokkal való minél jobb egyezés érdekében alkalmaztak egy további módszert is, melyben az egyes szerkezetek spektrumait az alábbi funkcionál minimumának keresése alapján illesztetik a kísérleti spektrumhoz:

$$\Phi = \int_{\nu_1}^{\nu_2} \left[\Phi_{\text{exp}} - \sum_n (c_n \cdot \phi_n) \right]^4 d\nu \quad (1)$$

A funkcionál kifejezésében az integrációs határok a spektrumok hullámszámainak jelölik, melyet 600 és 1500 cm^{-1} -nek választottak, Φ_{exp} a kísérleti spektrum, ϕ_n az egyes szerkezetek számított spektrumai, a keresett c_n oefficiensek pedig az azoknak megfelelő mólfraekciók. Az

integrandusban szereplő kitevőt önkényesen választották négynek, hogy Φ értéke pozitív legyen, valamit hogy a gyenge sávok – melyekre a numerikus zaj nagyobb hatással van – hozzájárulását csökkentsék. Az illesztést a ROA spektrumok esetében végezték mindhárom alkalmazott oldószermodellnél, és a Raman, IR, valamint VCD spektrumokat használták a módszer eredményeinek ellenőrzésére. A módszer eredményei alapján arra a következtetésre jutottak, hogy az explicit vízmolekulákkal kombinált PCM oldószermodell a legjobb, mivel ott kapták a legjobb egyezést az illesztett elméleti és kísérleti spektrumok közt. Az oldószermodellek közti különbségtételben ez a módszer lehet célravezető, azonban a c_n együtthatók mólóhányadokkal való azonosításának fizikai alapja megkérdőjelezhető. Ennek csak abban az esetben lenne értelme, hogyha az egyes kísérleti és elméleti sávok frekvenciában teljesen megegyeznének, ezért én ezt a módszert nem alkalmazom. Ezen publikáció releváns eredményeit a 7. fejezetben még részletesen bemutatom. A leucin- és szerinmolekulák VCD spektroszkópiával történő vizsgálatát tárgyaló publikációkban [9–11] szintén az explicit vízmolekulákkal kombinált PCM modellt találták legalkalmasabbnak a solvatáció leírására. A leucin esetében 4, illetve 5 vízmolekulával, a szerin esetében 6 vízmolekulával (pontosabban D₂O-val) alkotott klasztereket tanulmányoztak. Mindkét aminosav esetében vizsgálták a protonált-, ikerionos-, és deprotonált formákat is. Az oldószer spektrális tulajdonságokra gyakorolt hatásai általában leírhatók az első solvatációs szféra explicit vizsgálatával [16]. A [9–11] publikációkban azt, hogy hány D₂O molekula található az aminosavak első hidratációs szférájában, azokkal hidrogénhidas kapcsolatban, MD szimulációkból nyert párkorrelációs függvények alapján határozták meg. A klaszterek kiindulási szerkezetét MD szimulációk pillanatfelvételei segítségével állították be, majd azokat a továbbiakban B3LYP/6-311++G(d,p) szinten vizsgálták. Jalkanen és munkatársai az alanin vizsgálatoknál a teljes első solvatációs szféra leírásához 20 vízmolekulát vettek figyelembe [17]. Több aminosav esetén is belátták [7–11], hogy csak implicit oldószermodell alkalmazása esetén az alacsonyabb energiájú konformerekben – melyeket még érdemes számításba venni – intramolekuláris hidrogénkötés alakul ki azok NH₃⁺- és COO⁻-csoportjuk közt vizes közegben. A [9–11] publikációk egyik eredménye, melyre még a későbbiekben is utalok, hogy explicit vízmolekulák számításba vételével ezek az intramolekuláris hidrogénkötések felszakadnak, illetve amennyiben nem, a kísérleti eredményekkel rossz egyezést mutatnak a számított spektrumok. Gonzalez-Outeiriño és munkatársai is hasonló eredményekre jutottak szénhidrátok esetében, melyeket NMR-rel és MD szimulációkkal vizsgáltak [18], akárcsak Kirschner és Woods tisztán elméleti eredményeket bemutató cikkükben [19].

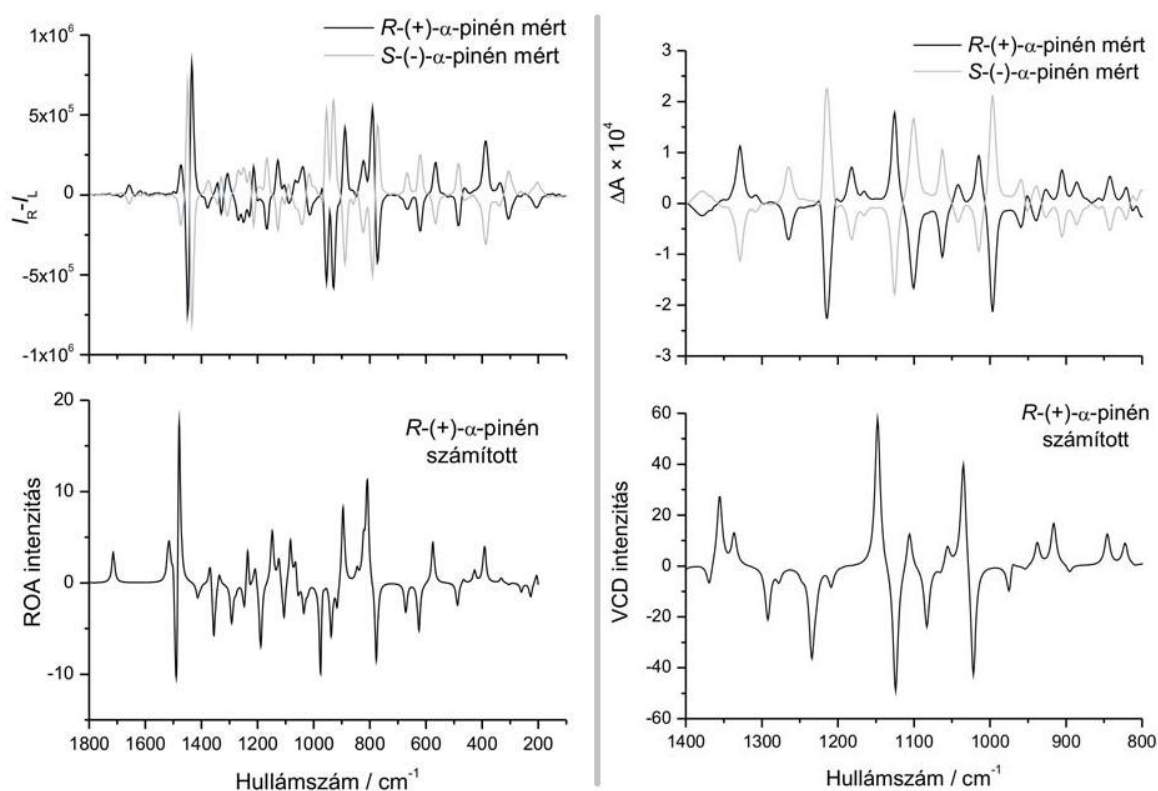
A vízmolekulákkal alkotott klaszterek szerkezetének meghatározásához gyakran használnak klasszikus molekuladinamikai- és Monte Carlo szimulációkat, valamint elterjedten alkalmazzák a Car-Parrinello molekuladinamikai (CPMD) számításokat is oldószerhatások, solvatáció leírására. Utóbbi módszert a VOA spektrumok értékeléséhez ritkán használják, azonban a [16] publikációban ezt találták a legalkalmasabbnak a tejsavamid, mint modellvegyület ROA spektrumának számítása esetében. Cheeseman és munkatársai elsőként alkalmazták ROA spektrumok értelmezéséhez a QM/MM módszert. Cikkükben [20] a metil- β -D-glükóz spektrumának számításához a vizes közeget klasszikus molekuladinamikai módszerrel, explicit módon vették figyelembe (TIP3P modell), míg a cukormolekulát B3LYP/6-31G(d) szinten, DFT módszerrel írták le. A kísérleti és számított spektrumaik közt kiváló egyezést értek el.

4. Elméleti áttekintés

4.1.1. A VCD és ROA spektrum ^[1]

Ahogy minden optikai aktivitáson alapuló spektroszkópai módszerről, a ROA és VCD technikákról is elmondható, hogy az enantiomerek spektruma egymás tökéletes tükörképei.

Ahogy fentebb már említettem, a kísérleti VOA spektrumok értelmezése szinte kizárólag elméleti számításokból kapott spektrumokkal való összehasonlítás alapján történik. Merev¹ molekulák esetén ez a feladat könnyű, hiszen csak a valamelyik enantimerre számolt spektrumot kell összehasonlítani a mért spektrummal, és többnyire egyértelműen meghatározható az abszolút konfiguráció. Ezt, és az enantiomerek spektrumának kapcsolatát szemlélteti az 1. ábra.



1. ábra. Az α -pinén két enantiomerének kísérleti ROA és VCD spektruma, valamint az *R* konfigurációjú molekulára számított spektrumok (B3LYP/aug-cc-pVTZ) [1]

¹ A VOA módszerek szokásos terminológiájában merev molekulák alatt az olyanokat értjük, melyeknek csak egy, illetve kevés konformerük létezik. A merev molekulákat ebben az értelemben nevezhetnénk precízebben félmerev molekuláknak, minthogy általánosságban a merev tulajdonság olyan modellek sajátja, melyek nem rezegnek (pl. merev rotátor).

Merev molekulákra a mért és számított spektrumok majdhogynem tökéletes egyezést mutatnak, ahogy ez az 1. ábrán is látható. Egyetlen probléma a nem megfelelő elméleti szinten történő számítás lehet, mely elsősorban ROA spektrumok esetében jelentkezhet.

Flexibilis molekulák esetén már az abszolút konfiguráció meghatározása sem rutinszerű feladat. Ebben az esetben a mért spektrummal való megfelelő egyezéshez konformációs analízist kell végezni. Minden konformerre ki kell számítani a ROA vagy VCD spektrumot, majd azokat a konformerek alapállapothoz tartozó szabadentalpiájuk alapján súlyozni kell. A konformereloszlás megállapításánál általában Boltzmann-eloszlást tételezünk fel a konformerek közt. Az oldatfázisú mérések esetén, fontos lehet a számításoknál oldószermodell alkalmazása, különösen mikor erős szolvatáció fellépésére számítunk. Amikor az oldószer és a vizsgált molekula között erősebb kölcsönhatás kialakulása várható, explicit oldószermodell alkalmazása is szükséges, hiszen a szolvatált molekulák geometriája ilyenkor jelentősen eltérhet a szabad molekulákétól, valamint rezgéseik az oldószermolekulák rezgéseivel csatolhatnak.

4.1.2. A Raman és ROA spektroszkópia elméleti áttekintése ^[1, 21–31]

A Raman szórás a fotonok molekuláról történő inelasztikus, rugalmatlan szórását² jelenti. A rezgési Raman effektus első közelítésben leírható a fény, mint elektromágneses sugárzás elektromos tere ($\mathbf{E}$), és a molekula polarizálhatóságának (α) kölcsönhatásaként. Klasszikusan ez felfogható úgy, hogy az időben változó β irányú elektromos tér hatására α irányú indukált dipólusmomentum jön létre. Az indukált dipólusmomentum a molekula polarizálhatósági tenzorának és az elektromos tér vektorának szorzatával fejezhető ki. A Raman-szórás intenzitása az indukált dipólusmomentum négyzetével arányos mennyiség. A molekula polarizálhatósága is időben változik ω_a frekvenciával a Q_a normálkoordináta mentén. Az eddig elmondottakat az alábbi kifejezésekkel írhatjuk le:

$$\omega_0 = 2\pi\nu_0 \quad (2)$$

$$\boldsymbol{\mu}_\alpha^l(t) = \boldsymbol{\alpha}_{\alpha\beta}(t)\mathbf{E}_\beta^{(0)}(t) \quad (3)$$

$$\mathbf{E}_\beta^{(0)}(t) = E_{\beta,0}^{(0)}\cos\omega_0 t \quad (4)$$

$$\alpha_{\alpha\beta}(t) = \alpha_{\alpha\beta,0} + \left(\frac{\partial\alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_a}\right)_{Q_a=0} Q_a\cos\omega_a t \quad (5)$$

² A rugalmatlan szórás ebben az értelemben azt jelenti, hogy a gerjesztő foton és a Raman-szórt foton energiája nem megegyező, vagyis nem a rugalmatlan szórás szoros értelemben vett fizikai jelenségéről van szó, mikor az energiamegmaradás nem írható fel a kinetikus energiákra. Nincs energiadisszipáció.

$$\begin{aligned}
\boldsymbol{\mu}_\alpha^I(t) &= \alpha_{\alpha\beta,0} E_{\beta,0}^{(0)} \cos(\omega_0 t) \\
&+ \left(\frac{\partial \alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_a} \right)_0 Q_a E_{\beta,0}^{(0)} \cos(\omega_0 t) \cos(\omega_a t) = \\
&= \alpha_{\alpha\beta,0} E_{\beta,0}^{(0)} \cos(\omega_0 t) \\
&+ \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_a} \right)_0 Q_a E_{\beta,0}^{(0)} \cos[(\omega_0 - \omega_a)t] \\
&+ \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha_{\alpha\beta}}{\partial Q_a} \right)_0 Q_a E_{\beta,0}^{(0)} \cos[(\omega_0 + \omega_a)t] \tag{6}
\end{aligned}$$

$$I(\omega_0, \omega_s) = \frac{1}{32\pi^2 \varepsilon_0 c^3} \omega_s^4 (\mu_{\alpha,0}^I)^2 \sin^2 \theta \tag{7}$$

A fenti egyenletekben ν_0 a gerjesztő fény frekvenciája, $\boldsymbol{\mu}_\alpha^I$ az α irányú indukált dipólusmomentum, melynek amplitúdója $\mu_{\alpha,0}^I$, $\alpha_{\alpha\beta}$ a polarizálhatósági tenzor, $\mathbf{E}_\beta^{(0)}$ a gerjesztő fény elektromos komponense, amplitúdója $E_{\beta,0}^{(0)}$, t az idő, $I(\omega_0, \omega_s)$ az $\frac{\omega_s}{2\pi}$ frekvenciájú szórt fény intenzitása ε_0 a vákuum permittivitása, c a fénysebesség, θ pedig a szórási szög.

A (6) egyenlet második egyenlőségét követő összeg első tagja a Rayleigh-szórás adja meg, mikor a gerjesztő- és szórt fény frekvenciája megegyezik. A második és harmadik tag a Stokes, illetve az anti-Stokes szórásra vonatkozik. A Stokes vonalak a gerjesztő fény frekvenciájánál alacsonyabb, az anti-Stokes vonalak pedig annál magasabb frekvencián jelentkeznek.

A Raman-szórás általános, nem korlátozott kvantummechanikai leírásában (General Unrestricted (GU) Theory) a szórt fény intenzitása az alábbi módon adható meg:

$$I(\tilde{e}^s, \tilde{e}^i) = 90K \langle |\tilde{e}_\alpha^{s*} \tilde{\alpha}_{\alpha\beta} \tilde{e}_\beta^i| \rangle \tag{8}$$

$$K = \frac{1}{90} \left(\frac{\omega_s^2 \mu_0 \tilde{E}^0}{4\pi R} \right)^2 \tag{9}$$

A (8) és (9) egyenletekben a hullámos felülvonás a komplex mennyiségeket jelzi. $\tilde{e}^i$ és $\tilde{e}^s$ a gerjesztő, illetve szórt fény egységnyi hosszúságú polarizáció vektorai. A (8) egyenletben érvényes az Einstein-konvenció, vagyis a szorzatban az azonos indexek esetén összegzünk. A K konstansban ω_s a szórt fény frekvenciája, $\tilde{E}^0$ a gerjesztő elektromos tér komplex amplitúdója, μ_0 a vákuum mágneses permeabilitása, R pedig a Raman-szórás okozó molekula

és a detektor távolsága. A molekula átmeneti polarizálhatósága az n és m állapotok közötti átmenetre vonatkozóan az alábbi módon adható meg:

$$(\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_{j \neq m,n} \left[\frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_\alpha | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_\beta | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jn} - \omega_0 - i\Gamma_j} + \frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_\beta | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_\alpha | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jm} + \omega_0 + i\Gamma_j} \right] \quad (10)$$

Az időfüggő perturbációelméletből kapható utóbbi képletben³ $\omega_{jn} = \omega_j - \omega_n$, ami a kiindulási n állapot és a köztes j állapot (virtuális gerjesztett állapot) energiakülönbségét jelöli ($E = \hbar\omega$). $i\Gamma_j$ a komplex csillapítási paraméter, mely fordítottan arányos a j állapot élettartamával. A (10) egyenletben a $\hat{\mu}_\beta$ operátorral képzett mátrixelemek a molekula és a β irányú beeső sugárzás kölcsönhatására vonatkoznak, a $\hat{\mu}_\alpha$ operátorral képzett mátrixelemek pedig a szórt fénnyel való kölcsönhatást írják le.

Ha a hullámfüggvényeket szétválasztjuk rezgési és elektronikus tagokra, a Raman-szórás úgynevezett vibronikus elméletéhez jutunk.

$$|\tilde{\Psi}_j(\mathbf{r}, \mathbf{R})\rangle = |\Psi_{ev}^a(\mathbf{r}, \mathbf{R})\rangle = |\psi_e^a(\mathbf{r}, \mathbf{R})\phi_{ev}(\mathbf{R})\rangle = |e\rangle|\phi_{ev}\rangle \quad (11)$$

Ezzel a jelöléssel az átmeneti polarizálhatóság a $g0$ és $g1$ rezgési szintek közt, az egyensúlyi elektronállapotban, az a normálrezgésre a következőképpen írható:

$$(\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a = \frac{1}{\hbar} \sum_{ev} \left[\frac{\langle \phi_{g1}^a | \langle g | \hat{\mu}_\alpha | e \rangle | \phi_{ev} \rangle \langle \phi_{ev} | \langle e | \hat{\mu}_\beta | g \rangle | \phi_{g0}^a \rangle}{\omega_{ev,g0} - \omega_0 - i\Gamma_{ev}} + \frac{\langle \phi_{g1}^a | \langle g | \hat{\mu}_\beta | e \rangle | \phi_{ev} \rangle \langle \phi_{ev} | \langle e | \hat{\mu}_\alpha | g \rangle | \phi_{g0}^a \rangle}{\omega_{ev,g1} + \omega_0 + i\Gamma_{ev}} \right] \quad (12)$$

Az elektronikus hullámfüggvény magmozgásoktól való függésének figyelembevételére az a normálkoordináták szerint sorbafejthető, mely sorfejtést a fenti kifejezésbe behelyettesítve, az

³ A hullámfüggvények időfüggésük miatt komplexek, és így nyilvánvalóan az azokkal képzett (átmeneti) mennyiségek is azok lesznek. A továbbiakban az egyszerűbb jelölés érdekében a hullámos felülvonást nem minden esetben tüntetem fel.

további tagokra bontható. (A Raman spektroszkópia szokásos közelítéseiben a részletesebb kifejezés bizonyos tagjait hanyagolják el, melyeket a továbbiakban nem tárgyalok.)

A Raman polarizálhatósági tenzor elemei függenek a molekula orientációjától amennyiben azt egy rögzített koordináta-rendszerben vizsgáljuk. Lehetségesek a tenzorelemeknek olyan lineárkombinációi, melyek invariánsak a molekula rögzített koordináta-rendszerbeli orientációjának megváltozására. Az ilyen koordináta-rendszer független kombinációkat hívjuk Raman invariánsoknak vagy Raman paramétereknek. Ezek a Raman paraméterek a következő kifejezésekkel adhatók meg:⁴

$$\alpha^2 = \frac{1}{9} \text{Re}[(\tilde{\alpha}_{\alpha\alpha})^S (\tilde{\alpha}_{\beta\beta})^{S*}] \quad (13)$$

$$\beta_S(\tilde{\alpha})^2 = \frac{1}{2} \text{Re}[3(\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})^S (\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})^{S*} - (\tilde{\alpha}_{\alpha\alpha})^S (\tilde{\alpha}_{\beta\beta})^{S*}] \quad (14)$$

$$\beta_A(\tilde{\alpha})^2 = \frac{1}{2} \text{Re}[3(\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})^A (\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})^{A*}] \quad (15)$$

A fenti paraméterek közül α^2 -et izotróp-, a $\beta_S(\tilde{\alpha})^2$ és $\beta_A(\tilde{\alpha})^2$ paramétereket pedig a tenzorelemek kombinációjára vonatkozóan szimmetrikus, illetve antiszimmetrikus anizotróp invariánsoknak hívják. A tenzorelemek szimmetrikus, illetve antiszimmetrikus kombinációja alatt az alábbi kifejezések értendők:

$$(\tilde{T}_{\alpha\beta})^S = \frac{1}{2} [(\tilde{T}_{\alpha\beta}) + (\tilde{T}_{\beta\alpha})] \quad (16)$$

$$(\tilde{T}_{\alpha\beta})^A = \frac{1}{2} [(\tilde{T}_{\alpha\beta}) - (\tilde{T}_{\beta\alpha})] \quad (17)$$

Raman mérések során akár az gázfázisban vagy oldat-, illetve folyadékfázisban történik, a molekulák statisztikus orientációja következtében a polarizálhatósági tenzor minden eleme kiátlagolódik, egyedül a Raman paraméterek nem. A Raman mérések eredményiben tehát csak ezek az invariánsok jelennek meg.

A ROA spektroszkópia elméleti leírásában a polarizálhatósági tenzor helyett az úgynevezett általános szórási tenzor $(\tilde{\alpha}_{\alpha\beta})$ használatos. A szórt fény intenzitása a (8) egyenlethez hasonlóan, a következőképpen írható:

$$I(\tilde{e}^s, \tilde{e}^i) = 90K \langle |\tilde{e}_\alpha^{s*} \tilde{\alpha}_{\alpha\beta} \tilde{e}_\beta^i| \rangle \quad (18)$$

⁴ A paraméterek kifejezéseiben minden esetben feltüntettem Re, illetve Im operátorokat irodalmi jelölést megtartva, valamint a könnyebb áttekinthetőség érdekében. Még akkor is, mikor ez nem volna indokolt, hiszen több paraméter kifejezésében is szerepel egy komplex szám és konjugáltjának szorzata, mely tisztán reális.

A szórási tenzor legnagyobb tagja a polarizálhatósági tenzor, azonban további négy optikai aktivitás tenzor figyelembevétele is szükséges, melyek a királis információt tartalmazzák.

$$\tilde{\alpha}_{\alpha\beta} = \tilde{\alpha}_{\alpha\beta} + \frac{1}{c} \left[\varepsilon_{\gamma\delta\beta} n_{\delta}^i \tilde{G}_{\alpha\gamma} + \varepsilon_{\gamma\delta\alpha} n_{\delta}^s \tilde{\mathcal{G}}_{\gamma\beta} + \frac{i}{3} (\omega_0 n_{\gamma}^i \tilde{A}_{\alpha,\gamma\beta} - \omega_s n_{\gamma}^s \tilde{\mathcal{A}}_{\beta,\gamma\alpha}) \right] \quad (19)$$

A (19) egyenletben ε a Levi-Civita szimbólum, az n^i és n^s a beeső, illetve szórt fény terjedési irányát megadó vektorok. A szögletes zárójelben szereplő tenzorok a ROA tenzorok. Első kettő a mágneses dipól-elektromos dipól tenzor, míg a második kettő az elektromos kvadrupól-elektromos dipól tenzor. Ezen tenzorok abban különböznek a polarizálhatósági tenzortól, hogy az elektromos dipólusmomentum operátor helyett a mágneses dipólusmomentum operátor, $\hat{m}_{\alpha}$ és az elektromos kvadrupólusmomentum operátor, $\hat{\theta}_{\alpha\beta}$ szerepel azok kifejezéseiben.

$$(\tilde{G}_{\alpha\beta})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_{j \neq m,n} \left[\frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{m}_{\beta} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jn} - \omega_0 - i\Gamma_j} + \frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{m}_{\beta} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jm} + \omega_0 + i\Gamma_j} \right] \quad (20)$$

$$(\tilde{\mathcal{G}}_{\alpha\beta})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_{j \neq m,n} \left[\frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{m}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_{\beta} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jn} - \omega_0 - i\Gamma_j} + \frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_{\beta} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{m}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jm} + \omega_0 + i\Gamma_j} \right] \quad (21)$$

$$(\tilde{A}_{\alpha\beta})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_{j \neq m,n} \left[\frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\theta}_{\beta\gamma} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jn} - \omega_0 - i\Gamma_j} + \frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\theta}_{\beta\gamma} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jm} + \omega_0 + i\Gamma_j} \right] \quad (22)$$

$$(\tilde{\mathcal{A}}_{\alpha\beta})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_{j \neq m,n} \left[\frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\theta}_{\beta\gamma} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jn} - \omega_0 - i\Gamma_j} + \frac{\langle \tilde{\Psi}_m | \hat{\mu}_{\alpha} | \tilde{\Psi}_j \rangle \langle \tilde{\Psi}_j | \hat{\theta}_{\beta\gamma} | \tilde{\Psi}_n \rangle}{\omega_{jm} + \omega_0 + i\Gamma_j} \right] \quad (23)$$

A fenti tenzorokkal, illetve az azokból képzett ROA paraméterekkel leírható a ROA minden formája. A ROA GU elméleti leírásához a fenti tenzorokból az összes képezhető, azaz tíz invariáns paraméter szükséges. Az összes ROA paraméter felsorolásától itt eltekintek, és csak azokat írom le, melyek a rezonanciától távoli (Far From Resonance, FFR) közelítésben szükségesek, mivel a ROA spektroszkópia szokásos gyakorlatában a gerjesztő fény frekvenciája távol esik az összes elektrongerjesztés frekvenciájától. Ebben a közelítésben a tíz ROA paraméterből mindössze három marad, és a Raman paraméterek száma is kettőre redukálódik, mivel a polarizálhatósági tenzor szimmetrikussá válik. Az FFR közelítésben alkalmazott tenzorok és paraméterek a következőképp írhatók a vibronikus elmélet keretein belül:

$$\alpha_{\alpha\beta} = \frac{2}{\hbar} \sum_{e \neq g} \frac{\omega_{eg}^0}{(\omega_{eg}^0)^2 - \omega_0^2} \text{Re}[\langle g | \hat{\mu}_{\alpha} | e \rangle \langle e | \hat{\mu}_{\beta} | g \rangle] \quad (24)$$

$$G'_{\alpha\beta} = -\frac{2}{\hbar} \sum_{e \neq g} \frac{\omega_{eg}^0}{(\omega_{eg}^0)^2 - \omega_0^2} \text{Im}[\langle g | \hat{\mu}_\alpha | e \rangle \langle e | \hat{m}_\beta | g \rangle] \quad (25)$$

$$A_{\alpha,\beta\gamma} = \frac{2}{\hbar} \sum_{e \neq g} \frac{\omega_{eg}^0}{(\omega_{eg}^0)^2 - \omega_0^2} \text{Re}[\langle g | \hat{\mu}_\alpha | e \rangle \langle e | \hat{\theta}_{\beta\gamma} | g \rangle] \quad (26)$$

$$[\alpha^2]_{g1,g0}^a = \frac{1}{9} (\alpha_{\alpha\alpha})_{g1,g0}^a (\alpha_{\beta\beta})_{g1,g0}^a \quad (27)$$

$$[\beta(\alpha)^2]_{g1,g0}^a = \frac{1}{2} \left(3(\alpha_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a (\alpha_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a - (\alpha_{\alpha\alpha})_{g1,g0}^a (\alpha_{\beta\beta})_{g1,g0}^a \right) \quad (28)$$

$$[\alpha G']_{g1,g0}^a = \frac{1}{9} (\alpha_{\alpha\alpha})_{g1,g0}^a (G'_{\beta\beta})_{g1,g0}^a \quad (29)$$

$$[\beta(G')^2]_{g1,g0}^a = \frac{1}{2} \left[3(\alpha_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a (G'_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a - (\alpha_{\alpha\alpha})_{g1,g0}^a (G'_{\beta\beta})_{g1,g0}^a \right] \quad (30)$$

$$[\beta(A)^2]_{g1,g0}^a = \frac{1}{2} \omega_0 (\alpha_{\alpha\beta})_{g1,g0}^a \varepsilon_{\alpha\gamma\delta} (A_{\gamma,\delta\beta})_{g1,g0}^a \quad (31)$$

A ROA GU elméleti leírásából kapható tíz paraméterrel megadhatók a ROA minden megvalósítási formája esetén a ROA és Raman intenzitások. A ROA egyes megvalósítási formáit az 5. fejezetben tárgyalom. Az FFR közelítésben azonban az ICP-, SCP-, illetve DCP_I ROA spektrumok közti különbségek eltűnnek, az ICP és SCP technikák esetén pedig, még a Raman spektrumok is megegyeznek. Az alább látható két példa az intenzitások szórási geometriától való függését szemlélteti.

$$\text{ICP}_U(180^\circ): \quad I_U^R(180^\circ) - I_U^L(180^\circ) = \frac{8K}{c} \{ 12[\beta(G')^2]_{g1,g0}^a + 4[\beta(A)^2]_{g1,g0}^a \} \quad (32)$$

$$I_U^R(180^\circ) + I_U^L(180^\circ) = 4K \{ 45[\alpha^2]_{g1,g0}^a + 7[\beta(\alpha)^2]_{g1,g0}^a \} \quad (33)$$

$$\text{ICP}_U(0^\circ): \quad I_U^R(0^\circ) - I_U^L(0^\circ) = \frac{8K}{c} \{ 90[\alpha G']_{g1,g0}^a + 2[\beta(G')^2]_{g1,g0}^a - 2[\beta(A)^2]_{g1,g0}^a \} \quad (34)$$

$$I_U^R(0^\circ) + I_U^L(0^\circ) = 4K \{ 45[\alpha^2]_{g1,g0}^a + 7[\beta(\alpha)^2]_{g1,g0}^a \} \quad (35)$$

Az 'U' alsó indexek a szórt fény polarizátlanságára vonatkoznak, a felső indexekben szereplő 'R' a jobbra, 'L' pedig a balra cirkulárisan polarizált gerjesztő fényt jelöli.

A ROA spektrumok számítása általában meglehetősen nagy számítógépes kapacitást igényel, és az egyes sávok pontos intenzitásarányainak elérésére gyakran csak magasabb szintű kvantumkémiai módszerek alkalmasak. ROA spektrumok számítására lehetőséget nyújt a Gaussian programcsomag [26] HF és DFT szinten, a DALTON program [27] HF, DFT és MCSCF módszerekkel, a PSI4 kód [28] pedig már precízebb, coupled-cluster módszerrel is,

míg az ADF programcsomaggal [29] DFT szinten, rezonancia közelében is számíthatunk ROA spektrumokat.

Léteznek olyan rezgési módusok, melyek ROA sávjainak előjele rendkívül érzékeny a számítási paraméterekre, valamint a kísérleti körülményekre. Az ilyen sávokat nemrobosztus sávoknak nevezzük, bár szemben a VCD-vel [30,31], ROA esetén robosztussági kritérium egyelőre nincs.

4.2.A sűrűségfukcionál-elméletek alapjai ^[32–33]

A sűrűségfukcionál-elmélet (Density Functional Theory, DFT) alapját Hohenberg és Kohn által kidolgozott két tétel adja.

Az elektronűrűség a tér egy kiszemelt pontjában ($\mathbf{r}_1$) definíció szerint megadható egy N elektront tartalmazó rendszerre felírt Schrödinger-egyenlet megoldásából kapott hullámfüggvény négyzetének $N-1$ elektron térbeli- és az összes spinkoordináta szerinti integráljával, az alábbi módon:

$$(\mathbf{r}_1) = N \int \dots \int |\Psi(\mathbf{r}_1 s_1, \mathbf{r}_2 s_2 \dots, \mathbf{r}_N s_N)|^2 ds_1 d\mathbf{r}_2 ds_2 \dots d\mathbf{r}_N ds_N \quad (36)$$

A (36) integrál tehát megadja annak a valószínűségét, hogy $\mathbf{r}_1$ pont $d\mathbf{r}_1$ környezetében elektront találunk, ami igazából megtalálási valószínűséget jelent, de ezt nevezzük elektronsűrűségnek is.

A fenti N elektrontól és M atommagból álló rendszer Hamilton operátora az alábbi módon adható meg atomi egység-rendszerben.

$$\mathbf{H}_e = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{r}_i|} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} + \sum_{A=1}^M \sum_{A>B}^M \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{R}_B|} \quad (37)$$

A Hamilton operátor negyedik, mag-mag taszítási tagja a Born-Oppenheimer közelítés értelmében mindig konstans, az első, kinetikus és harmadik, elektron-elektron taszítási tag pedig nem függ az atommagok helyzetétől, csak az elektronok számától, azaz rendszerfüggetlen, univerzális.

Hohenberg és Kohn első tétele kimondja, hogy a $\mathbf{V}_{me}$ potenciált (második, mag-elektron kölcsönhatási tag) egy additív állandótól eltekintve egyértelműen meghatározza az

elektronsűrűség, vagyis V_{me} és ρ közt egyértelmű megfeleltetés áll fenn. Ebből következik, és könnyen belátható, hogy két különböző rendszernek nem lehet azonos az elektronsűrűsége.

Hohenberg és Kohn második tétele értelmében pedig egy fizikailag értelmes próbasűrűsége, vagyis amire teljesül, hogy $\int \rho'(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N$, és $\rho'(\mathbf{r}) \geq 0$ érvényes a következő összefüggés: $E_0[\rho'] \geq E_0[\rho]$, ahol az egyenlőség csak egzakt elektronsűrűség esetén teljesül, vagyis az alapállapothoz tartozó energia variációsan megkapható.

Az energiafunkcionál kifejezését a hullámfüggvény-módszerek analógiájára felbonthatjuk kinetikus-, $T[\rho]$, mag-elektron vonzási-, $E_{\text{me}}[\rho]$ és elektron-elektron taszítási tagra, $E_{\text{ee}}[\rho]$, utóbbit pedig Coulomb-, $J[\rho]$ és kicserélődési kölcsönhatásra, $K[\rho]$. $E_{\text{me}}[\rho]$ és $J[\rho]$ az alábbi klasszikus kifejezésekkel megadhatók.

$$E_{\text{me}}[\rho] = \sum_A \int \frac{Z_A \rho(\mathbf{r})}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{r}|} d\mathbf{r} \quad (38)$$

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \quad (39)$$

A kinetikus energia és a kicserélődési kölcsönhatás kifejezése már nem ilyen egyértelmű, ezért ezeket először egy modellrendszerre, az egyenletes eloszlású elektrongázra oldották meg.

$$T_{\text{TF}}[\rho] = C_F \int \rho^{5/3}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (40)$$

$$K[\rho] = -C_x \int \rho^{4/3}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (41)$$

$$C_F = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{2/3} \quad (42)$$

$$C_x = \frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \quad (43)$$

Amennyiben az energiafunkcionált az $E_{\text{TF}}[\rho] = T_{\text{TF}}[\rho] + E_{\text{me}}[\rho] + J[\rho]$ alakban írjuk, Thomas-Fermi elméletről beszélünk, míg ha a kicserélődési kölcsönhatást is bele vesszük, az energiafunkcionált az $E_{\text{TFD}}[\rho] = E_{\text{TF}}[\rho] + K[\rho]$ alakban adhatjuk meg, és ezt Thomas-Fermi-Dirac modellnek nevezzük.

A Thomas-Fermi, illetve a Thomas-Fermi-Dirac modellek valós rendszerek leírására nem igazán alkalmasak. Ezek alapján meghatározott teljes energiák mintegy 15–50%-ban eltérnek a valós értéktől, ám a modell legnagyobb hibája, hogy nem ad kötéseket, így például molekulákra nem alkalmazható.

A DFT módszerek alkalmazhatóságát a Kohn és Sham által kidolgozott elmélet teszi lehetővé. A Kohn–Sham közelítés alapgondolata, hogy szétválasztják a kinetikus energiát két részre, melyből az egyik pontosan meghatározható, és csak a kisebbik részt kell közelíteni. A nagyobbik, pontosan meghatározható rész ($T_s[\rho]$) a nem kölcsönható elektronokra vonatkozik,

mely esetben a Schrödinger-egyenlet egzakt megoldását adja a molekulapályákból (ϕ_i) felépített Slater-determináns. A kisebbik részt egy kicserélődési-korrelációs tagban ($E_{xc}[\rho]$, exchange-correlation) vesszük figyelembe. Ezek alapján az energiafunkcionál a következő alakban írható:

$$E_{\text{DFT}}[\rho] = T_S[\rho] + E_{\text{me}}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (44)$$

A (44) egyenlet alapján $E_{xc}[\rho]$ felírható, mint

$$E_{xc}[\rho] = (T[\rho] - T_S[\rho]) + (E_{ee}[\rho] - J[\rho]) \quad (45)$$

A kicserélődési-korrelációs energiafunkcionál (45) egyenlet szerinti kifejezésének első zárójelében a kinetikus korrelációs járulék, míg a másodikban a kicserélődési- és potenciális korrelációs energia található.

A DFT módszerek legnagyobb előnye a hullámfüggvény módszerekkel szemben, hogy a rendszer hullámfüggvénye N elektron esetén $4N$ változótól függ, míg az elektronsűrűség mindig csak három térbeli koordinátától, ami a rendszer méretének növelése esetén jelentős eltéréshez vezet a számítások költségének tekintetében. A kinetikus energia értékének kellő pontossággal való kiszámításához azonban újra pályákat kell bevezetni, melyek meghatározása a Hartree-Fock módszerhez hasonlóan csak iteratív módon lehetséges, minthogy $J[\rho]$ (és $E_{xc}[\rho]$) függnek a teljes elektronsűrűségtől. A pályák ortogonalitását a Lagrange-multiplikátorok módszerével érhetjük el. Ha az energiafunkcionál stacionaritását a pályák szerint követeljük meg, egyelektron egyenletekhez jutunk, melyek a Kohn-Sham (egyelektron) operátor ($\mathbf{h}_{\text{KS}}$) sajátérték-egyenletei.

$$\mathbf{h}_{\text{KS}} = -\frac{1}{2}\nabla^2 + \mathbf{v}_{\text{me}}(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + \mathbf{v}_{\text{xc}}(\mathbf{r}) \quad (46)$$

$$\mathbf{v}_{\text{xc}}(\mathbf{r}) = \frac{\partial E_{\text{xc}}[\rho(\mathbf{r})]}{\partial \rho(\mathbf{r})} = \varepsilon_{\text{xc}}[\rho(\mathbf{r})] + \rho(\mathbf{r}) \frac{\partial \varepsilon_{\text{xc}}[\rho(\mathbf{r})]}{\partial \rho(\mathbf{r})} \quad (47)$$

$$\mathbf{h}_{\text{KS}}\varphi_i = \varepsilon_i\varphi_i \quad (48)$$

A Kohn-Sham pályákat (φ_i) numerikus módszerekkel határozhatjuk meg, illetve választott bázisfüggvényeken fejthetjük sorba.

A DFT módszerek közti különbség abban áll, hogy milyen funkcionált alkalmaznak a kicserélődési-korrelációs energia leírására. A funkcionálok alakját minden esetben úgy határozzák meg, hogy azok egy adott közelítésen belül legyenek jól használhatók (pl.

egyenletes eloszlású elektrongáz modell), és paramétereit empirikusan illesztik kísérleti adatok, illetve magasabb szintű ab initio számítások eredményei alapján.

A funkcionálok meghatározásánál szokásos az E_{xc} energiafunkcionál felbontása egy tisztán kicserélődési, E_x és egy korrelációs E_c tagra, habár ezen szeparáció érvényessége vitatott.

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_x[\rho(\mathbf{r})] d\mathbf{r} + \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_c[\rho(\mathbf{r})] d\mathbf{r}, \quad (49)$$

ahol $\varepsilon_x[\rho(\mathbf{r})]$ és $\varepsilon_c[\rho(\mathbf{r})]$ az egy részecskére jutó energia (energia sűrűség).

Az egyik nevezetes közelítés a funkcionálok meghatározásánál a lokális sűrűség közelítés (Local Density Approximation, LDA), melynek lényege, hogy a lokális sűrűséget úgy kezeljük, mintha egyenletes eloszlású elektrongázzal lenne dolgunk, ami lényegében azt jelenti, hogy az elektronsűrűség lassan változó függvény. A kicserélődési energia ebben az esetben megadható a Dirac-formulával.

$$E_x^{LDA}[\rho] = -C_x \int \rho^{4/3}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (50)$$

$$\varepsilon_x^{LDA}[\rho] = -C_x \rho^{1/3} \quad (51)$$

A teljes sűrűség az α és β spinű elektronok sűrűségének összege, azaz $\rho = \rho_\alpha + \rho_\beta$. Természetesen zárt héjú rendszer esetén $\rho_\alpha = \rho_\beta$. Az LDA-nál elterjedtebb LSDA (Local Spin Density Approximation) közelítés lényegileg annyiban tér el az LDA-tól, hogy megkülönböztetjük ρ_α és ρ_β sűrűségeket, és mindkettőt külön-külön emeljük 4/3-ik hatványra.

$$E_x^{LSDA}[\rho] = -2^{1/3} C_x \int \left[\rho_\alpha^{4/3}(\mathbf{r}) + \rho_\beta^{4/3}(\mathbf{r}) \right] d\mathbf{r} \quad (52)$$

$$\varepsilon_x^{LSDA}[\rho] = -2^{1/3} C_x \left[\rho_\alpha^{1/3}(\mathbf{r}) + \rho_\beta^{1/3}(\mathbf{r}) \right] \quad (53)$$

Slater ún. X_α módszere lényegében egy LDA módszer, amiben a korrelációs energiát nem veszi figyelembe, a kicserélődési energiát pedig az alábbi módon adja meg.

$$\varepsilon_x^{X_\alpha}[\rho] = -\frac{3}{2} \alpha C_x \rho^{1/3} \quad (54)$$

Ha $\alpha = 2/3$ pontosan Dirac kifejezését kapjuk vissza. Az eredeti X_α -módszerben $\alpha = 1$ volt, azonban a legjobb egyezés $\alpha = 3/4$ mellett kapható atomi és molekuláris rendszerekre.

Az egyenletes eloszlású elektrongáz korrelációs energiáját Monte Carlo módszerrel határozták meg számos elektronsűrűsége. Ahhoz, hogy ezeket az eredményeket DFT módszerekben fel lehessen használni, találni kellett egy analitikus interpolációs formulát, amivel megkaphatók

az egyes sűrűségekhez tartozó energiák. Ennek a funkcionálnak a kidolgozása Vosko, Wilk és Nusair (VWN) nevéhez fűződik.

Az LSDA módszer továbbfejlesztéséhez a nem egyenletes eloszlású elektrongáz leírásával kell próbálkoznunk. Ekkor a kicserélődési- és a korrelációs energia leírásához már nem csak a lokális elektronsűrűséget, hanem annak gradiensét is figyelembe kell venni. Ezt nevezzük általánosított gradiens közelítésnek (GGA, Generalized Gradient Approximation), ahol az általánosított jelző arra vonatkozik, hogy nem elég a sűrűséget egyszerűen Taylor-sorba fejteni, hanem egyéb kisebb korrekciókat is figyelembe kell venni. Pedrew és Wang az alábbi látható módon fejlesztette tovább az LDA módszert.

$$\varepsilon_x^{\text{PW86}} = \varepsilon_x^{\text{LDA}}(1 + ax^2 + bx^4 + cx^6)^{1/15} \quad (55)$$

$$x = \frac{|\nabla\rho|}{\rho^{4/3}} \quad (56)$$

A fenti funkcionálban x egy dimenziómentes gradiens változó, a , b és c pedig paraméterek. Becke az alábbi korrekciót javasolta, mely csupán egyetlen illesztendő paramétert tartalmaz, és jól visszaadja az energiasűrűség $-1/r$ -es aszimptotikus viselkedését.

$$\varepsilon_x^{\text{B88}} = \varepsilon_x^{\text{LDA}} + \Delta\varepsilon_x^{\text{B88}} = \varepsilon_x^{\text{LDA}} - \beta\rho^{1/3} \frac{x^2}{1 + 6\beta x \sinh^{-1}x} \quad (57)$$

Az egyik legelterjedtebb gradiens korrigált funkcionál a korrelációs energia leírására a Lee, Yang és Parr nevéhez köthető LYP funkcionál, melynek négy paraméterét a He atomhoz illesztették.

A kicserélődési-korrelációs energia ($E_{xc}[\rho]$) pontos leírásához hibrid funkcionálokot kell alkalmazni, melyek alapja az úgynevezett Adiabatic Connection Formula (ACF), melyhez az alábbi integrál és a λ változó bevezetése szükséges:

$$E_{xc} = \int_0^1 \langle \Psi_\lambda | \mathbf{V}_{xc}(\lambda) | \Psi_\lambda \rangle d\lambda \quad (58)$$

A fenti kifejezésben λ az elektronok kölcsönhatásának mértékét adja meg, azaz $\lambda = 0$ határesetben az elektronok nem hatnak kölcsön, így a korrelációs energia is zérus, csak kicserélődési energia van. Valós rendszer esetén $\lambda = 1$. Abban a legegyszerűbb közelítésben, mikor $\mathbf{V}_{xc}$ lineárisan függ λ -tól, az integrál értéke a két végpontban kapott érték átlaga lesz.

$$E_{xc} \cong \frac{1}{2} \langle \Psi_0 | \mathbf{V}_{xc}(0) | \Psi_0 \rangle + \frac{1}{2} \langle \Psi_1 | \mathbf{V}_{xc}(1) | \Psi_1 \rangle \quad (59)$$

A $\lambda = 0$ határesetben az egzakt hullámfüggvény megadható a Kohn-Sahm pályákból felépített Slater determináns alakjában, és a kicserélődési energia pontosan megkapható a

Hartree-Fock (HF) módszerrel. Amennyiben a fenti összeg második tagját LSDA-val közelítjük, az úgynevezett Half and Half (H+H) módszerhez jutunk.

$$E_{xc}^{H+H} = \frac{1}{2}E_x^{HF} + \frac{1}{2}(E_x^{LSDA} + E_c^{VWN}) \quad (60)$$

Azt, hogy a kicserélődési-korrelációs funkcionált felbontjuk tisztán kicserélődési és korrelációs tagokra, majd a kicserélődést kiszámítjuk HF módszerrel, és csak a korrelációs tagot számítjuk DFT-vel, azért nem tehetjük meg, mert a két elméletben nem ugyanazt jelenti a kicserélődés és a korreláció. A HF elméletben a korrelációs energia a rendszer egzakt energiája és a Hartree-Fock energia közti eltérés, a kicserélődési energia pedig a teljes elektron-elektron tasztítás és a Coulomb energia különbsége. Az elektronkorrelációban és a kicserélődési tagban is vannak az elektronok távolságának tekintetében hosszú- (long-) és rövidtávú (short range) kölcsönhatási tagok. A kicserélődési kölcsönhatás hosszútávú része a HF módszer esetében kiejti a korrelációs energia hosszútávú részét, míg a DFT módszerek esetén, minthogy az elektronsűrűséget, illetve annak deriváltját lokálisan számoljuk, ez a rövidtávú kölcsönhatási tagokra áll fenn. Ha E_x -et tisztán HF módszerrel számolnánk, elveszítenénk ezt az előnyös kompenzációt. A DFT módszereknél a hosszútávú kompenzációt be kell építeni a funkcionálokba.

Amennyiben gradiens korrigált funkcionálok is használunk a HF és LSDA módszerek mellett, pontosabb számításokat eredményező funkcionálok kaphatunk. Ilyen hibrid funkcionál Becke B3 funkcionálja, mely három illesztendő paramétert tartalmaz, illetve az általam is használt B3LYP funkcionál, melynek alakja a (61) egyenlet szerint adható meg.

$$E_{xc}^{B3LYP} = aE_x^{HF} + (1 - a)E_x^{LSDA} + b\Delta E_x^{B88} + cE_c^{LYP} + (1 - c)E_c^{VWN} \quad (61)$$

4.3. Oldószermodellek és a PCM^[34, 35]

Az oldószermodelleknek alapvetően két nagy csoportját különböztethetjük meg. Az egyik esetben az oldószer molekuláit expliciten adjuk a vizsgált molekulánkhöz, ami az azok közti kölcsönhatások pontosabb leírását biztosítja. A másik csoportba pedig az olyan oldószermodellek tartoznak, melyek az oldószert kontinuumként, a molekulát körülvevő folytonos közegként kezelik. Az explicit modelleknél szokásos eljárás, hogy addig rakunk a molekulánk köré egyre több és több oldószermolekulát, míg a vizsgált tulajdonságok tovább már nem változnak. Nyilvánvaló, hogy ez a megoldás, még kisebb molekulák esetén is, olyan mértékű növekedést von maga után a számítás költségeinek tekintetében, hogy a rendszer

magas szintű kvantumkémiai módszerekkel tovább már nem vizsgálható. Éppen ezért szokás a két módszer kombinálása, mikor a vizsgált molekulánk első solvatációs szféráját expliciten, a további kölcsönhatásokat implicit oldószermodell segítségével vizsgáljuk. Az intermolekuláris kölcsönhatások pontos leírására csak magasabb szintű elektronkorrelációs módszerek alkalmasak igazán, ám a számítások költségének csökkentésére gyakran alkalmaznak félempirikus- és DFT módszereket is. Léteznek hibrid módszerek, melyekben a molekula–oldószer kölcsönhatásokat valamilyen elektronszerkezet számítási módszerrel, az oldószer–oldószer kölcsönhatásokat pedig klasszikus molekuladinamikai úton szimulálják.

Az oldószer hatásai is két nagy csoportba sorolhatók. Az első, az úgynevezett specifikus solvatáció vagy rövidtávú hatás. Ez lehet például a molekula és oldószer közt kialakuló hidrogénkötés vagy az oldószermolekula valamilyen kitüntetett orientációjú koordinációja a vizsgált anyag ionjaihoz/molekuláihoz. Ennek jelentősége nagyrészt az első solvatációs szférára korlátozódik. A második, a makroszkopikus- vagy hosszútávú hatás, ami elsősorban a töltések árnyékolását, az oldószer polarizációját jelenti. Utóbbi leírásához általában több száz oldószermolekula figyelembe vételére volna szükség, azonban a közeg dielektromos állandójának beállításával ezeket a hatásokat jól lehet közelíteni.

Az implicit oldószermodelleken belül a kontinuum kezelésére számos módszer létezik. A legelterjedtebb az SCRF (Self Consistent Reaction Field) modell, ami az oldószer egy egyenletes eloszlású, polarizálható közegként kezeli, adott dielektromos állandóval, melyben a vizsgált molekula egy megfelelő alakú üregben helyezkedik el. Egy üreg létrehozása a kontinuumban energiát igényel, ami destabilizációt-, míg a molekula és oldószer közti diszperziós kölcsönhatás stabilizációt jelent, mely utóbbi lényegében a molekulánk és az oldószer közt fellépő van der Waals kölcsönhatás energiája. Az oldott molekula töltéseloszlásának megfelelően polarizálja a közeg, mely polarizáció a molekula töltéseloszlására visszahatva elektrosztatikus stabilizációt eredményez. A solvatáció szabadentalpiaváltozása az alábbi módon írható fel, a solvatált molekula üregének közegben való kialakítását-, a diszperziós-, és elektrosztatikus kölcsönhatásokat követő szabadentalpiaváltozások összegeként.

$$\Delta G_{\text{szolvatáció}} = \Delta G_{\text{üreg}} + \Delta G_{\text{diszperziós}} + \Delta G_{\text{elektrosztatikus}} \quad (62)$$

Az SCRF módszereket az alábbi öt szempont alapján különböztethetjük meg egymástól:

- Az üreg méretének és alakjának leírása

- A diszperziós kölcsönhatás számítása
- A molekula töltéseloszlásának számítása
- Magának a molekulának a leírása (kvantumkémiai/klasszikus)
- A dielektromos közeg leírása

A molekula üregének leírására legegyszerűbb módszer, amikor azt gömb- vagy ellipszoid alakúnak tekintjük. Ennek nagy előnye, hogy az oldott molekula és a közeg közti kölcsönhatások legtöbbször analitikusan számíthatók. Az előbbinél sokkal realisztikusabb megoldás, ha az üreget a molekula alakjához igazítjuk. Ilyen megoldás lehet, ha a molekula minden atomja köré egy akkora gömböt helyezünk, melynek sugara az atom van der Waals sugarának egy alkalmasan választott konstansszorosa. Az így kapott gömbök felszínének eredőjéből az úgynevezett van der Waals felszínt kapjuk. Minthogy a gömbök metszéspontjainál konkáv felszín alakul ki, valamivel pontosabb leíráshoz juthatunk, ha a van der Waals felszínen egy megfelelően választott sugarú gömböt végiggörgetünk. Ebből az úgynevezett Connolly-felszínt kapjuk, amennyiben minden pontban a végiggörgetett gömbünk molekulához legközelebbi pontjait választjuk felszínhatárnak. Ezt szokás oldószer-kizárt felszínnek (Solvent Excluded Surface, SES) is nevezni. Ha a gömb középpontja által bejárt felszínt fogadjuk el, akkor azt oldószer által hozzáférhető felszínnek (Solvent Accessible Surface, SAS) nevezzük. Az üreg alakját és méretét számolhatjuk közvetlenül a hullámfüggvényekből is, ha annak határát az elektronsűrűség bizonyos értékével definiáljuk.

Az üreg létrehozásához szükséges energia és a van der Waals kölcsönhatás arányos az üreg teljes területével. A szabadentalpiaváltozás leírása történhet egyszerűen egy arányossági tényező segítségével, illetve bonyolultabb, parametrizált kifejezésekkel, melyben a konstansok meghatározása szokásosan kísérleti adatokhoz való illesztéssel történik.

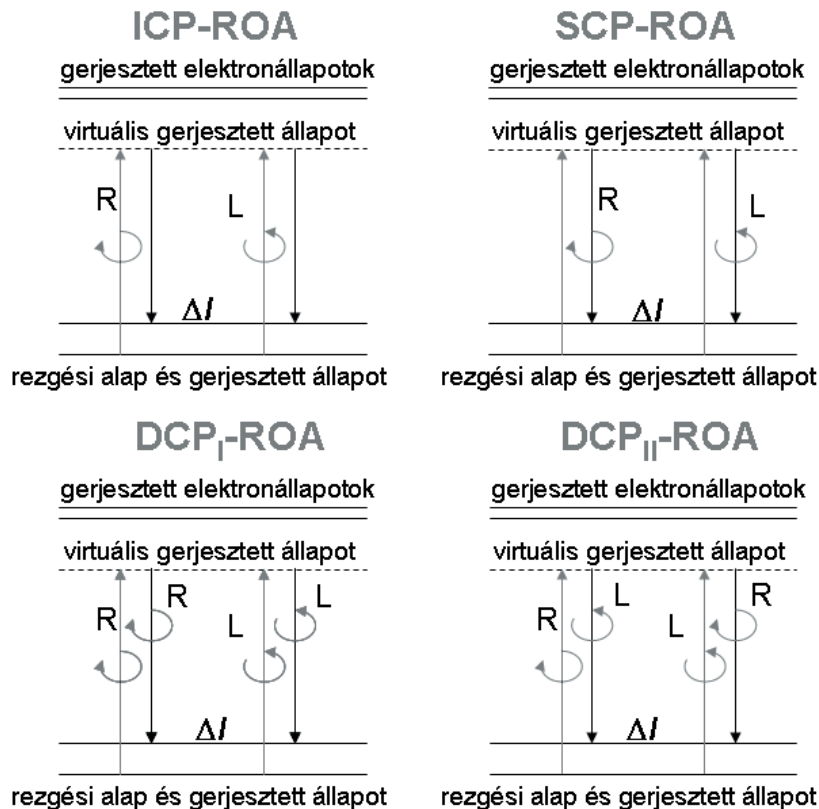
A töltéseloszlás leírása megtehető egyszerűen atomcentrált (parciális) töltésekkel, illetve elektromos multipólusmomentumok alapján. A legegyszerűbb modellek csak a molekula dipólusmomentumát veszik figyelembe, ami nyilvánvalóan szimmetrikus, apoláris molekulák esetén nem használható, így ott magasabb rendű multipólusok figyelembevétele is szükséges.

A dielektromos közeg leírása többnyire az oldószer dielektromos állandójával történik, de ez sok esetben nem elfogadható közelítés, és például a molekulától való távolságot is figyelembe kell venni. Dinamikus jelenségek esetén szükséges lehet egy „frekvenciafüggő” modell alkalmazása, abban az értelemben, hogy miként válaszol az oldószer a molekula gyors-(pl. elektronátmenet) vagy lassú-(pl. konformációs-, orientációs-) változásaira.

A PCM (Polarizable Continuum Modell) modell van der Waals-felszínt használ, a diszperziós kölcsönhatások parametrizált kifejezéseivel, valamint az elektrosztatikus potenciálok részletes leírását alkalmazza konstans dielektromos állandó mellett. A PCM modellnek több változata létezik (IEFPCM, CPCM, DPCM, IPCM, SCIPCM), melyek részletes tárgyalása megtalálható a 35. hivatkozásban.

5. A ROA spektrométer ^[1,36]

Ahogy azt már korábban említettem, a Raman optikai aktivitás nem más, mint a jobbra-, illetve balra cirkulárisan polarizált gerjesztő és/vagy szórt fény esetében mért eltérő intenzitású Raman-szórás. Ebben a definícióban az „és/vagy” arra utal, hogy a ROA-nak több megvalósítási formája is lehetséges, amelyeket a 2. ábra szemlélteti.



2. ábra. A ROA megvalósítási formái

$$\text{ICP-ROA:} \quad \Delta I(\tilde{\nu}) = I_{\alpha}^R(\tilde{\nu}) - I_{\alpha}^L(\tilde{\nu}) \quad (63)$$

$$\text{SCP-ROA:} \quad \Delta I(\tilde{\nu}) = I_R^{\alpha}(\tilde{\nu}) - I_L^{\alpha}(\tilde{\nu}) \quad (64)$$

$$\text{DCP}_I\text{-ROA:} \quad \Delta I(\tilde{\nu}) = I_R^R(\tilde{\nu}) - I_L^L(\tilde{\nu}) \quad (65)$$

$$\text{DCP}_{II}\text{-ROA:} \quad \Delta I(\tilde{\nu}) = I_L^R(\tilde{\nu}) - I_R^L(\tilde{\nu}) \quad (66)$$

A fenti definíciókban R (Right) a jobbra-, L (Left) a balra cirkulárisan polarizált fényt jelöli, α pedig a lineárisan- vagy nem polarizált, illetve nem vizsgált polarizációjú fényre vonatkozik. A felső indexek a beeső, az alsók pedig a szórt fény polarizációnak irányára utalnak.

Az ICP(Incident Circular Polarization)-ROA technikánál a beeső fény folyamatosan váltakozva jobbra-, illetve balra cirkulárisan polarizált, a szórt fény pedig nem vizsgált polarizációjú, melynek intenzitása az optikai aktivitás következményeként szintén időben váltakozik. Az SCP(Scattered Circular Polarization)-ROA esetén a beeső fény nem polarizált. Ebben az esetben a Raman-szórt fényben vizsgáljuk a jobbra-, illetve balra cirkulárisan polarizált komponensek intenzitását, melyek hullámszám függvényében mért különbsége adja az SCP-ROA spektrumot. A DCP(Dual Circular Polarization)-ROA módszereknél a gerjesztő fény is cirkulárisan polarizált, valamint a szórt fényben is csak a cirkulárisan polarizált komponensek intenzitását detektáljuk. A DCP_I -ROA-nál egyszerre csak a beeső fényvel azonos-, míg DCP_{II} -ROA-nál csak az azzal ellentétes irányban cirkulárisan polarizált komponens detektáljuk a szórt fényben.

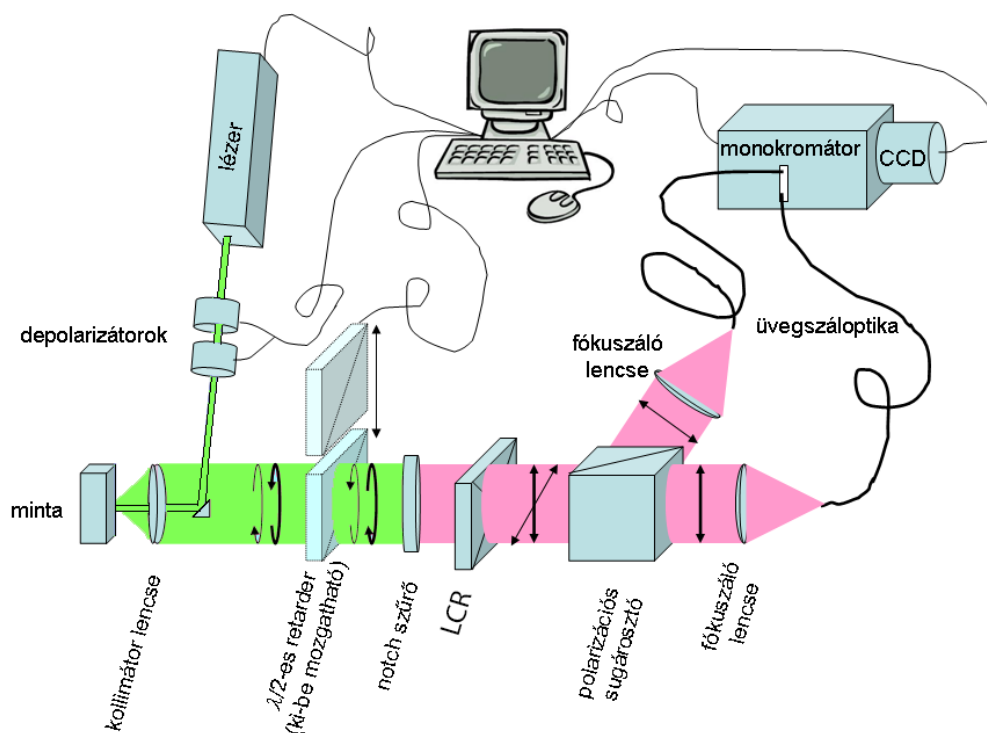
Egy síkban polarizált fény fotonjainak megfeleltethető elektromágneses hullám, két azonos irányba terjedő, egymásra merőleges síkban szinuszosan változó elektromos- és mágneses komponensből áll, melyek elektromos- /mágneses tér vektorai egy síkba mutatnak. Ha két azonos frekvenciájú, egymásra merőleges síkban polarizált elektromágneses hullámot egymáshoz képest hullámhosszuk negyedével eltolunk, az elektromos, illetve mágneses tér vektora, a két hullám azonos komponenseinek eredőjeként térben és időben körbejár. Ezt nevezzük cirkulárisan polarizált fénynek. Amennyiben a hullám haladási irányába nézve az eredő vektorok körüljárási iránya az óramutató járásával megegyező, jobbra-, ha azzal ellentétes, balra cirkulárisan polarizált fényről beszélünk.⁵

Cirkulárisan polarizált fényt kettőstörésű, vagyis olyan anyagok segítségével lehet előállítani, melyek különböző kristálytani tengelyeik mentén eltérő törésmutatóval rendelkeznek. Ha egy ilyen kristály főtengelyére 45° -os szögben síkban polarizált fényt bocsátunk, amit felbonthatunk a főtengellyel párhuzamos- és arra merőleges komponensre, a két komponens eltérő sebességgel fog terjedni, ami elliptikusan polarizált fényt eredményez. Amennyiben olyan vastag kristályt választunk, hogy az azt elhagyó fénynyalámban lévő két komponens eltérő sebességgel való kristálybeli terjedésükből adódó fáziskülönbsége $\lambda/4$ legyen, cirkulárisan polarizált fényt kapunk.

Az ICP- és DCP-ROA technikáknál a beeső fény tehát cirkulárisan polarizált, akárcsak a VCD-nél. Ezt VCD esetén egy optikai- és polarizációs szűrőt követő fotoelasztikus modulátor (PhotoElastic Modulator, PEM) segítségével érjük el. A PEM egy cink-szelenid egykristályt tartalmaz, mely nyomás, illetve nyújtás hatására kettőstörésűvé válik. A kristály fő- és

⁵ Ezzel ellentétes definíció is megtalálható bizonyos cikkekben, azonban a kémiában inkább a fent ismertetett az elfogadott.

melléktengelye mentén mérhető törésmutatója a mechanikai hatás függvénye, így elérhető hogy a fent említett módon cirkulárisan polarizált fényt állítsunk elő segítségével. A ZnSe kristályt egy piezoelektromos szerkezet kHz-es nagyságrendű frekvenciával periodikusan deformálja, aminek eredménye, hogy időben váltakozó irányban cirkulárisan polarizált elektromágneses sugárzás éri a mintát. Az ICP-ROA készülékek felépítése hasonló a VCD spektrométerekéhez, természetesen annyi különbséggel, amennyi különbség egy IR- és Raman spektrométer között van. További különbség, hogy a cirkulárisan polarizált fény előállítására itt PEM helyett elektrooptikai modulátort (Electro Optical Modulator, EOM) használnak. A PEM és EOM közti eltérés lényege, hogy míg az előbbi esetében mechanikai hatásra vált kettőtörésűvé az anyag, addig az EOM-nál ezt elektromos térrel érhetjük el. Az egyetlen kereskedelmi forgalomban kapható ROA spektrométer a BioTools cég ChiralRAMAN-2X készüléke, ami egy SCP-ROA technikát alkalmazó spektrométer, így ennek működését ismertetem részletesebben. A berendezés elvi vázlatát a 3. ábrán látható.



3. ábra. Az SCP-ROA spektrométerek felépítésének elvi vázlatát

A ROA készülékeknek, mint minden modern Raman spektrométernek is, a sugárforrása valamilyen lézer. A ChiralRAMAN-2X esetén ez egy frekvenciakétszerezett, 532 nm-es, síkban polarizált fényt kibocsátó Nd:YAG lézer. A lézerből érkező fénysugár egy depolarizátoron halad keresztül, mely két kettőtörésű kristályból áll, amik egymás után helyezkednek el, és egymáshoz képest eltérő sebességgel forognak, minek eredményeként a továbbhaladó fény már depolarizált, pontosabban kaotikusan polarizált, ami időátlagban

depolarizációt jelent. A depolarizátort elhagyó fényt egy tükör irányítja a mintára. A mintáról 180°-ban visszaszórt fényt egy kollimátor lencse párhuzamosítja. A visszaszórt fénynyalábban a jobbra- és balra cirkulárisan polarizált fény egyaránt megtalálható, melyek intenzitása természetesen különbözik. A fény ezután egy holografikus-, notch szűrőn halad keresztül, mely kiszűri a fényből a gerjesztő frekvenciával megegyező frekvenciájú komponenseket, hogy a Rayleigh-szórásból származó fény ne juthasson a detektorba. A notch szűrőt egy folyadékkristályos retarder (Liquid Crystal Retarder, LCR) követi, ami funkcióját tekintve a fentebb ismertetett PEM-el és EOM-mal ellentétes hatású, azonban működési elve azokéval megegyezik. Az LCR cirkulárisan polarizált fényből állít elő síkban polarizáltat. Egy cirkulárisan polarizált fény felbontható két egymásra merőleges komponensre, így megtehető, hogy az egyik komponens, amit nevezzünk vízszintes komponensnek, $\lambda/4$ -el való eltolásával síkban polarizált fényt állítunk elő, ami az eredeti két komponenssel 45°-os szöget zár be. Minthogy a két ellentétes irányba cirkulárisan polarizált fény vízszintes komponensei egymáshoz képest fél fázissal vannak eltolva, amennyiben függőleges komponensük fázisa megegyezik, az ezekből előállított síkban polarizált elektromágneses sugárzások megegyező komponensei (elektromos / mágneses) egymással 90°-os szöget fognak bezárni. Az LCR egy olyan folyadékkristályos optikai elem, ami feszültség hatására kettőtörésűvé válik, és a két ellentétes irányban cirkulárisan polarizált fényből két egymásra merőleges síkban polarizált fényt állít elő. Nevezzük most ezt a két előállított, síkban polarizált fényt vízszintesnek és függőlegesnek. Ezek a komponensek továbbhaladva egy polarizációs sugárosztóra kerülnek, ami a fényúttal 45°-os szöget zár be. Ez csak az egyik komponens (ábrán vízszintes-) engedi át, a másikat (ábrán függőleges komponens) pedig visszaveri, így az eredetiből két fényút keletkezik. A sugárosztó működéséből következik, hogy amennyiben a szórt fényben lineáris komponens is van, az meghamisítja a különböző komponensek esetében mért intenzitásokat, ezért – bár ez az ábrán nincs feltüntetve – a készülékben még a notch szűrő előtt van egy folyamatosan forgó $\lambda/2$ -es retarder is, a síkban polarizált komponensek kiszűrésére. Mindkét fényútban egy-egy fókuszáló lencse fókuszálja a nyalábokat egy-egy üvegszáloptika-kötegre. Az üvegszáloptika-kötegek egy rácsos monokromátor két külön részére vezetik a fénynyalábokat, ami azokat hullámszám szerint felbontja. A detektor egy Peltier-hűtésű CCD- (Charged Coupled Device) kamera, melynek két külön részén ér véget a két fényút. Ha a két fényút optikai tulajdonságai akár csak kis mértékben is különböznek, illetve amennyiben a CCD-kamera két részének érzékenysége eltér, az egyik fényút, a mért minta kiralitásától függetlenül, mindig nagyobb intenzitású jelet szolgáltat, ami hamis eredményhez vezet. Ennek a problémának a kiküszöbölését két technika együttes alkalmazása biztosítja. Ha az

LCR-re kapcsolt feszültség polaritását megcseréljük, annak tengelyeire vonatkoztatott relatív törésmutatója is reciprokára változik. Amennyiben tehát az eredetileg jobbra cirkulárisan polarizált fénykomponensből jött létre a vízszintes síkban polarizált fény, melyet a sugárosztó áteresztett, abból most függőlegesen polarizált fény lesz, amit a sugárosztó tükör visszaver, így a két fényút szerepe is felcserélődik, abban az értelemben, hogy melyik cirkulárisan polarizált komponens továbbítja az adott üvegszáloptika-köteg, illetve azok a detektor melyik részére kerülnek. A másik módszer, az úgynevezett virtuális enantiomer technika. A technika elnevezése onnan ered, hogy az ellentétes irányba cirkulárisan polarizált elektromágneses sugárzások felfoghatók úgy, mintha azok egymás enantiomer-párjai lennének. A két „enantiomer”, mint már említettem egymásba alakítható, amennyiben azok vízszintes síkban polarizált komponenseit fél fázissal eltoljuk függőleges komponensükhöz képest. Ezt egy $\lambda/2$ -es retarderrel lehet megtenni, ami a notch szűrő előtt helyezkedik el, és ki-be billenthető a fényútba. Amennyiben megváltoztatjuk a polarizáció irányát, a fent elmondottakkal analóg módon szintén felcserélődik a két fényút szerepe.

Annak, hogy a visszaszórt fényt (backscattering geometry) detektáljuk, alapvetően két oka van. Az első, hogy a ROA spektrum sávjainak relatív intenzitása ebben az esetben a legnagyobb a Raman-sávok intenzitására vonatkoztatva, ami az elméleti részben bemutatott összefüggésekből és paraméterekből következik. A másik ok pedig, hogy a sugárforrásból származó lineárisan polarizált fény depolarizációja nem minden esetben tökéletes, és az ebből adódó mérési artifaktumok ebben az elrendezésben kisebbek, ami a nem tárgyalt depolarizációs Raman technikák elméletével magyarázható.

Az SCP-, ICP-ROA-val szembeni előnye alapvetően a két megvalósítási módszer elvének következménye. Mivel SCP-ROA esetén a két irányba cirkulárisan polarizált komponens egy időben mérjük, nem fordulhat elő az a probléma, ami a VCD, illetve a többi ROA technika esetében jelentkezhet, nevezetesen hogy a fényútba esetlegesen bekerülő fényszórást okozó részecske (pl. porszem) csak az egyik komponens esetében mért jelintenzitást hamisítja meg, befolyásolva ezzel a VCD, vagy ROA spektrumot.

6. Kísérleti rész

Kísérleti munkám során különböző aminosavak (cisztein, szerin, leucin) vizsgálatát végeztem Raman és ROA spektroszkópiával. Minden aminosav esetén mértem azok ikerionos-, protonált- és deprotonált formáit. Mivel a spektrumok értékelését, illetve az elméleti spektrumok számítását eddig csak a cisztein ikerionos, valamint a protonált formáira sikerült befejeznem, itt csak ezeket a spektrumokat közlöm. Csak a cisztein oldatok mérési körülményeit ismertetem részletesen, mivel a többi esetben is ezekhez hasonlóan jártam el.

6.1. A kísérleti körülmények

Az aminosavak mérését minden esetben vizes közegben végeztem. Az oldatok készítéséhez kétszer desztillált vizet, illetve azzal készült 2 mol/dm^3 koncentrációjú sósavoldatot használtam. A lúgos oldatokat szintén kétszer desztillált vízzel készítettem szilárd nátrium-hidroxidból, melynek utolsó használatát követően $0,1 \text{ mol/dm}^3$ -es oldatát faktorozott-, azonos koncentrációjú sósavoldattal megtráltam, minek eredményeként a használt mikroszemcsés NaOH tisztasága 99,4%-nak adódott. A cisztein oldatok elkészítéséhez a Sigma Aldrich Co.-tól vásárolt, 98%-nál a gyártó által garantáltan tisztább L-ciszteint használtam. A cisztein vizes oldatának pH-ja 5,3 körüli [8]. A mérésekhez szükséges oldattérfogat $100 \mu\text{l}$, ami a küvetta teljes, buborékmentes megtöltéséhez elegendő. A használt küvetta keresztmetszete $3 \times 4 \text{ mm}$, anyaga nagy tisztaságú kvarc. Az oldatokból egyszerre $200\text{--}500 \mu\text{l}$ -t készítettem, melyekhez $200 \mu\text{l}$ -es automata pipettát, a szilárd anyagok beméréséhez analitikai mérleget használtam. Az így elkészített oldatokat, a lebegő szennyeződésektől való megszabadulás érdekében, minden esetben legalább tíz percig centrifugáltam percenkénti 6000 fordulatos sebességgel, és a mérendő mintát a centrifugált oldatok felső részéből vettem. A protonált formák mérését 2 mol/dm^3 koncentrációjú sósavoldatban végeztem, aminek pH értéke közelítően $-0,3$, ahol a cisztein 100%-ban protonált-, kationos formában van jelen. Az ikerionos forma spektrumát kétszer desztillált vízben vettem fel. A lúgos oldatok esetén 2 mol/dm^3 koncentrációjú NaOH-oldatot használtam, melynek pH-ja körülbelül $14,3$, ahol a cisztein 100%-ban kétszeresen deprotonált, dianionos formában van jelen. A méréseket mindhárom pH-n elvégeztem ciszteinre nézve $1\text{-} \text{és} \text{ } 0,3 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú oldatokkal, annak igazolására, hogy nincsenek még a töményebb oldatokban sem cisztein-dimerek vagy más asszociátumok. A hígabb oldatok esetén, különösen a deprotonált forma méréséhez, szükség volt az oldatok oxigénmentesítésére is, mivel annak hiányában viszonylag hamar, egy-két óra elteltével új sáv jelent meg a Raman és ROA spektrumokban 500 cm^{-1} -nél, mely

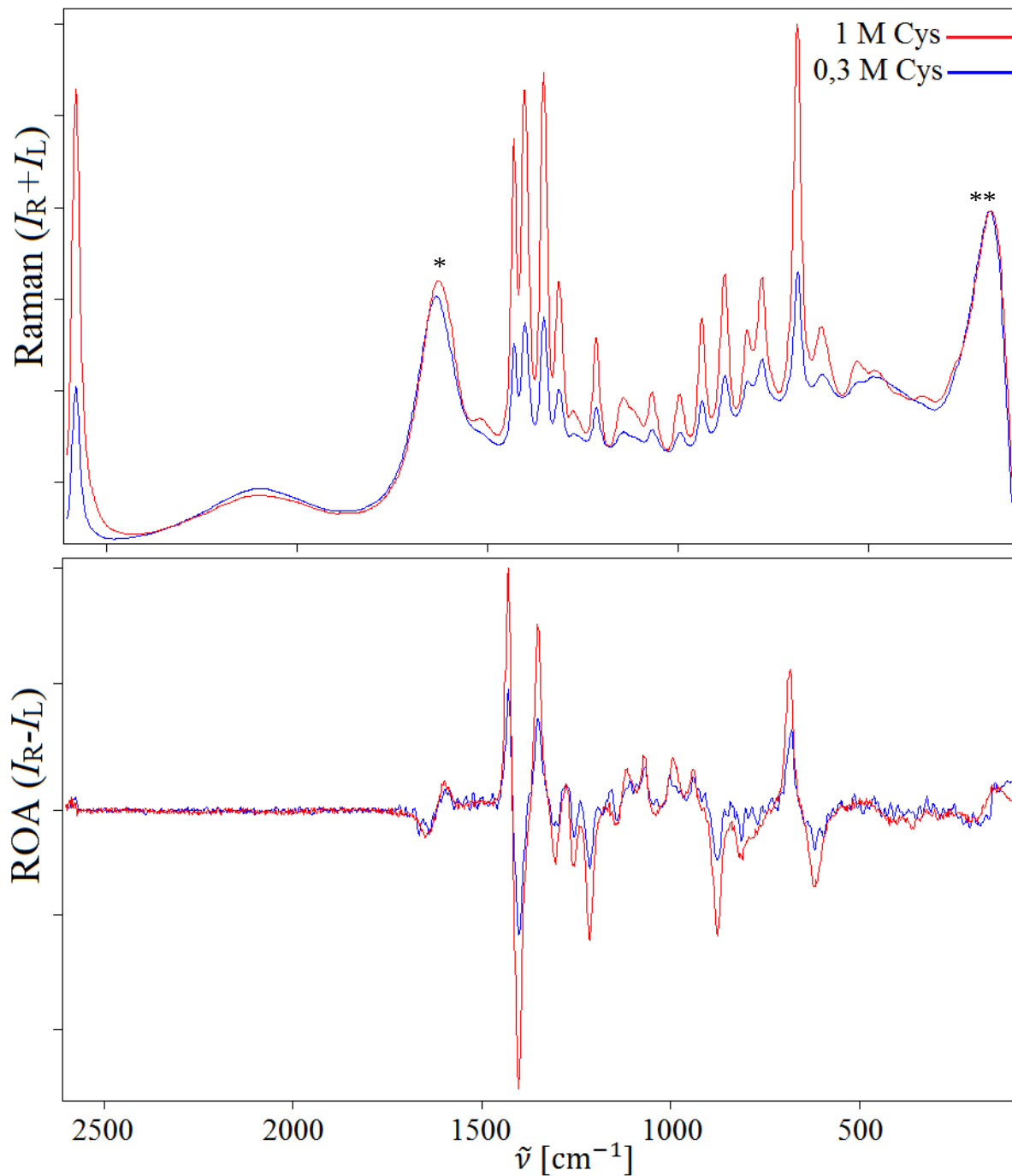
frekvencia a S–S vegyértékrezgésnek feleltethető meg. Továbbá a kezdetben is megfigyelhető sávok frekvenciája és alakja is valamelyest megváltozott, vagyis az oldatban a cisztein egy része oxidálódott, cisztinné alakult át. A cisztin megjelenésére abból is lehetett következtetni, hogy rosszabb oldhatósága miatt az oldatból kivált, és jelentős fényszórást okozott, ezért a spektrumok alapvonalai megemelkedtek, illetve elferdültek. Az oxigénmentesítést nitrogén átbuborékolatásával végeztem, melyet először csak az oldószer, majd az oldatok esetében is végrehajtottam.

A mérésekhez a BioTools cég ChiralRAMAN-2X spektrométerét használtam, melynek működési elvét a megfelelő részben már ismertettem. A spektrométer felbontása körülbelül $4\text{--}8\text{ cm}^{-1}$, a mérhető hullámszámtartomány pedig $2600\text{--}80\text{ cm}^{-1}$. A spektrumok felvételénél az oldatok, illetve az oldószerek (víz, HCl- és NaOH-oldat) esetén legalább 20 órás teljes megvilágítási időt alkalmaztam. (Ez alól kivételt képez a hígabb-, vízben mért cisztein oldat spektruma, melynek teljes megvilágítási ideje mindössze 3 óra, mivel a spektrumok hosszabb idő eltelte után minden próbálkozás alkalmával (összesen 6) használhatatlanná váltak. Utóbbi problémát a labor hőmérséklete állandó értéken tartásának hiánya, az arra irányuló próbálkozások sikertelensége okozta. A többi spektrum felvételére a 2013-as év nyári-, illetve az ismételt mérések elvégzésére a 2014-es év téli időszakában került sor, amikor az épület szellőzőrendszere, mely a kívánt laborhőmérséklet beállítására és állandó értéken tartására az egyetlen lehetőséget jelenti, képes volt az épületen kívüli hőmérsékletet olyan irányba módosítani, hogy elérhető volt a mérésekhez szükséges, 25 °C -nál alacsonyabb érték. A $0,3\text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú (vizes) cisztein oldat spektrumának mérésére azonban 2014 tavaszán került csak sor, amikor az épületben még fűtöttek, annak ellenére, hogy a labor hőmérséklete fűtés nélkül is 30 °C volt, ami nem tette lehetővé a hosszú méréseket, mivel a spektrométer lézere léghűtésű, és csak 35 °C alatt használható megfelelően, magasabb hőmérsékleten automatikusan csökkenti annak leadott teljesítményét. A 35 °C -os hőmérsékletet körülbelül 10–15 perc alatt érte el a lézer, ezután ki kellett kapcsolni, míg visszahűlt, mert a teljesítmény csökkentése nem csak a sávok kisebb intenzitásában jelentkezett, hanem a ROA spektrum alapvonalának elferdülésében is. Utóbbi problémának az lehet az oka, hogy, ha az alkalmazott 2 s-os megvilágítási idő alatt csökken a lézerteljesítmény, a depolarizátorok okozta kaotikus polarizáció már nem fog polarizálatlan fényt eredményezni átlagban.)

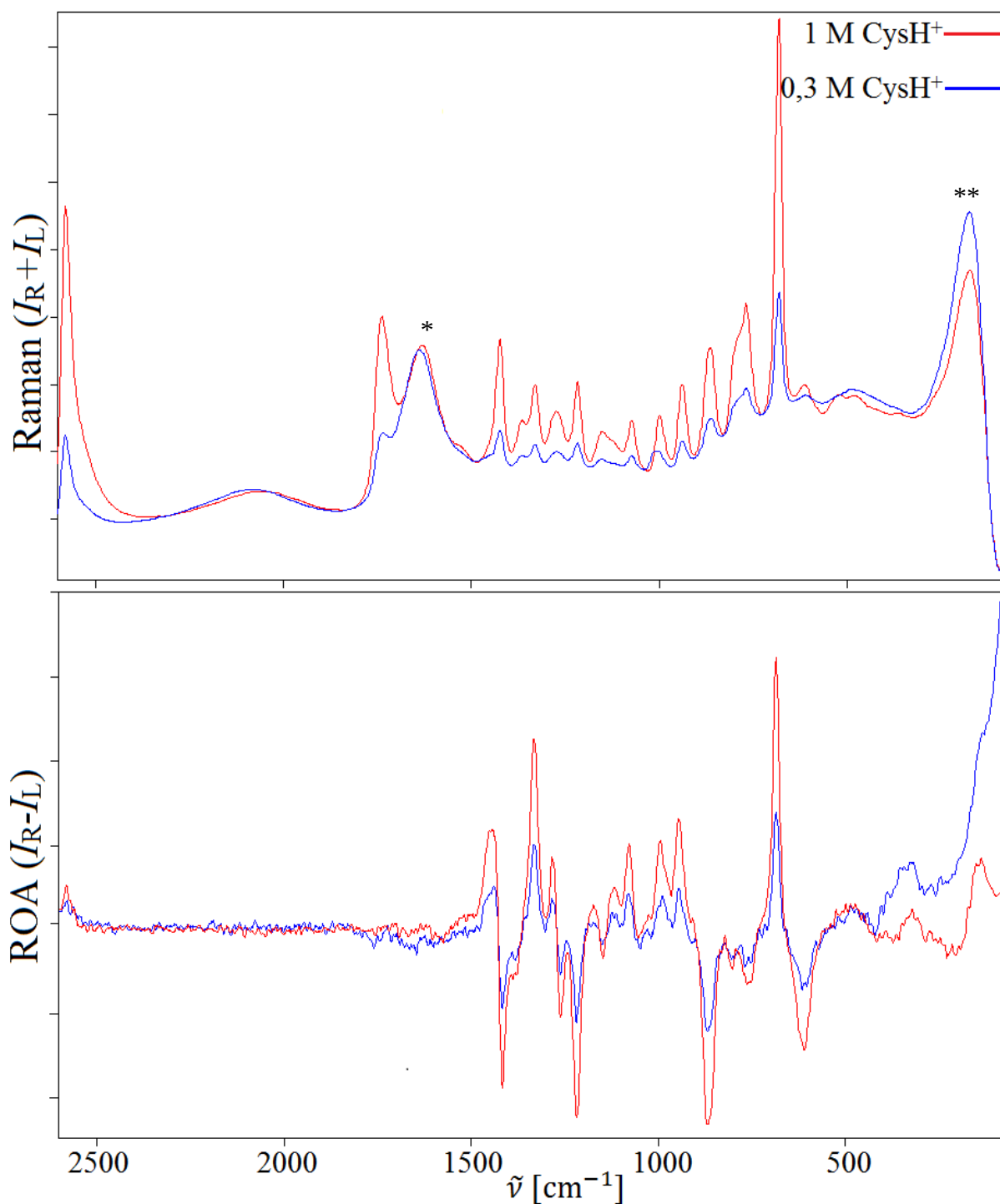
A töményebb oldatokat 600 mW -os, a hígabbakat pedig a lézer 1000 mW -os névleges teljesítménye mellett mértük 532 nm -es gerjesztő fény mellett. A kivetta helyén mért teljesítmény a névleges 45–50 %-a. Az egyes scan-ek esetén a megvilágítási időt $2,058\text{ s}$ -nak választottuk.

6.2.A kísérleti eredmények

A 4. és 5. ábrákon láthatók a semleges és savas közegben mért kísérleti spektrumok mind az 1, mind a 0,3 mol/dm³ koncentrációjú cisztein oldatokra.



4. ábra. pH ~5,3 esetében a hígabb (0,3 mol/dm³, kék) és töményebb (1 mol/dm³, piros) oldatokban mért Raman és ROA spektrumok (Ezen a pH-n gyakorlatilag csak az ikerionos forma van jelen.) A csillaggal (*) jelölt sáv a víz deformációs rezgéséhez tartozik, a körülbelül 300–100 cm⁻¹ közt jelentkező széles sáv (**) pedig a küvétából származik.



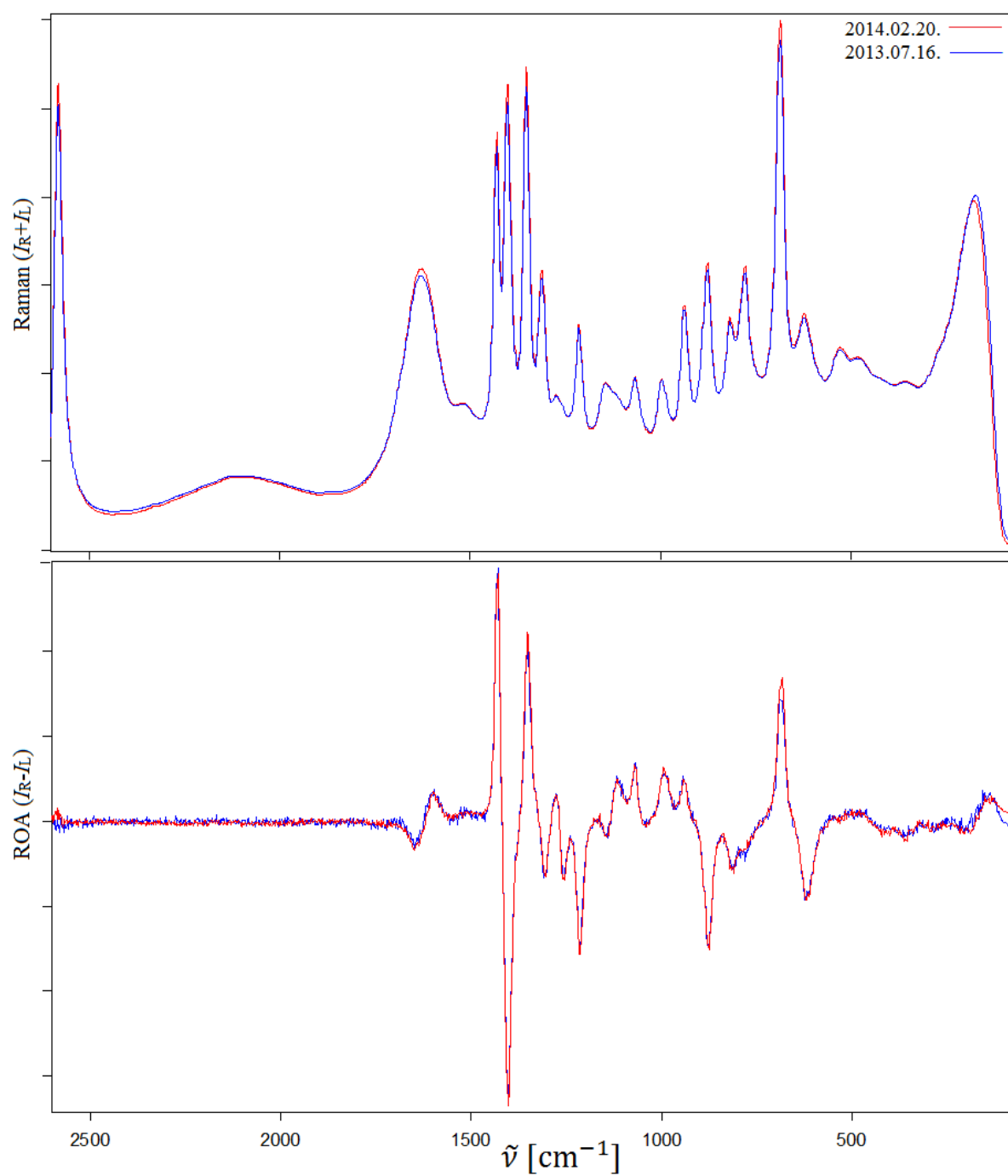
5. ábra. pH<1 esetben hígabb (0,3 mol/dm³, kék) és töményebb (1 mol/dm³, piros) oldatokban mért Raman és ROA spektrumok (Ezen a pH-n gyakorlatilag csak a protonált forma van jelen.) A csillaggal (*) jelölt sáv a víz deformációs rezgéséhez tartozik, a körülbelül 300–100 cm⁻¹ közt jelentkező széles sáv (**) pedig a küvétából származik.

A 4. és 5. ábrán bemutatott spektrumpárokon látszik, hogy a hígabb- és töményebb oldatok esetében felvett spektrumok sávjainak frekvenciája és alakja tökéletesen megegyezik, csupán azok intenzitásában van eltérés, amiből arra következtethetünk, hogy az oldatokban valóban

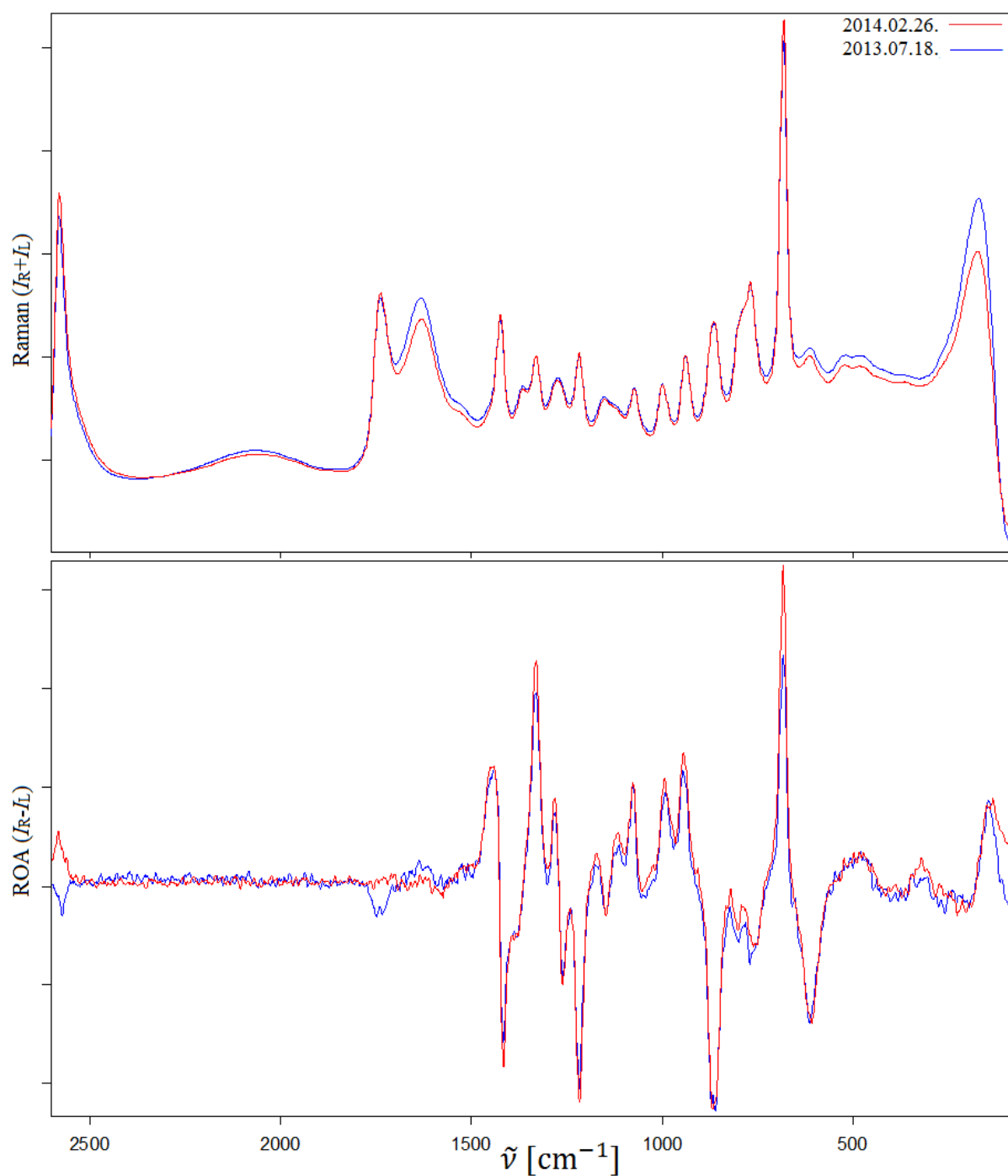
nincs dimerképződés, valamint a solvatáció módja sem változik számottevő mértékben a koncentrációval. A 4. és 5. ábrák Raman spektrumain csillaggal (*) jelölt sáv a víz deformációs rezgéséhez tartozik, a körülbelül $300\text{--}100\text{ cm}^{-1}$ közt jelentkező széles sáv (**) pedig a küvettából származik. Ezeket a továbbiakban nem jelölöm.

Mint már említettem, több mérést is megismételtünk a hosszabb mérési idővel elérhető szebb, kevésbé zajos spektrumok felvétele érdekében, azonban más eltéréseket is tapasztaltunk, melyek a 6. és 7. ábrán látható spektrumok mutatnak.⁶

⁶ A mérések közt eltelt időszakban a készülékhez tartozó lézert javították, annak szervizből történő visszaérkezésekor a készülék optikai elemeit ismételtén beállították, kalibrálták.



6. ábra. Az ikerionos forma eredeti (kék)- és az ismételt (újralibráció utáni, piros) mérés eredményeként kapott spektrumainak összehasonlítása



7. ábra. A protonált forma eredeti (kék)- és az ismételt (újralibráció utáni, piros) mérés eredményeként kapott spektrumainak összehasonlítása

A korábbi és későbbi spektrumok összehasonlításából látszik, hogy a Raman spektrumok egyáltalán nem változtak, viszont a ROA spektrumokban az S–H vegyértékrezgésnek megfelelő sávok (2578 cm^{-1}) előjele rendre megváltozott. A protonált cisztein ROA spektrumain további különbség látható a karbonilcsoport nyújtási rezgéséhez tartozó spektrumtartományban ($1722\text{--}1752\text{ cm}^{-1}$), nevezetesen az, hogy az új spektrumokban ez a sáv

gyakorlatilag eltűnt. Ezek a sávok nagyon érzékenyek a kísérleti paraméterekre, nemrobosztus sávok.

A 7. fejezetben alapvonalkorrigált kísérleti Raman spektrumokat fogok feltűntetni az elméleti spektrumokkal való könnyebb összehasonlíthatóság érdekében. Ezt nem fogom a spektrumoknál külön megjegyezni.

7. A kísérleti eredmények értelmezése

A kísérleti spektrumok értelmezéséhez a Gaussian 09 programmal [26] végeztem kvantumkémiai számításokat. A szerkezetek geometriaoptimalását és az azokhoz tartozó elméleti spektrumok számítását DFT módszerrel végeztem, aug-cc-pVDZ bázist alkalmazva, IEF-PCM oldószermodell mellett. Az alkalmazott bázis nevében az „aug” prefixum arra vonatkozik, hogy a cc-pVDZ bázis diffúz-, lassan lecsengő függvényekkel van kiegészítve, ami a cisztein vízmolekulákkal alkotott komplexekben lévő hidrogénkötések leírása szempontjából különösen fontos.

A cisztein konformeloszlásában az egyes konformerek, illetve azok vízmolekulákkal alkotott komplexei hozzájárulásának meghatározásakor Boltzmann-eloszlást tételeztem fel. Az i -edik és a legalacsonyabb szabadentalpiájú konformer, illetve komplex relatív populációja a (67) egyenlet alapján számítható.

$$\frac{N_i}{N_0} = e^{\frac{-(G_i - G_0)}{kT}} \quad (67)$$

Az egyenletben G_i és G_0 az i -edik-, illetve a legstabilabb konformer alapállapotú szabadentalpiája, k a Boltzmann-állandó, T pedig a termodinamikai hőmérséklet melyet minden esetben 298,15 K-nek vettem. Ugyan a mérések hőmérséklete ettől több esetben néhány fokot eltért, ugyanakkor az ebből adódó pontatlanságok elhanyagolhatók a DFT módszer elméleti hibájához képest.

Az i -edik konformer, illetve komplex móltörtje relatív populációjuk alapján az alábbi összefüggéssel számolható.

$$x_i = e^{\frac{-(G_i - G_0)}{kT}} / \sum_i e^{\frac{-(G_i - G_0)}{kT}} \quad (68)$$

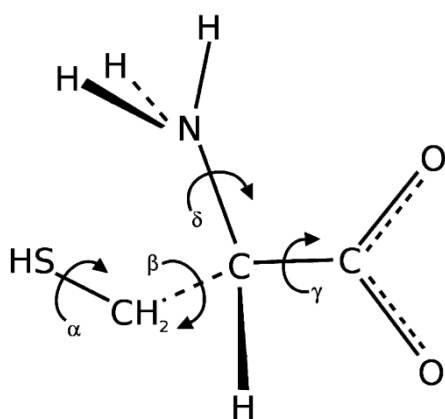
Az elméleti spektrumokat az egyes szerkezetekre számoltakból azok mólfraekcióival való súlyozásával határoztam meg. A számított spektrumok sávjaira 10 cm⁻¹ félértékszélességű Lorentz-görbét illesztettem.

7.1. Az ikerionos forma konformációs analízise

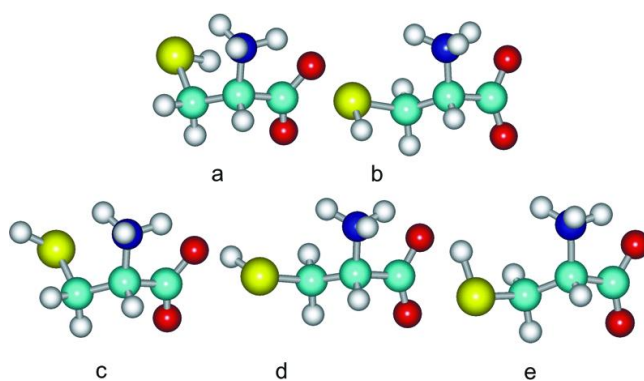
Kutatómunkám kiindulási alapja egy lengyel kutatócsoport, Magdalena Pecul és munkatársai által írt publikáció [8], melyben a cisztein vizes-, illetve nehézvizes oldatát vizsgálták rezgési optikai aktivitás módszerekkel. Számításaiuknál alkalmazott paraméterek az általam használtakkal megegyezők voltak, azzal a különbséggel, hogy ők a Gaussian program 03-as

verzióját használták. Ennek a különbségnek abból a szempontból van jelentősége, hogy a 09-es verzióban az IEF-PCM oldószermodell kifejezései valamelyest megváltoztak.

A cisztein ikerionos formája konformereinek meghatározásakor a 8. hivatkozásban közölt szerkezetekből indultam ki. Ebben a cikkben a cisztein molekula 8. ábrán jelölt torziós szögeinek szisztematikus változtatásával nyert kiindulási konformációk szerkezetének optimalizálásával öt olyan konformert azonosítottak, melyeknek a teljes konformereloszláshoz 1%-nál nagyobb hozzájárulása volt. Ezeket a szerkezeteket mutatja a 9. ábra.



8. ábra. A konformációs analízis során szisztematikusán változtatott torziós szögek [8]



9. ábra. Az öt legstabilabb ikerionos konformer, mely a B3LYP/aug-cc-pVDZ szinten végzett geometriaoptimalizálás eredményeként adódott [8]

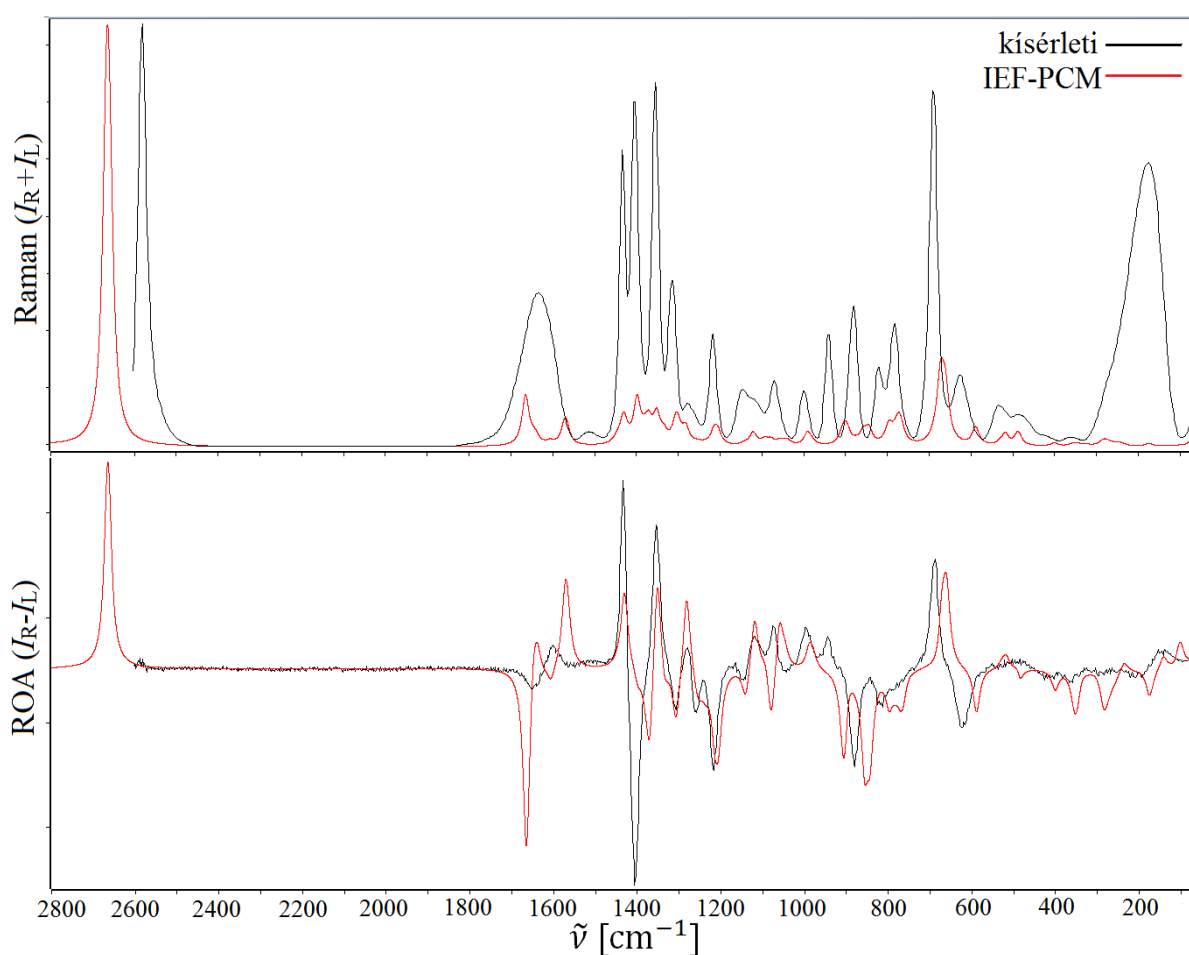
7.1.1. Az eredmények értelmezése implicit oldószermodell segítségével

Az említett cikkben közölt szerkezeti paraméterek alapján beállított konformációkat újraoptimáltam, és a 9. ábra szerkezeteivel majdhogynem teljesen megegyezőket kaptam. A szerkezetek paraméterei nem változtak meg jelentősen, azonban az egyes konformerek stabilitási sorrendje igen. Ez a Gaussian program két verziójában megjelenő IEF-PCM modell különböző kifejezéseinek köszönhető. Ezt az eltérést szemlélteti az 1. táblázat.

1. táblázat. A Gaussian program G03 és G09 verzióival azonos paraméterek mellett (B3LYP/aug-cc-pVDZ, IEF-PCM modell) végzett geometriaoptimalás eltérő eredményei, a 9. ábra torziós szögeire és a számított mólfrakciókra vonatkozóan. Δ a két verzióval kapott torziós szögek különbségét jelzi (pl. $\Delta\alpha = \alpha^{G09} - \alpha^{G03}$).

konformer	$\Delta\alpha/^\circ$	$\Delta\beta/^\circ$	$\Delta\gamma/^\circ$	$\Delta\delta/^\circ$	x^{G03}	x^{G09}
a	0	2	3	2	0,50	0,37
b	−1	0	−3	6	0,23	0,15
c	3	2	4	−6	0,13	0,40
d	−32	2	−5	7	0,06	0,06
e	−6	−3	5	−1	0,07	0,02

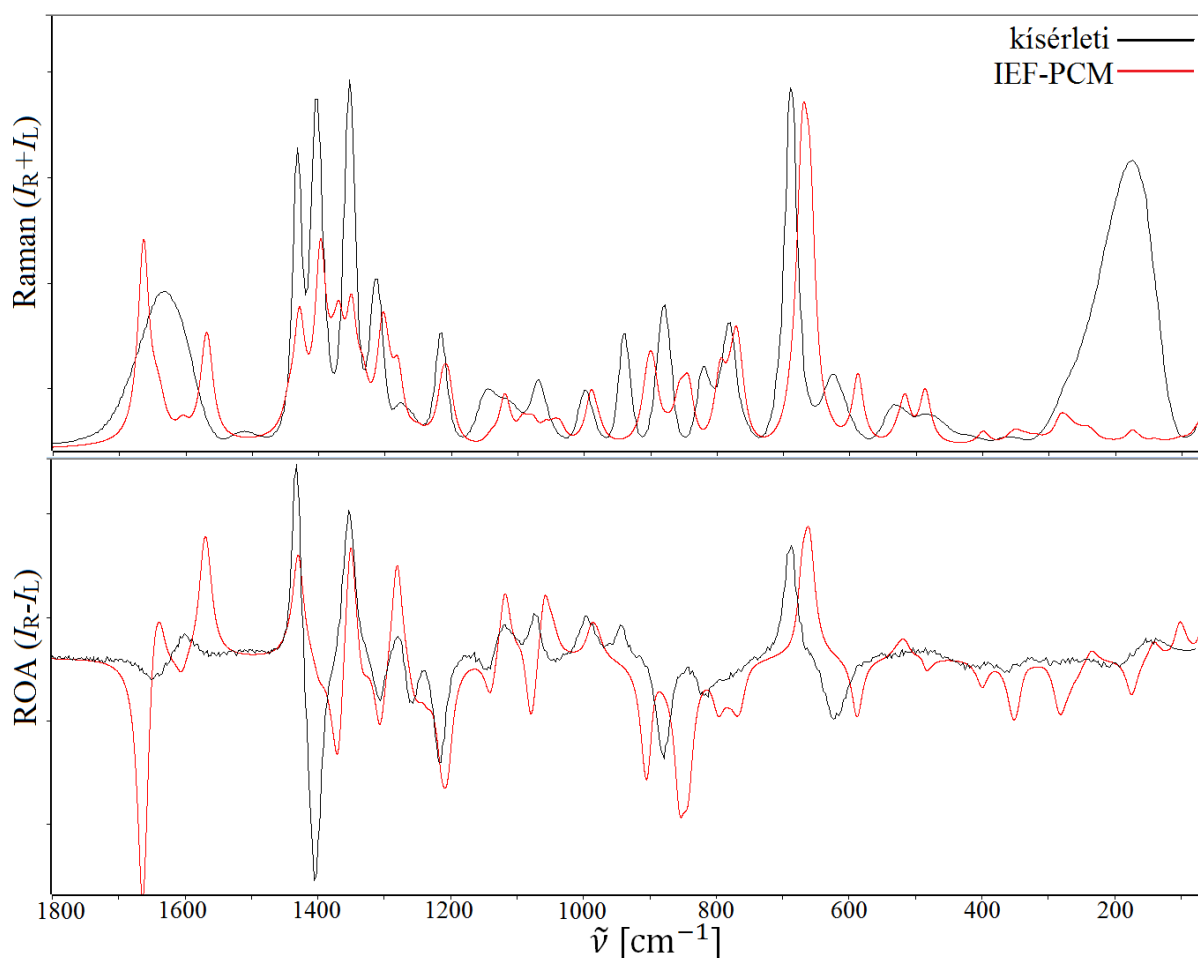
Ezen szerkezetekből IEF-PCM oldószermodell alkalmazásával kapott Raman és ROA spektrum kísérleti spektrumokkal való összehasonlítása 10. ábrán látható.



10. ábra. A mért és PCM modellel számított spektrumok 2800–60 cm^{-1} hullámszámtartományban

A 10. ábrán jól látszik, hogy a számított spektrumokban is megjelenik a S–H nyújtáshoz tartozó sáv (2660 cm^{-1}), azonban ennek relatív intenzitása a számított spektrumokban jóval

nagyobb, mint a kísérletiekben. Megfigyelhető az is, hogy kisebb hullámszámok felé haladva sem a kísérleti, sem az elméleti spektrumokban nem található sáv egészen 1800 cm^{-1} -ig. Ezért a könnyebb eligazodás érdekében a 11. ábrán ugyanezek a spektrumok láthatók 1800 cm^{-1} hullámszámtól 60 cm^{-1} -ig.



11. ábra. A mért és PCM modellel számított spektrumok $1800\text{--}60\text{ cm}^{-1}$ hullámszámtartományban

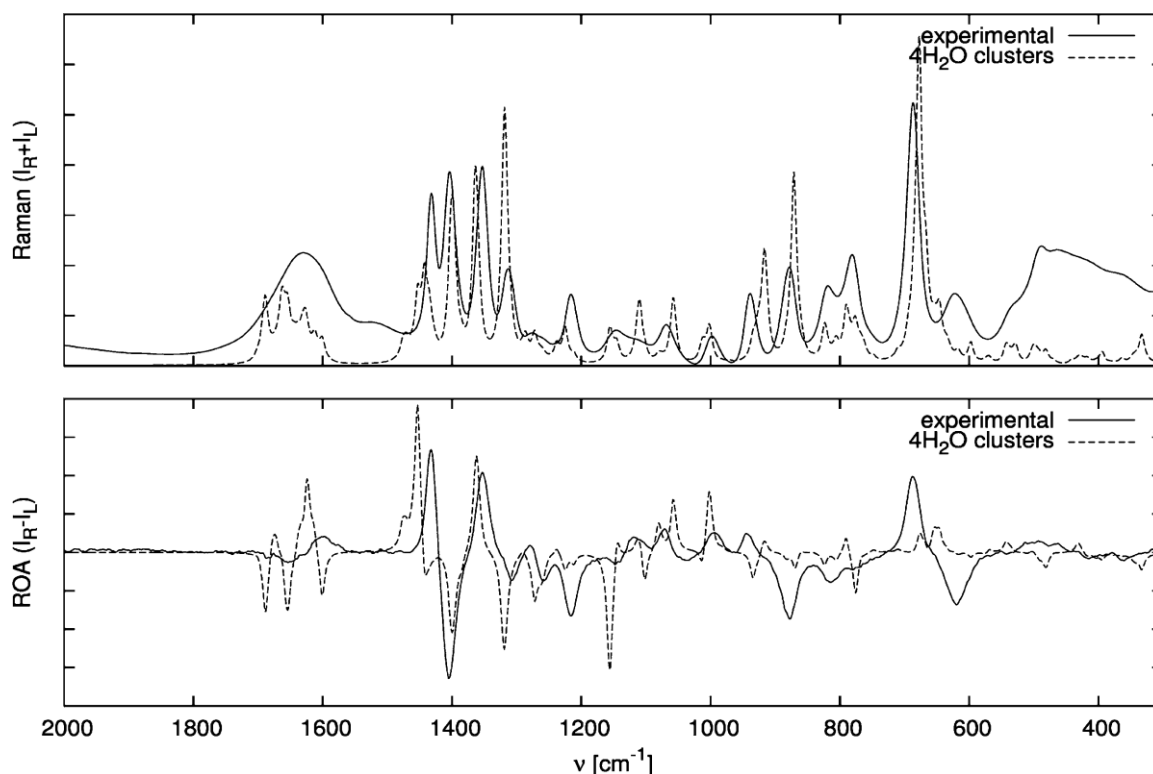
A 11. ábrán látható, hogy az IEF-PCM modell segítségével számított spektrumok több helyen sem mutatnak igazán jó egyezést a kísérleti spektrumokkal. Különösen a 600 cm^{-1} alatti spektrumtartományban látszik, hogy a számított és mért Raman spektrumban a sávok biztonsággal megfeleltethetők egymásnak, azonban az elméleti ROA spektrumban több olyan sáv is található, melyek a kísérletiben nem figyelhetők meg. Ennek elsődlegesen az lehet az oka, hogy ebben a tartományban a ciszteinmolekula vázrezgései találhatók. Vizes közegben a molekulához hidrogénkötéssel kapcsolódó vízmolekulák is részt vesznek ezekben a rezgésekben, követik a molekula mozgásait, mintha ahhoz mereven lennének kötve, és így azok térállásától is nagymértékben függenek a ROA spektrum sávjainak intenzitásai, illetve előjelei. Az oldatban a vízmolekulák nagyon sokféleképpen állhatnak a ciszteinmolekulához

képest, ennek eredményeként ezek a rezgések ROA spektrumbeli sávjai nem figyelhetők meg, kioltják egymást. Erre abból is következtethetünk, hogy az 8. hivatkozásban közölt molekuladinamikai szimulációk eredményeként kapott spektrum ebben a tartományban tökéletes egyezést mutat a kísérletivel. A szimulációkban egy ciszteinmolekulát 216 vízmolekula vett körül egy 18,643 Å élhosszúságú kockában. A 600–900 cm⁻¹ tartományban mindkét spektrum esetén elfogadható az egyezés a mért és számított sávok közt, bár azok mintegy 30–40 cm⁻¹ értékkel el vannak tolódva egymáshoz képest. A 900–1600 cm⁻¹ hullámszámok közt lévő sávok olyan rezgésekhez tartoznak, melyekben a vízmolekulák nem, illetve csak nagyon kis mértékben vesznek részt.⁷ Ebben a tartományban több olyan sáv is található melyek esetén a számítások jól visszaadják a kísérleti eredményeket. Azonban vannak olyanok is, melyekről ez nem mondható el, elsősorban a ROA spektrumra vonatkozóan. Az eltérések abból adódhatnak, hogy a vizes közegben fellépő specifikus solvatáció módosítja a ciszteinmolekula szerkezetét, így változnak annak rezgései is, amit a PCM modell nem tud megfelelően visszaadni. Az 1600 cm⁻¹ körüli- és feletti rezgéseknél ez a modell egyáltalán nem működik, ugyanis ebben a tartományban található a vízmolekula, illetve az egymással hidrogénhidas kapcsolatban lévő vízmolekulák deformációs rezgései, vagyis itt minden rezgés erősen ezekkel csatol. Várakozásaink szerint tehát, az itt jelentkező rezgések nem vizsgálhatók explicit vízmolekulák nélkül.

7.1.2. Cisztein-víz klaszterek vizsgálata

Ciszteinmolekuláknak 4 vízmolekulával alkotott komplexeinek vizsgálatát, és az abból kapható VOA spektrumokat a 8. hivatkozás is tárgyalja. Ezzel a módszerrel a 12. ábrán látható Raman és ROA spektrumot kapták a cikk szerzői.

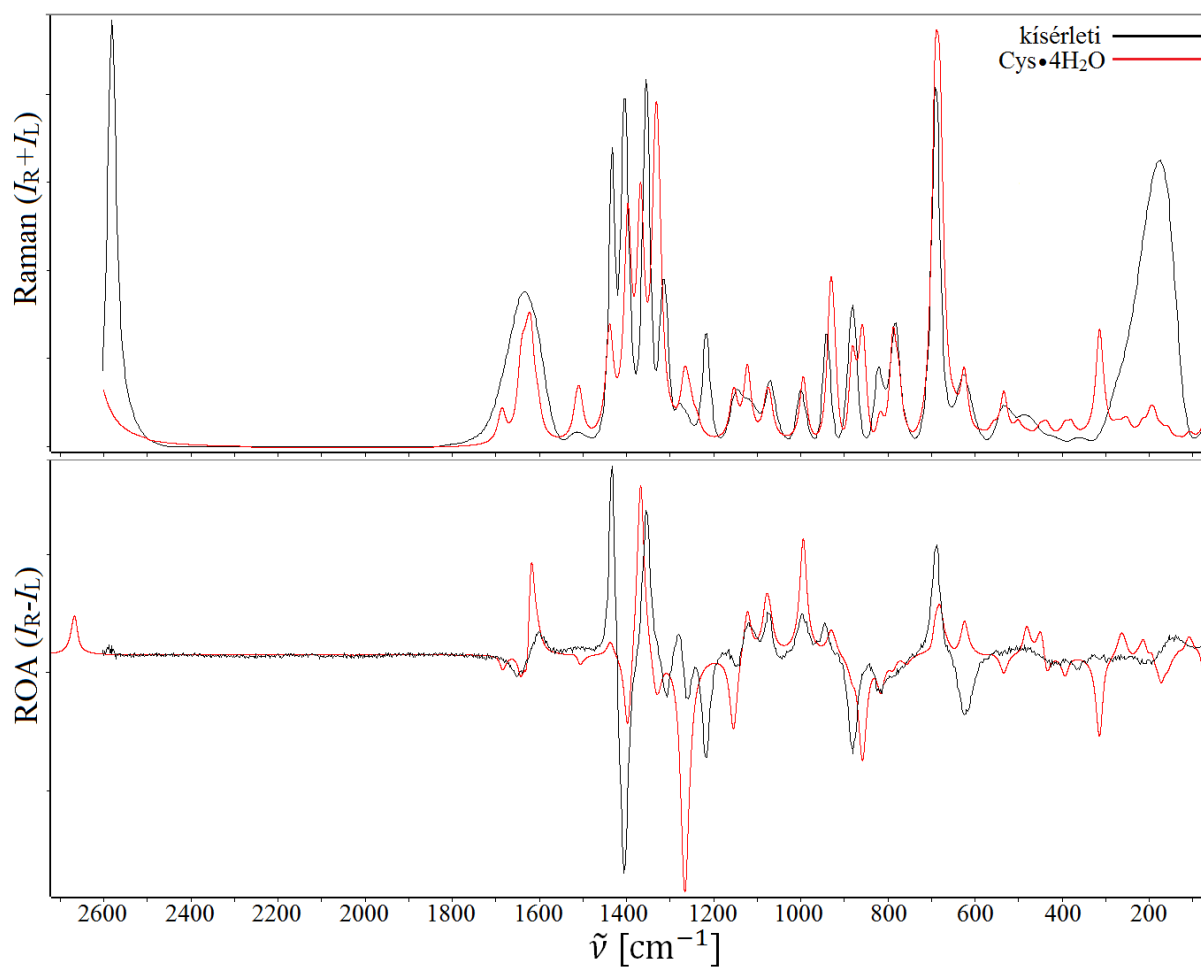
⁷ Azt, hogy a vízmolekulák milyen rezgésekben vesznek részt, a 7.1.2. alfejezetben tárgyalt komplexek rezgéseinek vizuális megjelenítése alapján állapítottam meg, melyhez a GaussView programot [33] használtam.



12. ábra. A 8. hivatkozásban közölt kísérleti és elméleti spektrumok

Megpróbáltam a fenti spektrumokhoz használt klaszterek szerkezeteinek reprodukálását más szerkezetekkel való próbálkozással együtt. Azt tapasztaltam, hogy azonos számítási paraméterek mellett (B3LYP/aug-cc-pVDZ szint, PCM oldószermodell) több hasonló, illetve egyes klasztereknél alacsonyabb szabadentalpiájú szerkezet is létezik. A 8. hivatkozásban a komplexek pontos szerkezete nem volt közölve, ezért arra gondoltam, hogy nem sikerült a komplexek kiindulási szerkezeti paramétereinek megfelelő beállítása a geometriaoptimaláskor. Témavezetőm kérésére Pecul és munkatársai elküldték nekünk szerkezeteik pontos koordinátáit, amik alapján a számításokat újra lefuttatva, az előzőekhez hasonló eredmények adódtak.

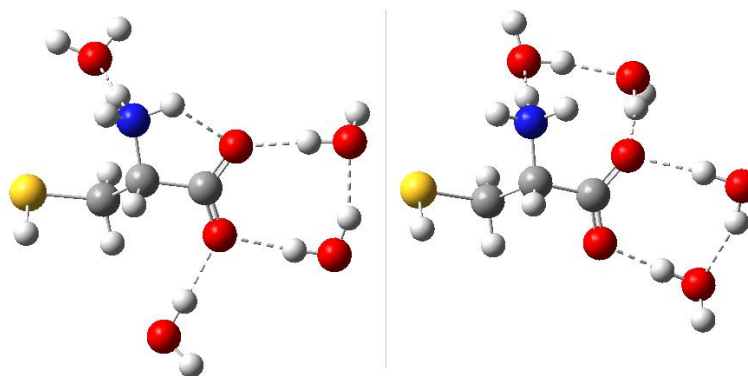
Mind az említett cikkben közölt klaszterek, mind a saját szerkezeteim a PCM modell segítségével az ikerionos ciszteinre (azaz a monomerre, vízmolekulák nélkül) kapott szerkezetekből megkaphatók úgy, hogy azok köré alkalmasan vízmolekulákat helyezünk el. Az 8. hivatkozásban közölt spektrumok számításához 25 klasztert használtak fel, vagyis minden monomer köré ötféleképpen helyeztek el vízmolekulákat. Ezekben a klaszterekben voltak az én szerkezeteimnél alacsonyabb szabadentalpiájúak is. Kiszámítottam a Raman és ROA spektrumokat az olyan négy legstabilabb komplexre, melyek szerkezete eltért a 8. hivatkozás klasztereinek szerkezetétől, és a 13. ábrán látható eredményt kaptam.



13. ábra. A kísérleti és az általam talált négy legstabilabb Cys•4H₂O klaszter alapján számított spektrumok összehasonlítása

Az általam talált szerkezetek szabadentalpiája nem alacsonyabb az összes 8. hivatkozásban közölt komplex szabadentalpiájánál, azonban az ilyen szerkezetekkel mindössze négy klaszter figyelembevétele esetén is jobb eredmény érhető el a kísérleti és elméleti spektrumok egyezésének tekintetében, ahogy az a 13. ábrán is látható.

A 14. ábra a 8. hivatkozásban közölt, és az általam talált új szerkezetek közti különbséget mutatja.



14. ábra. Pecul és munkatársai szerkezeteinek (baloldali) összehasonlítása az általam talált legstabilabb szerkezetekkel (jobboldali)

A 14. ábrán bemutatott szerkezetekben szaggatott vonallal jelöltem a hidrogénhidás kapcsolatokat. Látható, hogy Pecul és munkatársai klasztereik beállításánál azt helyezte előtérbe, hogy a karboxilátsoport mindkét oxigénatomja két-két hidrogénkötésben vegyen részt. Az explicit vízmolekulákat úgy helyezték a PCM modellből kapott monomerek köré, hogy az azokban megjelenő intramolekuláris hidrogénkötés megmaradjon. Ebből következően összesen csak két vízmolekula közt jön létre hidrogénkötés. Ha a vízmolekulákat úgy helyezzük el a ciszteinmolekula körül, ahogy az a jobboldali szerkezeten látható, az egyik karboxilát-oxigénhez csak egy hidrogén koordinálódik. Ebben a komplexben nem lép fel a karboxilátsoport baloldali komplexhez hasonló stabilizációja. Ennek ellenére a kísérleti eredményekkel jobb egyezés kapható a jobboldalihoz hasonló komplexekkel.

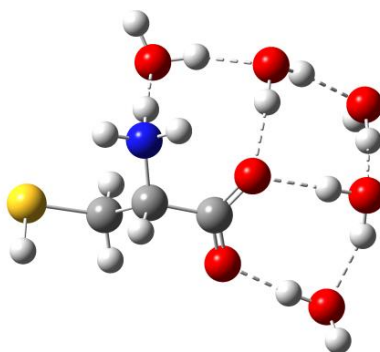
Az első koordinációs szféra explicit vizsgálatához így választott vízmolekulák lényeges eltérést eredményeznek a PCM modellel kapott konformerek, monomerek tekintetében is. Ezeket a konformereket ábrázoló 9. ábrán látszik, hogy a d és e konformerek közt érdemi eltérés csak az α -val jelölt, $H-S-C_{\beta}-C_{\alpha}$ atomok által meghatározott torziós szögükben van. Ez az eltérés kicsi, viszont a konformerek keresésénél alkalmazott küszöbértéknél, 10° -nál nagyobb. Az eltérés megmarad, ha klaszterek szerkezetét a baloldalihoz hasonlóan választjuk, a másik esetben azonban teljesen eltűnik.⁸ Intuitíve is azt várjuk, hogy az általam kapott szerkezetek közelebb lehetnek a valósághoz, mert ebben az esetben a molekulát oldatban körülvevő hidrátburok egy folytonos részét reprezentálják a vízmolekulák. Ezekben a szerkezetekben megjelenik a valóságban is jelenlévő hidrogénhidás kapcsolat a vízmolekulák közt páronként. Ez realisztikusabb megközelítés, mint az első solvatációs szférából önkényesen kiragadott oldószermolekulák explicit vizsgálata. Az így elhelyezett

⁸ A 13. ábrán látható spektrumokhoz ezért használtam csak négy klasztert, és nem ötöt.

vízmolekulák következménye továbbá, hogy a gyengébb intramolekuláris hidrogénkötések felszakadnak. Ez a kép valószínűleg szintén közelebb áll a valósághoz, hiszen az NH_3^+ -csoporthoz közelebb álló karboxilát-oxigén köré két vízmolekulát helyezve az (a geometriaoptimalás során) mintegy választhat, hogy inter- vagy intramolekuláris hidrogénkötést alakít ki. Megemlíteném, hogy a leucin-(D_2O) $_n$, valamint szerin-(D_2O) $_n$ klaszterek VCD spektroszkópiái vizsgálatával foglalkozó publikációkban [9–11] is hasonló szerkezeteket kaptak. Ezekben a szerkezetekben is megjelenik az NH_3^+ -csoporttal hidrogénkötésben lévő vízmolekulák közti hidrogénkötés. Továbbá azt is kiemelik egy a leucin spektrumában 1350 cm^{-1} -nél jelentkező VCD sáv esetén, hogy amennyiben a komplex szerkezetében megmarad az intramolekuláris hidrogénkötés, abban az esetben ez a sáv nagyon rossz egyezést mutat a kísérleti eredményekkel [10]. A szerin vizsgálata során, annak hat vízmolekulával alkotott komplexeiben sem látható intramolekuláris hidrogénkötés [9,11].

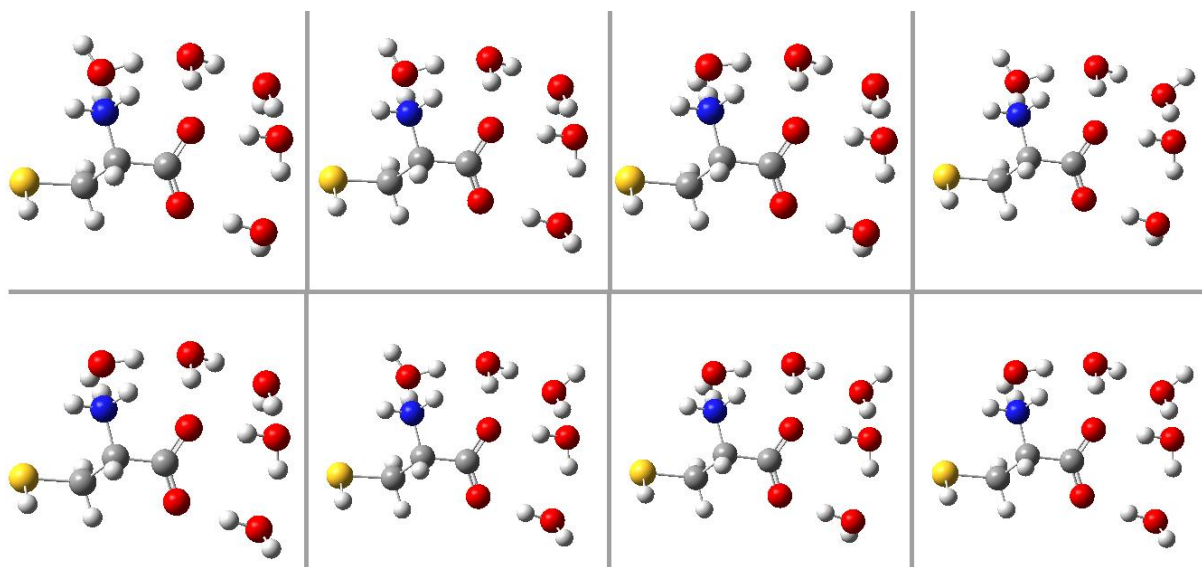
A jobboldalihoz hasonló szerkezetek energiája és entalpiája alacsonyabb a baloldalihoz hasonló szerkezetekénél, azonban szabadentalpiájuk nagyjából megegyező, de vannak olyan baloldalihoz hasonló szerkezetek is, melyeké alacsonyabb. Ennek egyik lehetséges oka, hogy az alkalmazott DFT módszer alulbecsli a jobboldalihoz hasonló szerkezetek entrópiáját. Ennek, valamint egy, a későbbiekben tárgyalt probléma vizsgálatára kiegészítő számításokat végeztem MP2 módszerrel, melyek eredményeit a fejezet végén ismertetem.

Minthogy az ilyen szerkezetekkel, melyekben megjelenik a vízmolekulák közti hidrogénkötés, lényegesen jobb egyezés érhető el a kísérleti és elméleti spektrumok között, megpróbáltam ezen gondolatmenetet követve olyan szerkezetek keresni, melyekben az összes vízmolekula között folytonos hidrogénkötéses kapcsolat alakulhat ki. Az ilyen szerkezetekhez legalább öt vízmolekula szükséges, melyek elhelyezkedését a 15. ábra szemlélteti.



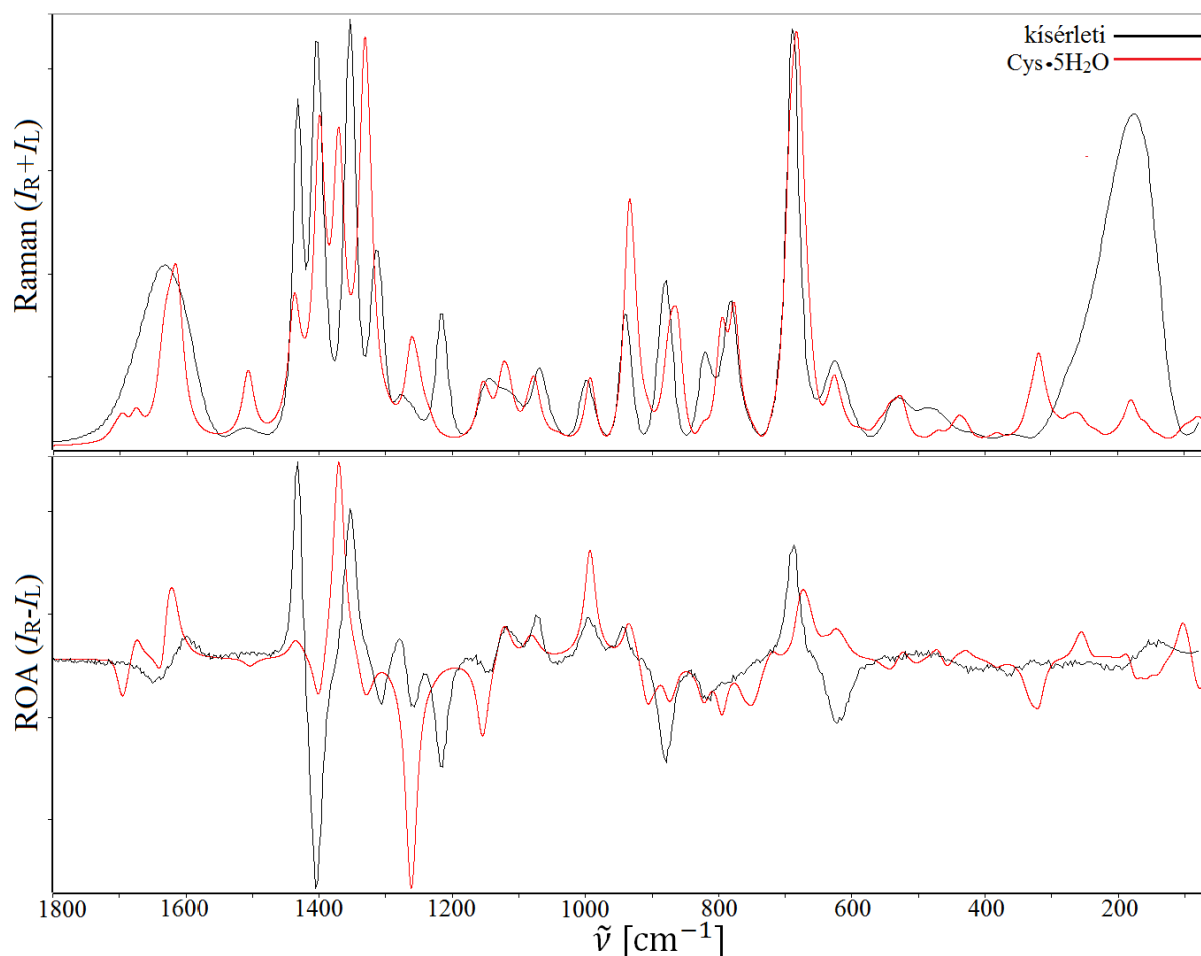
15. ábra. A Cys-5H₂O klaszterekben lévő vízmolekulák közti folytonos hidrogénhidas kapcsolatok szemléltetése

Látható, hogy az így választott klaszterek esetében a vízmolekulákat tekintve három olyan hidrogén is található, melyek állása nem hidrogénkötésekkel „rögzített”. Azaz állhatnak más irányba úgy, hogy azok „másik” nemkötő párjukhoz koordinál a szomszédos vízmolekula egyik hidrogénje. A vízmolekulák ciszteinhez képesti orientációjának megváltozása a ROA spektrum több sávjánál akár előjeles eltérést is eredményez, ezért ennek vizsgálata fontos. Ezeknek a nem „rögzített” hidrogéneknek az állását változtatva minden konformerre nyolc klaszter kapható, melyek szerkezetét a 16. ábra szemlélteti a b konformer példáján.



16. ábra. A Cys·5H₂O klaszterek szerkezeti felépítésének elve a b konformer példáján

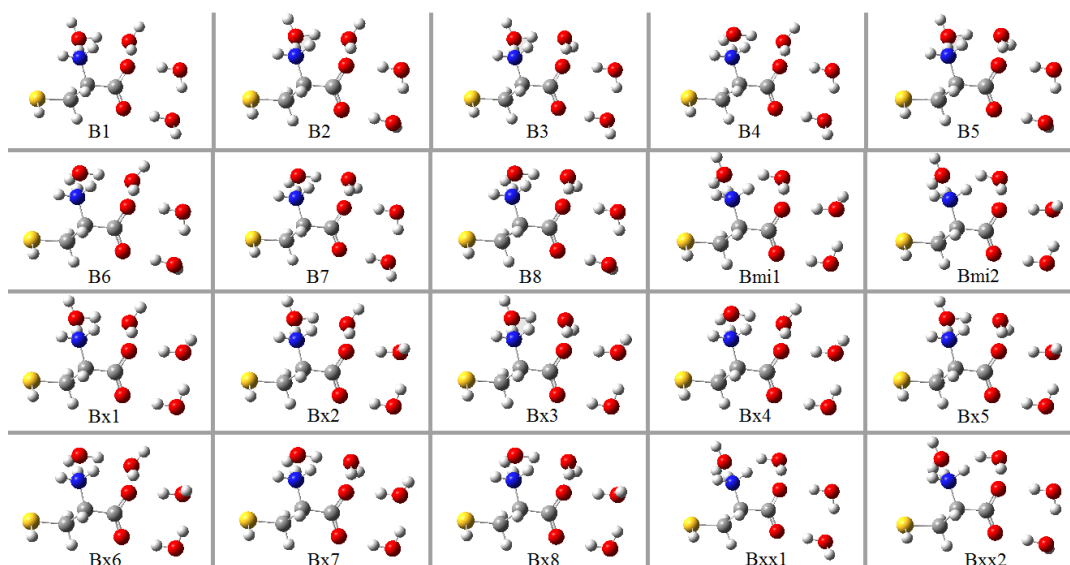
Az így kapott összesen 32 komplexre számított, spektrumokat a 17. ábra mutatja.



17. **ábra.** A Cys·5H₂O klaszterekkel kapható elméleti spektrumok összehasonlítása a kísérletiekkel

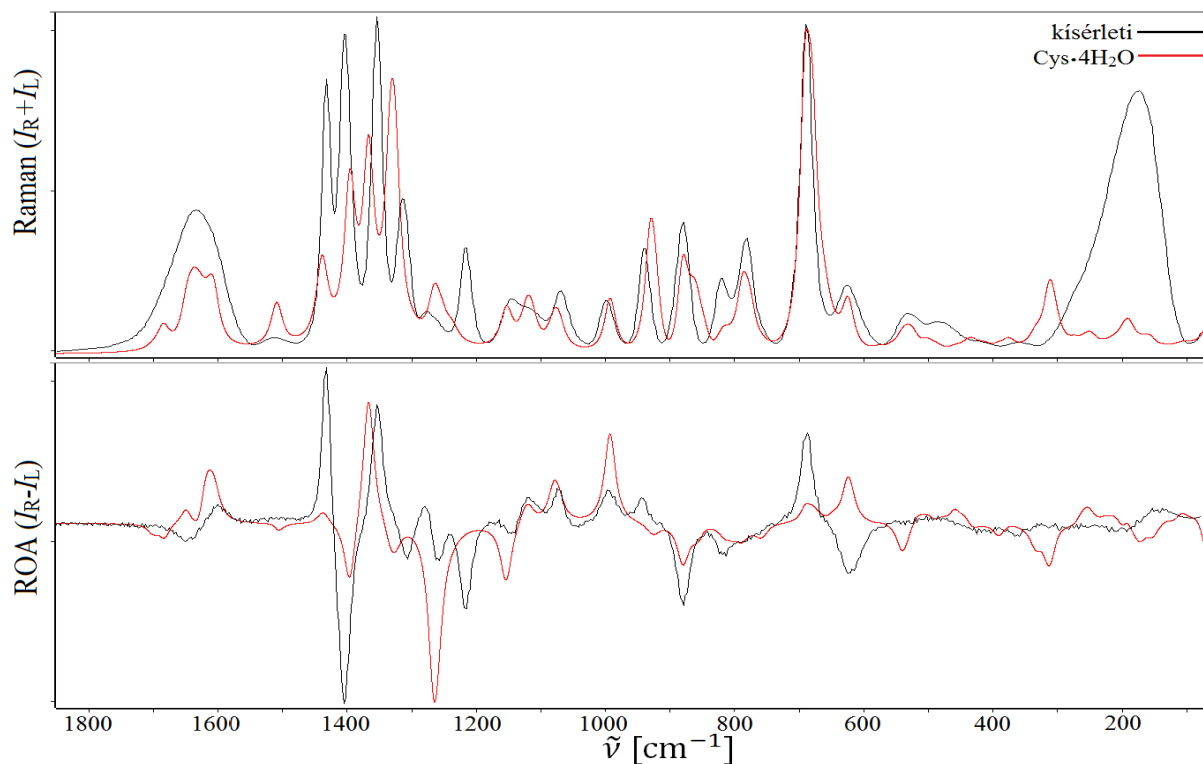
A spektrumokon látszik, hogy az ötödik vízmolekula hozzáadásával még úgy sem értem el jelentősen jobb egyezést a kísérleti spektrumokkal, hogy az elméleti spektrumok négy helyett harminckét szerkezet hozzájárulását tartalmazzák. Ennek alapvetően az lehet az oka, hogy a klaszterekhez ötödikként hozzáadott vízmolekula a ciszteinnel nincs hidrogénkötéses kapcsolatban, így annak hatását már jól leírja a PCM modell. Mivel az ötödik vízmolekula érdemi változást nem okozott a spektrumokban, viszont a számítások idejét jelentősen megnövelte, visszatértem a cisztein négy vízmolekulával alkotott komplexeinek vizsgálatához.

Ezekben a szerkezetekben is vannak a vízmolekuláknak olyan hidrogénjei, melyek állását a hidrogénkötések megváltoztatása nélkül változtatni lehet (B1-B8). Megváltoztatható továbbá a hidrogénkötések iránya, azok irányának tekintve a donor, illetve akceptor relatív elhelyezkedését. Azokat a szerkezeteket, melyekben a vízmolekulák közt kialakuló mindkét hidrogénkötés a másik irányba néz, mint a B1-B8 szerkezeteknél „mi”-vel jelöltem. A jelölésekben látható „x” és „xx” az egyik, illetve másik hidrogénkötés irányának megváltoztatását jelzi.



18. ábra. A Cys·4H₂O klaszterek szerkezeti felépítésének elve a b konformer példáján

Az összes konformer esetén ezekkel analóg komplexekből, azaz összesen 80 klaszterből a 19. ábrán látható spektrumot kaptam. Amennyiben a szerkezetekhez hozzáveszem a 8. referencia klasztereit is, és úgy számítom a súlyozott spektrumot, az eredmény lényegesen rosszabb. Ez a spektrum a függelékben megtalálható (31. ábra) az egyes klaszterek szabadentalpiáik alapján számított mólfraekcióival, valamint stabilitási sorrendjével együtt (6. táblázat).



19. ábra. A Cys·4H₂O klaszterekkel kapható elméleti spektrumok összehasonlítása a kísérletiekkel

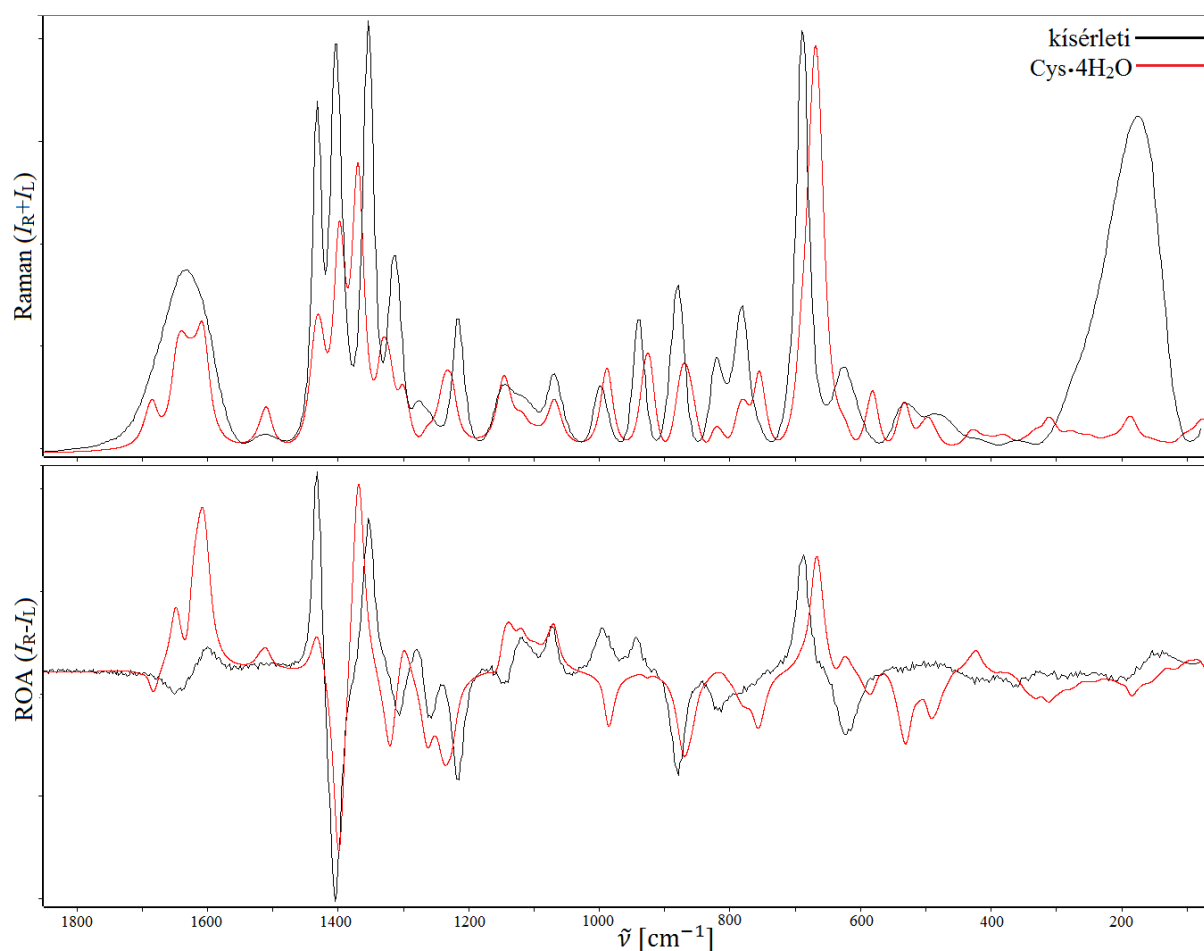
Az 1800–1550 cm^{-1} tartományban lévő rezgések a kísérleti Raman spektrumban nem látszanak a víz deformációs rezgése miatt, ezért azokról csak a ROA spektrum alapján szerezhethünk információt. Ebben a tartomány a kísérleti ROA spektrum egy-egy közepes intenzitású negatív és pozitív sávot mutat, melyek elsősorban a karboxilátcsoport nyújtási, valamint az NH_3^+ -csoport deformációs, és a víz deformációs rezgéseikhez tartoznak. Az elméleti spektrum ebben a tartományban jelentkező három sávja nem feleltethető meg egyértelműen a kísérletieknek, de a két szélső, habár intenzitásarányuk tekintetében nem, sávalakjukban hasonlít a kísérleti spektrum sávjaira. A következő sáv 1505 cm^{-1} -nél a kísérleti spektrumok közül csak a Ramanban látszik, illetve a ROA spektrumban talán egy nagyon gyenge pozitív sáv jelentkezik ennél a hullámszámnál. Ez a rezgés elsősorban az NH_3^+ -csoport esernyőző-, szimmetrikus deformációs rezgésének feleltethető meg. Ennek a sávnak az előjele és intenzitása minden konformerre különbözik, ahogy az azokból képzett klaszterek csoportjaira is eltérő. Látható, hogy ennél a sávnál a számított ROA spektrum nem ad jó egyezést a kísérletivel, aminek egyik lehetséges oka, hogy a klaszterek relatív populációi elég bizonytalanok, minthogy a DFT módszerek általában rosszul becslik a másodrendű kémiai kötések energiáit. A másik lehetséges probléma az, hogy az NH_3^+ -csoportnak csak az egyik hidrogénje vesz részt explicit vízmolekulával alkotott hidrogénkötésben, és intuitíve azt gondolhatjuk, hogy vizes közegben ez mindhárom hidrogén esetén kialakul, valamint a [17] publikációban is ilyen szerkezetet közölnek. Mivel ez a rezgés a vízmolekulák deformációs rezgésével csatol, elképzelhető, hogy a különböző orientációjú vízmolekulákat tartalmazó szerkezetek kiátlagolják egymást, és így ez a sáv a ROA spektrumban nem figyelhető meg. Észrevehetjük, hogy a 8. hivatkozásban közölt elméleti ROA spektrumban – a kísérleti eredményekkel látszólag egyezően – ez a sáv nem jelentkezik. A következő sáv relatív intenzitása is közelebb van a mért értékhez, mint az általam kapott spektrumban. Továbbá az is megfigyelhető, hogy a 8. hivatkozásban közölt Raman spektrumból is hiányzik az 1505 cm^{-1} -es sáv. Azonban azokra a szerkezetekre kapott rezgéseket vizuálisan megjelenítve, megállapítható, hogy az NH_3^+ -csoport esernyőző rezgésének sávja az, ami eltolódott az 1430 cm^{-1} -nél jelentkező kísérleti sáv közelébe, feltételezhetően az intramolekuláris hidrogénkötés megmaradásának köszönhetően, így az azzal való látszólagos egyezés is hamis. Az 1430–1150 cm^{-1} tartományban lévő sávok esetében az elméleti spektrumok a PCM modellel számolt spektrumnál rosszabbul adják vissza a kísérleti eredményeket. Ennek oka is valószínűleg a relatív populációk bizonytalanságában keresendő. Amikor a vízmolekulákat a ciszteinmolekula köré helyeztük, nagymértékben megváltozott a konformerek relatív populációja. Ezt a változást mutatják a 2. táblázat adatai. Ebben a tartományban a molekula

szénvázának deformációs rezgéseirez rendelhető sávok találhatók, melyek intenzitása szintén nagymértékben eltér a különböző monomer szerkezetek esetén, vagyis kifejezetten érzékenyek a konformációs változásokra.

2. táblázat. A Cys·4H₂O klaszterek esetében kapott konformereloszlás összehasonlítása a csak implicit oldószermodell alkalmazásával, ikerionos monomer szerkezetekre adódott eredményekkel

	$\sum x_a$	$\sum x_b$	$\sum x_c$	$\sum x_d$	$\sum x_e$
IEF-PCM	0,3663	0,1497	0,4025	0,0566	0,0250
Cys·4H₂O	0,0252	0,4847	0,0162	0,4739	

A 2. táblázat adatai alapján látható, hogy a PCM modell mellett explicit vízmolekulák alkalmazása nagymértékben megváltoztatja a konformereloszlást. Amennyiben feltételezzük, hogy az alkalmazott számítási szint (B3LYP/aug-cc-pVDZ) megfelelően adja vissza a ROA spektrum sávjainak relatív intenzitásait, a kísérleti spektrumokkal való jobb egyezés érdekében megpróbálkozhatunk a komplexek relatív populációinak változtatásával. Mivel a DFT sokszor rosszul becsli az intermolekuláris hidrogénkötések energiát, feltételezhetjük, hogy explicit vízmolekulák figyelembevételkor a relatív populációk bizonytalanabbá válnak. Megállapítható azonban a 19. ábra spektrumairól, hogy az explicit vízmolekulák hatására a sávok frekvenciájában már nem tapasztalható a tisztán PCM modell alkalmazásával adódott spektrumokban jelentkező eltolódás. A relatív populációk nagymértékű megváltozásának és a frekvenciákban tapasztalható javulásnak egy lehetséges értelmezése, hogy a ciszteinmolekula azon részei, melyeknél specifikus solvatáció fellépésére számíthatunk jobban leírhatók az explicit vízmolekulákkal kombinált PCM modell segítségével. Ennek következményeként az egyes szerkezetekre számított spektrumok pontosabbak. Ez azonban csak a molekula egy részének adja precízebb leírását, ellenben a konformerek relatív populációit tekintve feltételezhetően egyenletesebb eloszlást kapnánk, ha a ciszteint minden oldalról vízmolekulák vennék körül, vagyis az első solvatációs szféra egészét vizsgálnánk expliciten. A PCM modellben a közeg az egész molekulát körülveszi, ezért azt gondolhatjuk, hogy azzal a módszerrel kapott konformereloszlás közelebb állhat a valós eloszláshoz. Megpróbálkoztam azzal, hogy az egyes konformerek klasztereit a számított spektrumban azokkal a faktorokkal súlyoztam, amit a monomer szerkezetekre a tisztán PCM modell alkalmazásával kaptam. Az egyes konformerek csoportjain belüli relatív populációkat természetesen megtartottam. Az így kapott spektrumok a 20. ábrán láthatók.



20. ábra. A Cys·4H₂O klaszterekből, a különböző konformerekhez tartozó klaszterek spektrumainak a tisztán PCM modellből kapott Boltzmann-faktorokkal súlyozott elméleti és a kísérleti spektrumok összehasonlítása

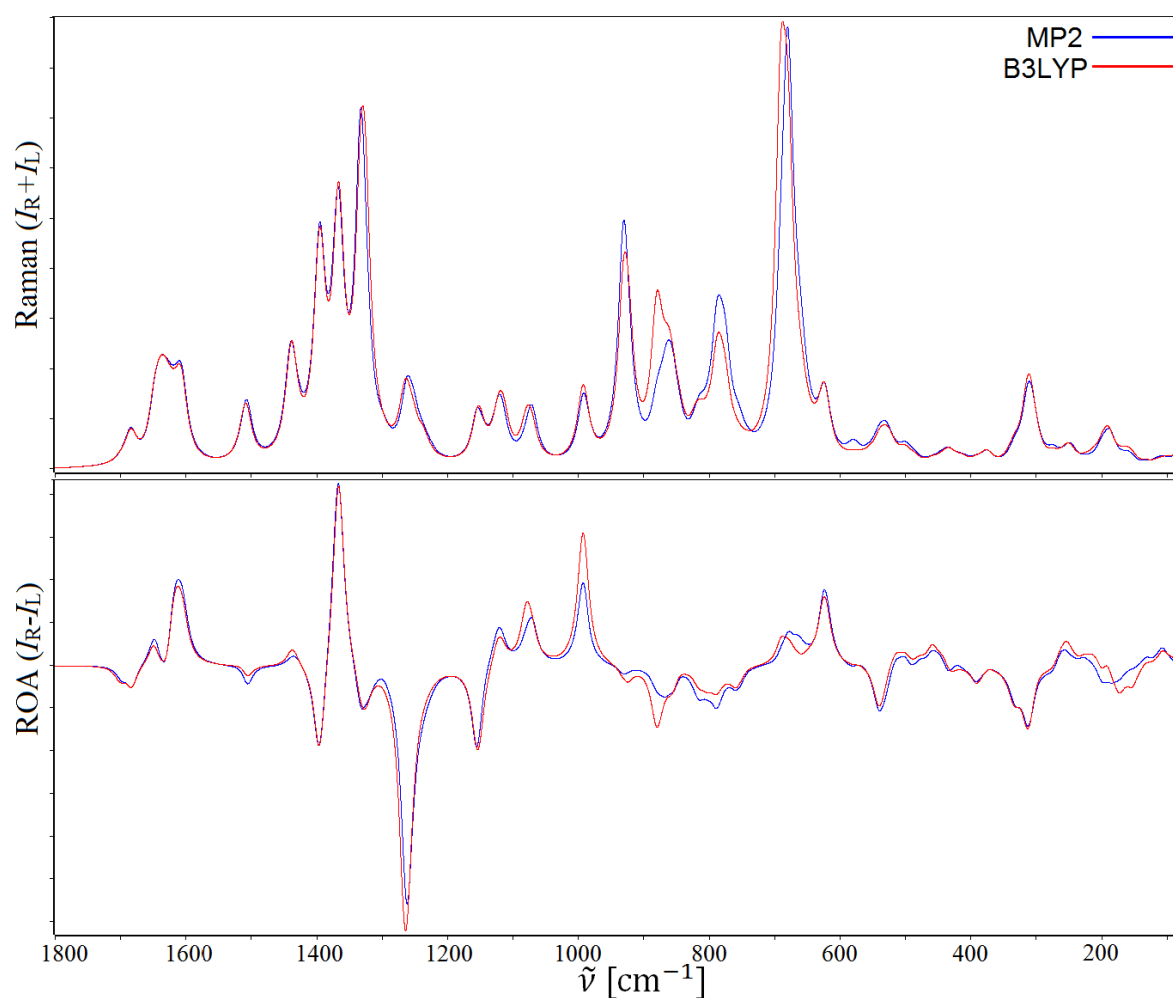
A 20. ábra spektrumain látható, hogy az így választott súlyfaktorok összességében nem adnak jobb eredményt. Megállapítható azonban, hogy több sáv esetén jobb egyezés kapható a kísérleti és elméleti spektrumok közt ezzel a súlyozással, elsősorban a sávalakok tekintetében. Ezekből az eredményekből csak annyit vonhatunk le következtetésként, hogy található ezen szerkezetek estében is olyan Boltzmann-faktorok, melyekkel elérhető a 19. ábrán bemutatott spektrumoknál jobb eredmény. A PCM modellből kapott konformereeloszlás feltételezhetően a klaszterekre azért sem érvényes, mert lényegesen megváltoztak a monomer szerkezetek geometriái az explicit vízmolekulák hatására. Ezt a változást szemlélteti a 3. táblázat.

3. táblázat. A Cys·4H₂O klaszterekben lévő ciszteinmolekulák szerkezetének összehasonlítása a csak PCM modellel kapott konformerek szerkezetével a 8. ábrán jelölt torziós szögek alapján

		a	b	c	d	e
PCM	$\alpha/^\circ$	66	297	251	113	78
	$\beta/^\circ$	291	188	293	183	169
	$\gamma/^\circ$	137	107	139	108	130
	$\delta/^\circ$	98	20	94	18	108
Cys·4H₂O	$\alpha/^\circ$	63 – 71	290 – 291	256 – 266	84 – 90	
	$\beta/^\circ$	303 – 305	177 – 178	301 – 309	172 – 174	
	$\gamma/^\circ$	139 – 146	131 – 135	132 – 146	132 – 137	
	$\delta/^\circ$	67 – 77	67 – 78	302– 313	73– 82	

Mint már említettem, néhány klaszter esetében végeztem kiegészítő számításokat MP2/aug-cc-pVDZ szinten PCM modellel mellett. Ezen számítások célja a klaszterek relatív populációi bizonytalanságának vizsgálata, valamint annak eldöntése volt, hogy lehetnek-e stabilabbak vizes közegben olyan cisztein-víz komplexek, melyekben intramolekuláris hidrogénkötés lép fel, vagy az intermolekuláris a kedvezőbb. A rendelkezésre álló számítási kapacitás mellett nem volt lehetőségem az összes ikerionos klaszter (105) esetében elvégezni ezeket a számításokat, így összesen 31 klaszterre számoltam. Az első kérdéskör vizsgálatára az egyes konformerekhez tartozó klaszterek csoportjait további négy csoportra osztottam a vízmolekulák kölcsönös orientációi alapján. (A b konformerre például B1–B8, Bmi1–Bmi2, Bx1–Bx8 és Bxx1–Bxx2.) Az így kapott 16 csoport mindegyikéből egy-egy klaszter esetében végeztem el az MP2 számításokat, majd a kapott szabadentalpiákból meghatároztam ezen szerkezetek mólfraekcióját, amit hozzárendeltem az adott csoporthoz. A csoportokon belüli eloszlását a klasztereknek, azok DFT számításokból kapott szabadentalpia különbségeiből határoztam meg.⁹ A (B3LYP/aug-cc-pVDZ szinten számított) Raman és ROA spektrumok súlyozását így elvégezve a 19. ábrán látható spektrumokhoz igen hasonlóakat kaptam, így inkább az ott látható elméleti spektrumokkal hasonlítom össze ezeket a kísérleti spektrumok helyett.

⁹ Sajnos ez nem minden esetben szerencsés közelítés, mivel valószínűleg több csoporton belül is megfordult a stabilitási sorrend a B3LYP/aug-cc-pVDZ elméleti szint eredményeihez képest, ahogy azt a 7. táblázat adatai is mutatják.



21. ábra. A Cys·4H₂O klaszterekből, a konformerek és a különböző orientációjú explicit vízmolekulák által meghatározott 16 csoport spektrumainak az MP2/aug-cc-pVDZ szintű számítások alapján kapott mólfrakciókkal súlyozott elméleti spektrumainak összehasonlítása a B3LYP/aug-cc-pVDZ szinten kapott spektrumokkal

A 21. ábrán látható, hogy a kétféleképpen súlyozott spektrumok szinte megegyeznek, amiből arra következtethetnénk, hogy a két elméleti szint hasonló eredményeket ad a relatív populációk tekintetében erre a 16 klasztercsoportra. A 16 csoport relatív populációját és a konformerek eloszlását a két különböző elméleti szinten a 4. táblázat mutatja.

4. táblázat. A konformerek és a különböző orientációjú explicit vízmolekulák által meghatározott 16 csoport mólfraakciója, valamint a konformereloszlás az MP2/aug-cc-pVDZ és B3LYP/aug-cc-pVDZ elméleti szinten

csoport jele	x^{MP2}	$\sum x^{\text{B3LYP}}$	x^{MP2}	$\sum x^{\text{B3LYP}}$
A	0,0433	0,0177	0,0996	0,0252
Ami	0,0018	$2,01 \cdot 10^{-4}$		
Ax	0,0524	$7,24 \cdot 10^{-3}$		
Axx	0,0020	$9,50 \cdot 10^{-5}$		
B	0,5202	0,2913	0,7308	0,4847
Bmi	$8,34 \cdot 10^{-4}$	$1,85 \cdot 10^{-3}$		
Bx	0,2092	0,1907		
Bxx	$5,12 \cdot 10^{-4}$	$8,54 \cdot 10^{-4}$		
C	0,0288	0,0109	0,0438	0,0161
Cmi	$1,95 \cdot 10^{-4}$	$4,74 \cdot 10^{-5}$		
Cx	0,0141	$4,88 \cdot 10^{-3}$		
Cxx	$6,28 \cdot 10^{-4}$	$3,21 \cdot 10^{-4}$		
D	0,0676	0,3658	0,1258	0,4739
Dmi	$6,51 \cdot 10^{-4}$	$3,26 \cdot 10^{-4}$		
Dx	0,0574	0,1068		
Dxx	$1,35 \cdot 10^{-4}$	$1,02 \cdot 10^{-3}$		

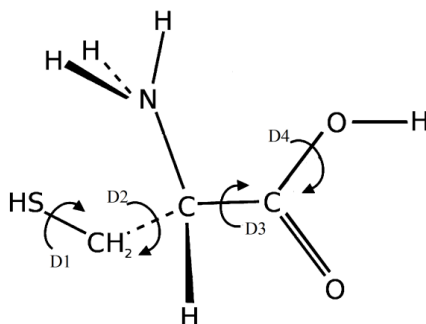
A 4. táblázat adatai alapján látható, hogy a csoportok és konformerek eloszlása jelentősen megváltozott a másfajta súlyozásnak köszönhetően. Az, hogy a spektrumok alig változtak, annak köszönhető, hogy mindkét esetben a b és d konformerek klasztereinek van a legnagyobb hozzájárulása a teljes eloszláshoz, és ahogy ezen konformerek geometriai paraméterei (ld. 3. táblázat), úgy spektrumaik is igen hasonlóak.

Az MP2 számítások másik célja az volt, hogy valamivel biztosabban el tudjuk dönteni, hogy vizes közegben a cisztein esetén az intra- vagy intermolekuláris hidrogénkötések a kedvezőbbek. A kapott eredmények alapján csak annyit mondhatunk, hogy minden konformer esetén azok a klaszterek a legstabilabbak, melyekben csak intermolekuláris hidrogénkötés van, azonban az „mi” és „xx” jelű csoportok szabadentalpiája rendre magasabb, mint a 8. hivatkozásban közölt szerkezeteké. A számításokból kapott mólfraakciók és a szerkezetek stabilitási sorrendje a függelékben megtalálható (7. táblázat).

7.2. A protonált forma konformációs analízise

7.2.1. Az eredmények értelmezése PCM oldószermodellel

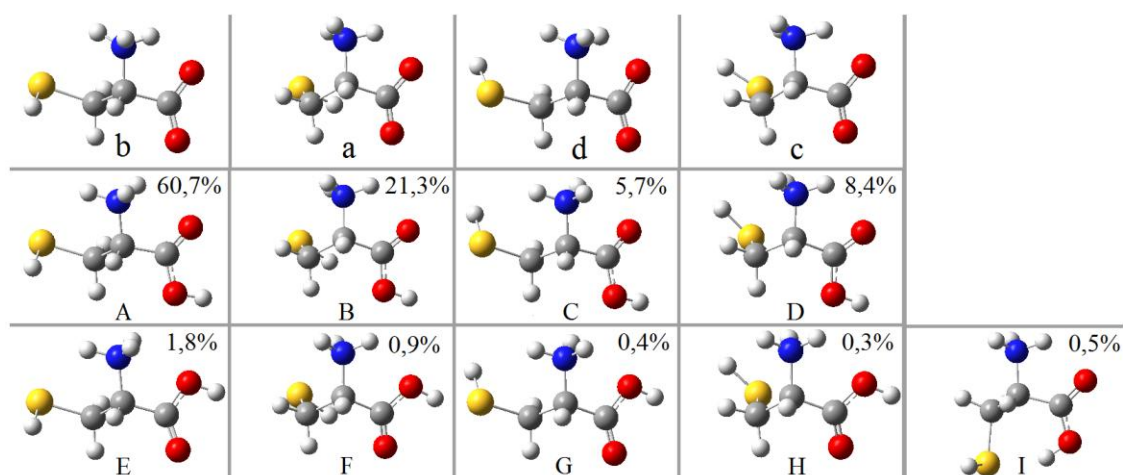
A protonált ciszteinmolekulának konformációs analízisét a 8. hivatkozásban leírt módszerhez hasonlóan végeztem. A 21. ábrán látható négy diéderes szöget 60° -onként szisztematikusan változtatva 6^4 , azaz 1296 kiindulási szerkezetet kaptam úgy, hogy kezdetben a változtatott paraméterek állandó értéken tartása mellett optimalám a molekulák többi paraméterét B3LYP funkcionált alkalmazva, 3-21+G* bázison.



22. ábra. A protonált forma konformációs analízise során szisztematikusan változtatott torziós szögek

A kiindulási 1296 szerkezetet, először szintén 3-21+G* bázison optimalám, melyből 52 konformert kaptam. Azokat a szerkezeteket tekintettem azonos konformernek, melyeket egymással összehasonlítva, azok minden változtatott torziós szögének (D1, D2, D3, D4) eltérése 10° -nál kisebb volt. Érdekes megjegyezni, hogy az eltérések többnyire a $2\text{--}3^\circ$ -ot sem haladták meg. Az így kapott 52 konformer mindegyikéből kiválasztottam a legalacsonyabb energiájú szerkezetet, melyeket újraoptimalám, ezúttal aug-cc-pVDZ bázist alkalmazva. Ennek eredményeként a konformerek száma 38-ra csökkent. A szabadentalpiákból kiszámítottam a különböző szerkezetek mólfrakcióit.¹⁰ Mindössze öt olyan szerkezet van, amelynek 1% feletti a mólfrakciója. Azonban ha a magasabb szabadentalpiájúakat is megvizsgáljuk, érdekes összefüggést fedezhetünk fel a protonált- és ikerionos formák konformerei közt. A 23. ábra ezt az összefüggést mutatja, melyen a négy legstabilabb ikerionos konformer és a kilenc legstabilabb protonált konformer látható.

¹⁰ A 38 konformer eloszlását először csak azok elektronikus energiáiból számítottam, ami alapján kilenc konformer mólfrakciója adódott 0,005 fölöttinek. A tizedik legstabilabb konformer eloszláshoz való hozzájárulása már csak 0,1 % volt. Frekvenciaszámítást csak a kilenc legstabilabb konformer esetében végeztem, melyből megkaptam azok szabadentalpiáit is.



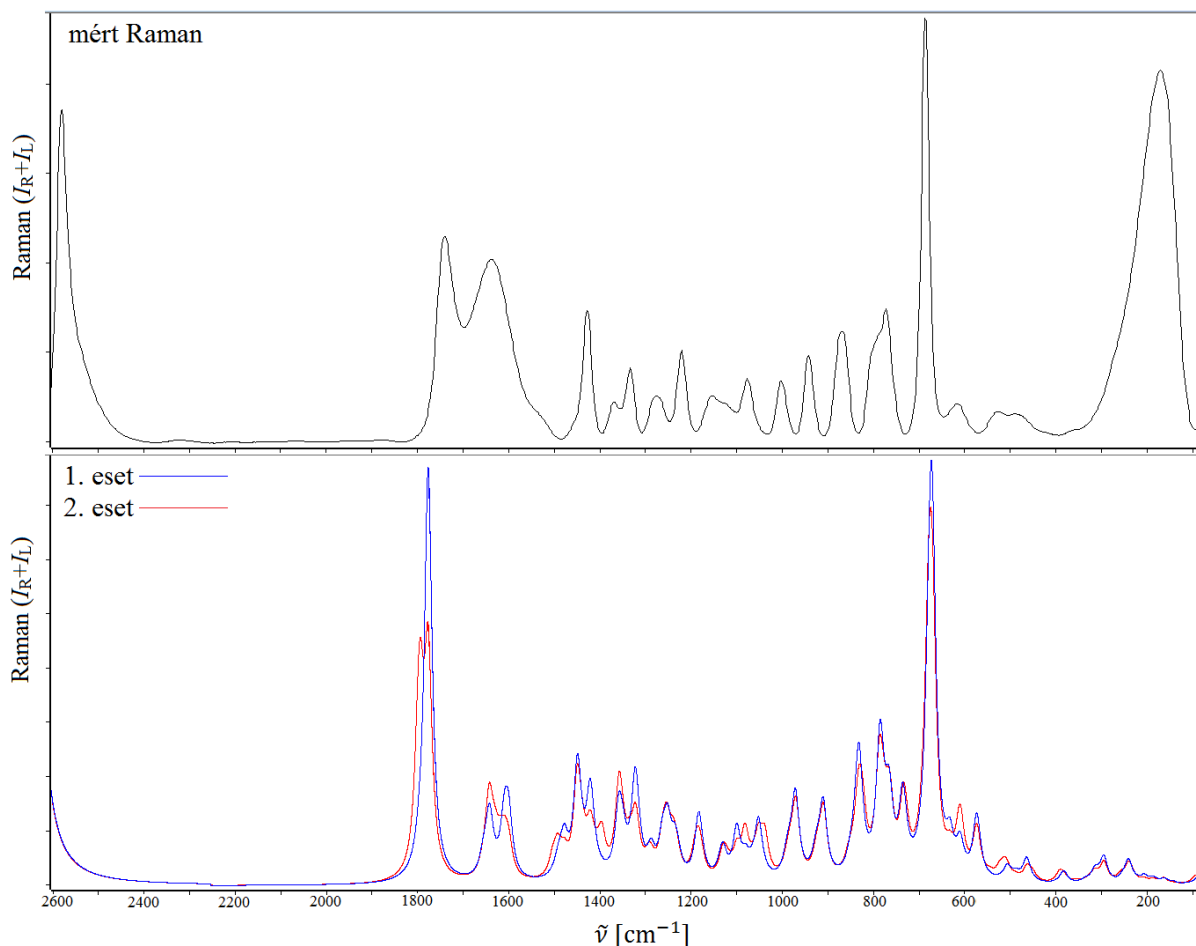
23. ábra. A protonált és ikerionos konformerek összehasonlítása

A 23. ábra felső sorában az ikerionos forma négy legstabilabb konformere látható, az alsó kettőben pedig a kilenc legstabilabb protonált konformer. Megfigyelhető, hogy a kilenc legstabilabb konformer közül nyolc szoros kapcsolatban áll az ikerionos konformerekkel. Azokból mintegy levezethetők karboxilátcsoportjuk „valamelyik” oxigénjének protonálásával. A hetedik legstabilabb konformerben (I) egy gyenge hidrogénkötésszerű intramolekuláris kölcsönhatás alakul ki a karboxil-hidrogén és az oldallánc kénatomjának nemkötő elektronpárja közt. Már az ikerionos forma vizsgálatakor megállapíthattuk, hogy explicit oldószermodell alkalmazása esetén az ilyen jellegű kölcsönhatások elveszítik jelentőségüket az intermolekuláris kölcsönhatásokkal szemben, ezért ezzel az alakkal a továbbiakban nem foglalkozom. Megfigyelhető továbbá, hogy a négy legstabilabb konformer konformereloszláshoz való hozzájárulása lényegesen nagyobb, mint azon konformereké, melyeket a megfelelő ikerionos formák NH_3^+ -csoportjukhoz közelebb álló karboxilát-oxigénjük protonálásával nyerhetünk. Ennek alapvetően az lehet az oka, hogy az E–H szerkezetek esetében nem alakul ki intramolekuláris hidrogénkötés, mely nagymértékű stabilizációt jelent. A fentiek értelmében ezek a szabadentalpiabeli különbségek explicit vízmolekulák jelenlétében várhatóan csökkennek, illetve akár meg is fordulhat a rokonkonformerek (A–E, B–F, C–G, D–H) stabilitásának sorrendje. Ezekből következően mindenképpen szükségesnek láttam mind a nyolc protonált konformer vizsgálatát.

A 6.2. részben említettem, hogy az S–H, illetve karbonil vegyértékrezgéshez tartozó ROA sávok nagyon érzékenyek a kísérleti körülményekre (nemrobosztus sávok), ezért ezeket a ROA spektrumokban nem vizsgálom.

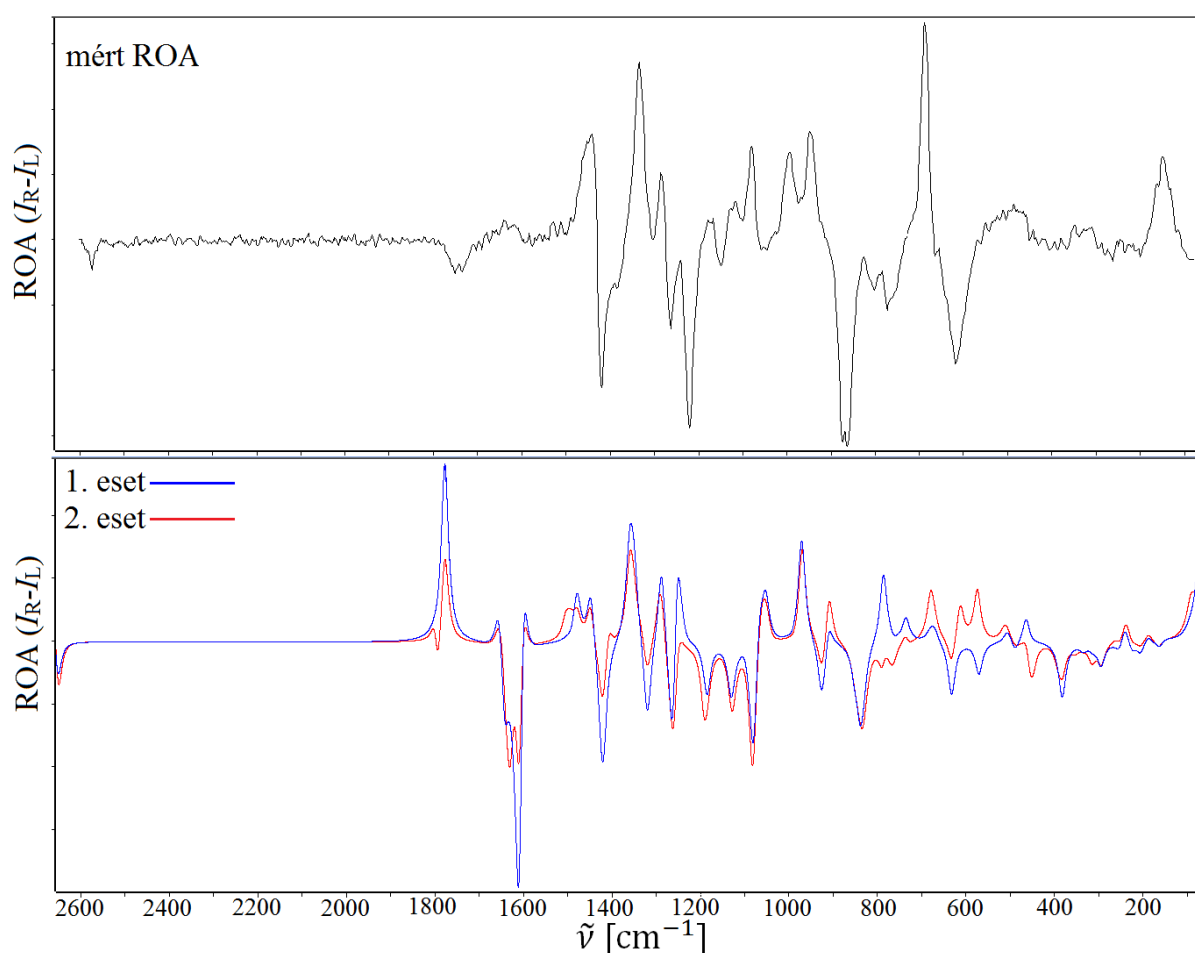
Feltételezésem igazolandó, miszerint az A–D és E–H szerkezetek közti nagy szabadentalpiabeli különbségek nem reálisnak, az egyes szerkezetek spektrumának súlyozását

kétféleképp is elvégeztem. Az első esetben a kapott szabadentalpiáknak megfelelően súlyoztam az egyes szerkezetekre számított spektrumokat. A második esetben az A–D és E–H szerkezeteket két külön csoportként kezeltem, melyeken belül kiszámítottam a súlyozott spektrumokat, majd azokat azonos súllyal összeadtam (24. és 25. ábra).



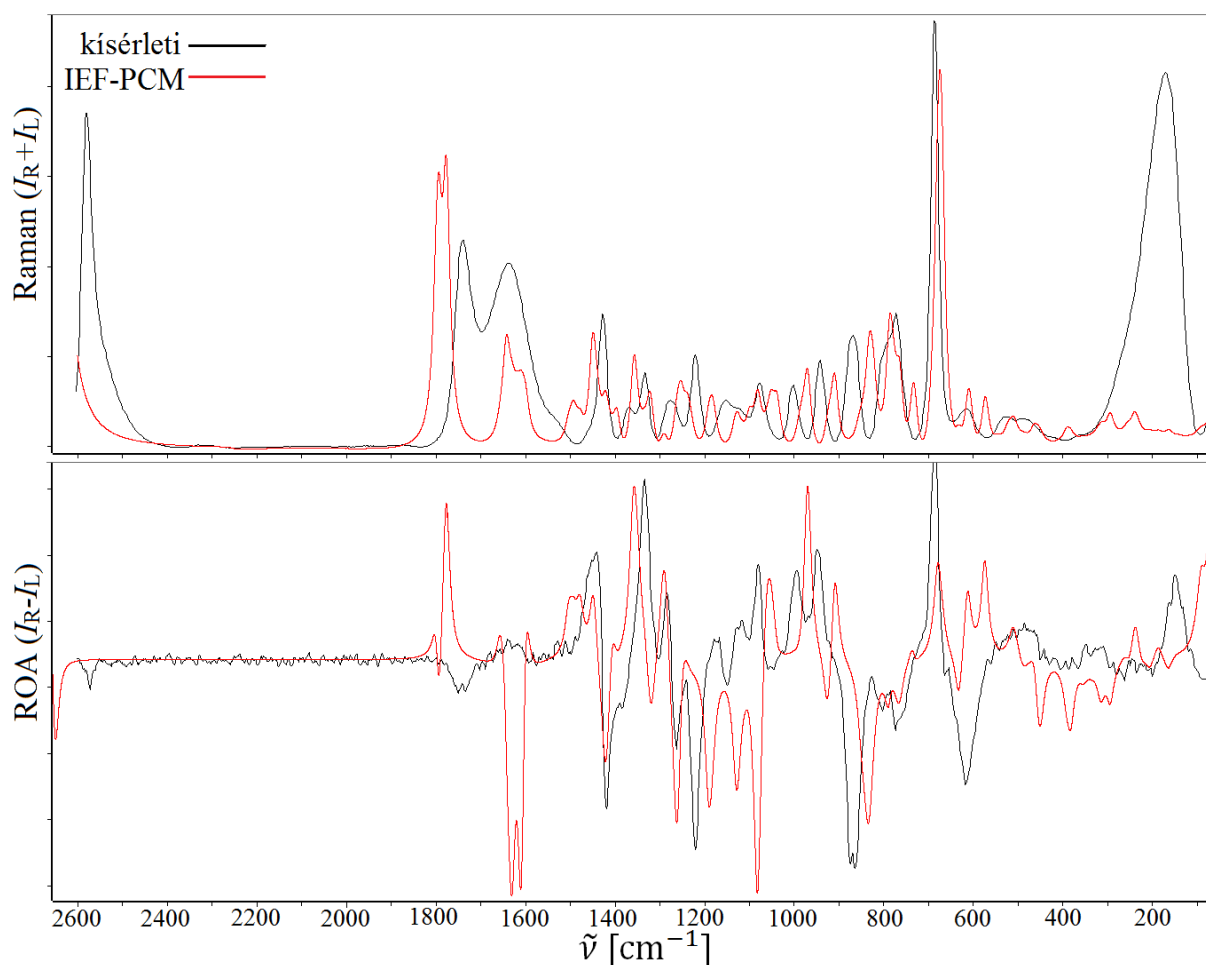
24. ábra. A mért Raman spektrum összehasonlítása a PCM modellel kapott konformerek kétféleképp súlyozott spektrumával. 1. esetben azok számított szabadentalpiái alapján súlyoztam az egyes konformerek spektrumát, 2. esetben az A–D és E–H csoportokon belül számítva súlyozott spektrumokat, azokat azonos súllyal adtam össze.

A számított spektrumok az S–H nyújtási sávot azért nem tartalmazzák teljes egészében, mert annak relatív intenzitása, az ikerionos spektrumokhoz hasonlóan, lényegesen nagyobb, mint a kísérleti spektrumok esetében. Ennek következtében annak ábrázolásával a lényeges részeket rosszul lehetne látni. A 24. ábrán látható Raman spektrumok alapján a feltételezés helyessége nem dönthető el egyértelműen, minthogy a kétféleképp súlyozott spektrumok eltérése nem jelentős, valamint egyezésük a kísérleti spektrummal rossz. A karbonil nyújtási rezgéshez tartozó sáv(ok) relatív intenzitása alapján a második eset tűnhet a helyes választásnak, ami a feltételezést igazolná.



25. ábra. A mért ROA spektrum összehasonlítása a PCM modellel kapott konformerek kétféleképp súlyozott spektrumával. 1. esetben azok számított szabadentalpiái alapján súlyoztam az egyes konformerek spektrumát, 2. esetben az A-D és E-H csoportokon belül számítva súlyozott spektrumokat, azokat azonos súllyal adtam össze.

A ROA spektrumok esetében sem kapunk jó egyezést a mért spektrumokkal csak PCM modell segítségével, azonban a kétféleképpen súlyozott ROA spektrumok alapján már valamivel biztosabbak lehetünk a feltételezés helyességében. Ezt támasztja alá az 1400 cm^{-1} -nél jelentkező sáv alakja, a 800–750 cm^{-1} tartományban megfigyelhető sáv alak, valamint a 650 cm^{-1} körül megjelenő egy-egy negatív és pozitív sáv relatív intenzitása. Ezek alapján a csak PCM modellel kapható spektrumnak a csoportonként átlagolt, majd összegezett spektrumot (25. ábrán piros) fogadom el. A tisztán PCM modellel kapott, és mért spektrumok könnyebb összehasonlítására azokat együtt tartalmazza a 26. ábra.



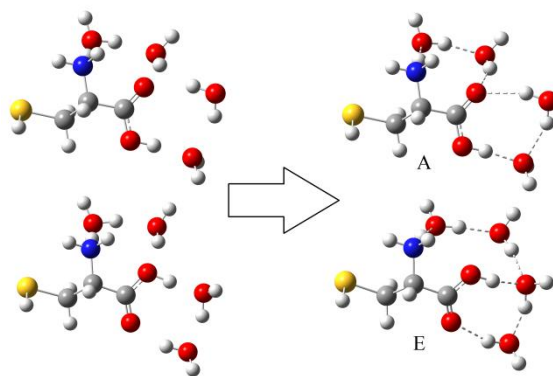
26. ábra. A kísérleti és PCM modellel kapott spektrumok összehasonlítása

Látható, hogy a B3LYP/aug-cc-pVDZ szinten PCM modellel számított spektrumok rosszabbak a protonált forma esetén, mint az ikerionos formánál. A 600 cm^{-1} alatti spektrumtartományról hasonlóak mondhatók el, mint az ikerionos forma spektrumának ezen részéről, azonban itt 570 cm^{-1} -nél jelentkezik az elméleti spektrumban egy olyan sáv, melynek nincs kísérleti megfelelője. Ez a rezgés a karboxilcsoport hidrogénje síkra merőleges deformációs rezgésének feleltethető meg, mely természetesen a vázrezgésekkel csatolt. Ez a rezgés nyilvánvalóan vizes közegben nem így, illetve nem ezen a frekvencián jelentkezik, hiszen a molekula ezen részén biztosan kialakul specifikus solvatáció, hidrogénkötés. Az ikerionos formánál említett $600\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ hullámszámok között megfigyelt eltolódás itt is megjelenik. A protonált forma esetében azonban az egyezés rosszabb, valamint az eltolódások nem minden sáv esetén azonos mértékűek. 730 cm^{-1} -nél újabb, a kísérleti spektrumban nem jelentkező sáv található az elméleti spektrumban, melyben szintén részt vesz a karboxilcsoport. A $900\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$ tartományban a kísérleti és elméleti spektrum sávjainak egymással való megfeleltetése meglehetősen nehézkes, illetve bizonytalan. Ebben a tartomány a molekula teljes váza rezeg, beleértve a karboxilcsoportot is, amire a bizonytalanságok

elsődleges forrásaként tekinthetünk. Az 1250–1450 cm⁻¹ tartományban a számított és kísérleti sávok jó egyezést adnak, a magasabb hullámszámoknál pedig, már említett okok miatt, a PCM oldószermodell nem működik jól a cisztein esetében.

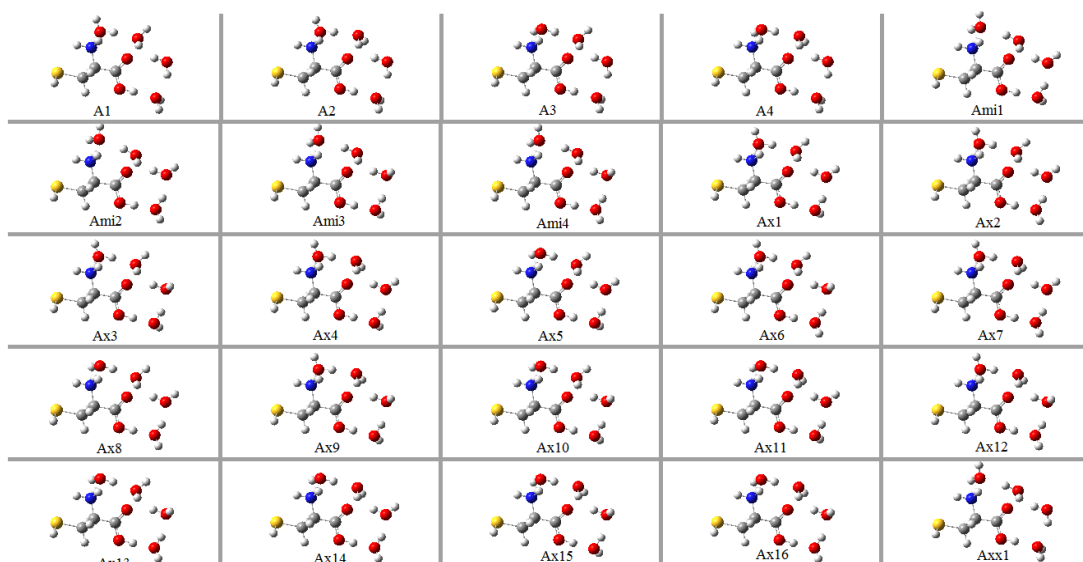
7.2.2. Cisztein-víz klaszterek vizsgálata

Mivel az ikerionos konformerekhez igen hasonlókat kaptam a protonált forma esetén, és kísérleti spektrumaik is igen hasonlóak, ezért az ikerionos formánál talált vizes klaszterekhez hasonlókat vártam és kerestem a protonált forma esetében is. Ennek legegyszerűbb, és a geometriaoptimalizálások időigényének csökkentése szempontjából legcélszerűbb módja az volt, hogy a már meglévő ikerionos klaszterek szerkezetét módosítottam. Az A–D és E–H konformerek esetén más-más klaszterekhez jutottam. A geometriaoptimalizálások kiindulási és optimalizált szerkezeteit mutatja a 27. ábra az A és E konformerek egy-egy klaszterének példáján.

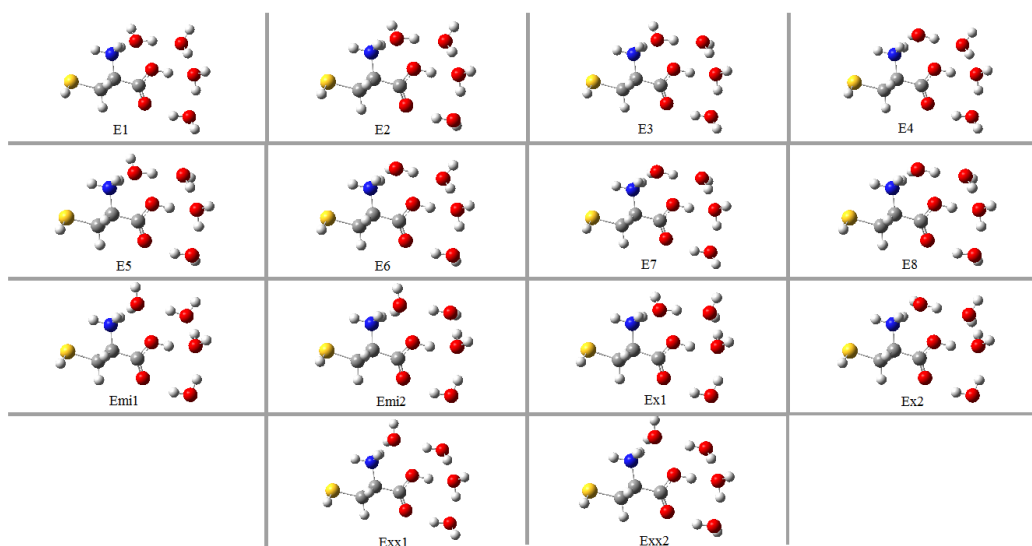


27. ábra. Az optimalizálás során az A–D és E–H konformerek csoportjaiból kialakuló kétféle klaszterek szemléltetése

A klaszterek szerkezetét, azok vízmolekuláinak orientációját az ikerionos klaszterek analógiájára változtattam, melyből az A–D konformerek esetén huszonöt-huszonöt, az E–H konformereknél pedig tizennégy-tizennégy különböző komplexhez jutottam, melyek szerkezetei a 28. és 29. ábrákon láthatók az A és E konformer példáján.



28. ábra. Az A konformerhez tartozó $\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ klaszterek



29. ábra. Az E konformerhez tartozó $\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ klaszterek

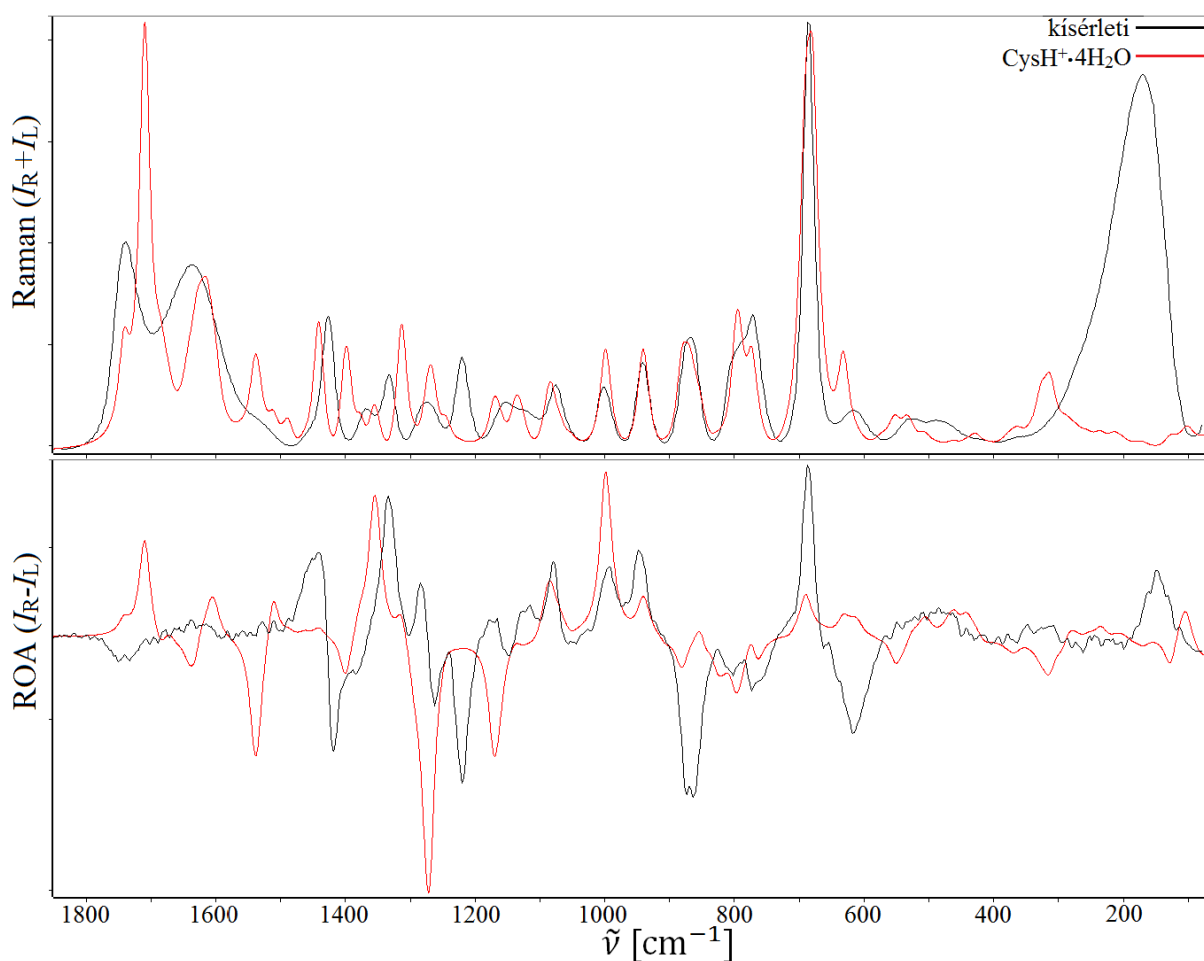
A klaszterek esetében itt is jelentősen megváltozott a konformereloszlás, ahogy azt az 5. táblázat adatai mutatják.

5. táblázat. A $\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ klaszterek esetében kapott konformereloszlás összehasonlítása a csak implicit oldószermodell alkalmazásával, protonált monomer szerkezetekre adódott eredményekkel

	$\sum x_A$	$\sum x_B$	$\sum x_C$	$\sum x_D$	$\sum x_E$	$\sum x_F$	$\sum x_G$	$\sum x_H$
IEF-PCM	0,6101	0,2145	0,0576	0,0848	0,0180	0,0089	0,0039	0,0022
$\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,5494	0,0118	0,2557	0,0059	0,1356	0,0048	0,0343	0,0024

Az 5. táblázat adataiból az is látható, hogy az A–D és E–H konformerek közti szabadentalpiabeli különbségek csökkentek, azonban nem tűntek el, ahogy azt az előzőekben feltételeztem, bár az intramolekuláris hidrogénkötések felszakadtak. A komplexek Boltzmann-eloszlásában még mindig mintegy 82 % az A–D konformerek klasztereinek hozzájárulása. Ennek egyik lehetséges oka, hogy csupán négy vízmolekula explicit vizsgálata a molekula ezen része solvatációjának megfelelő leíráshoz nem elegendő. A másik lehetőség, hogy a valóságban is stabilabbak ezek a szerkezetek. Megemlítem, hogy az 11. hivatkozásban, melyben VCD spektroszkópiával a protonált szerin solvatációját is vizsgálta a tanulmány szerzője, csak az A–D konformerekhez hasonló szerkezetekkel foglalkozott, bár csak a két legstabilabb monomer klasztereit vizsgálta.

Az egyes klaszterekre kapott szabadentalpiák alapján súlyozva azok spektrumait a 30. ábrán látható eredményeket kaptam.



30. ábra. A kísérleti spektrumok összehasonlítása az összes klaszter eloszlása alapján súlyozott elméleti spektrummal

Ugyan látható, hogy az egyezés nem olyan jó, mint volt az ikerionos forma esetén, ugyanakkor a javulás a csak PCM modellel számított spektrumokhoz képest nyilvánvaló. A kísérleti és elméleti sávok frekvenciabeli eltolódásai itt már nem figyelhetők meg, ami elsősorban a Raman spektrumok esetén látszik. A Raman spektrumok sem mutatnak igazán jó egyezést az 1100 cm^{-1} -nél magasabb hullámszámoknál, mely pontosan az a spektrumtartomány, ahol a legnagyobb eltérés jelentkezik az egyes konformerek klasztereinek spektrumában. Amennyiben feltételezzük, hogy az alkalmazott számítási szinten elfogadhatóan jók a ROA spektrum számított intenzitásai, itt is megpróbálkozhatunk a Boltzmann-faktorok módosításával. A konformereloszlás pontatlanságát az is jelzi, hogy még a Raman spektrumban egyező sávok is több esetben előjeles eltérést mutatnak a ROA spektrumban. A kísérleti eredményekkel való jobb egyezés elérése érdekében megpróbálkoztam a (69) és (70) egyenletek szerinti súlyozással is.

$$\mathbf{s} = (x_A^{\text{PCM}} + x_E^{\text{PCM}}) * (\mathbf{s}_A + \mathbf{s}_E) + (x_B^{\text{PCM}} + x_F^{\text{PCM}}) * (\mathbf{s}_B + \mathbf{s}_F) + (x_C^{\text{PCM}} + x_G^{\text{PCM}}) * (\mathbf{s}_C + \mathbf{s}_G) + (x_D^{\text{PCM}} + x_H^{\text{PCM}}) * (\mathbf{s}_D + \mathbf{s}_H) \quad (69)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{s} = & (x_A^{\text{PCM}} + x_E^{\text{PCM}}) \\ & * \left(\frac{\sum x_A^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_A^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_E^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_A + \frac{\sum x_E^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_A^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_E^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_E \right) \\ & + (x_B^{\text{PCM}} + x_F^{\text{PCM}}) \\ & * \left(\frac{\sum x_B^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_B^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_F^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_B + \frac{\sum x_F^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_B^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_F^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_F \right) \\ & + (x_C^{\text{PCM}} + x_G^{\text{PCM}}) \\ & * \left(\frac{\sum x_C^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_C^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_G^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_C + \frac{\sum x_G^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_C^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_G^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_G \right) \\ & + (x_D^{\text{PCM}} + x_H^{\text{PCM}}) \\ & * \left(\frac{\sum x_D^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_D^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_H^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_D + \frac{\sum x_H^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}}{\sum x_D^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}} + \sum x_H^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}} \mathbf{s}_H \right) \end{aligned} \quad (70)$$

A fenti képletekben $\mathbf{s}$ a súlyozott spektrum, x_i^{PCM} az adott konformer PCM modellel kapott móltörtje, $\mathbf{s}_i$ az adott konformer klaszterei súlyozott spektrumának megfelelő vektor, $\sum x_i^{\text{CysH}^+ \cdot 4\text{H}_2\text{O}}$ pedig az adott konformer klaszterei összes klaszter eloszlásában szereplő mólfraekcióinak összege. A két utóbbi egyenlet alapján történő súlyozással kapott eredményekből hasonló következtetések vonhatók le, mint az ikerionos forma esetén tett

próbálkozásból. A spektrumok jelentős mértékben itt sem javultak, ezért ezeket itt nem, csak a függelékben közlöm (32. és 33. ábra).

A 30. ábrán bemutatott Raman spektrumokban a karbonil vegyértékrezgés elméleti sávja egyértelműen megfeleltethető a kísérleti Raman spektrumban láthatóval, azonban a frekvenciabeli egyezés nem tökéletes. Látható, hogy az elméleti sáv kismértékben felhasadt, ami annak következménye, hogy az A–D és E–H konformerek klasztereiben ez a rezgés más frekvencián jelentkezik. A kísérleti spektrumban nem tapasztalunk felhasadást ennél a sávnál, azonban annak félértékszélessége jóval nagyobb ($50\text{--}60\text{ cm}^{-1}$), mint az elméleti spektrumok esetén illesztett Lorentz-görbéké (10 cm^{-1}). Az 1500 cm^{-1} körül jelentkező, az NH_3^+ -csoport szimmetrikus deformációs rezgésének megfeleltethető sáv a kísérleti Raman spektrumban csak egy kis vállként jelenik meg a vízmolekulák deformációs rezgésének széles sávja mellett. A számított Raman spektrumok itt valamivel rosszabb egyezést mutatnak, mint az ikerionos forma esetén, a ROA spektrumoknál pedig teljesen rossz az egyezés. Ennek lehetséges értelmezését az ikerionos spektrumok értékelésénél részletesen tárgyaltam. Az $1460\text{--}1430\text{ cm}^{-1}$ tartományban jelentkező kísérleti ROA sáv számított spektrumbeli megfelelőjének intenzitása rendkívül kicsi. Ez a sáv kiváltképp érzékeny a konformációs változásokra, ezért a kis intenzitást eredményezheti a rossz konformereloszlás is. Ez a sáv az ikerionos forma spektrumai, illetve a protonált forma esetében a csak PCM modell alkalmazásával kapott spektrumok alapján könnyen azonosítható, így tudhatjuk, hogy a metilén-csoport deformációs rezgéséhez tartozik. A rossz egyezés egy másik lehetséges oka, hogy a molekulának ez a része nincs olyan pontosan leírva, mint azok, amelyeknél az explicit vízmolekulák találhatók, ezért a számítások ennek a sávnak a relatív intenzitását nagyon alulbecslik. Az $1420\text{--}1320\text{ cm}^{-1}$ tartományban jelentkező negatív és pozitív kísérleti sávok az elméleti spektrumok alapján azonosíthatók, azonban az egyezés nem túl jó. Az 1285 cm^{-1} -nél látható kísérleti sáv, elméleti megfelelője csak egy kis intenzitású vállként jelenik meg. Az $1260\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ spektrumtartományban lévő kísérleti sávok a számítottaknak nem feleltethetők meg minden esetben egyértelműen, melyeknél azonban ez megtehető, ott is látható egy körülbelül 40 cm^{-1} -es eltolódás a hullámszámokban. Az $1100\text{--}920\text{ cm}^{-1}$ tartományban a kísérleti és elméleti spektrumok közti egyezés majdhogynem tökéletes, csak kis eltérések jelentkeznek az intenzitásarányokban. A $870\text{--}860\text{ cm}^{-1}$ -nél jelentkező kísérleti sáv is egyértelműen azonosítható annak számított megfelelőjével. Itt a Raman spektrumbeli egyezés szinte tökéletes, azonban az elméleti ROA spektrumban az intenzitás lényegesen alacsonyabb a kísérleti sáv relatív intenzitásánál. A $830\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ hullámszámok közt a kísérleti és számítási eredmények megint elfogadhatóan jó egyezést mutatnak. A $700\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ tartományban

olyan rezgések találhatók, melyekben az C–S–H molekularészlet deformációs rezgése is részt vesz. Ebben a tartományban nem tökéletes a kísérleti és számított spektrumok egyezése, feltételezhetően azért, mert az S–H csoport solvatációját csak implicit módon vizsgáltam, azonban a spektrumok sávjai biztonsággal megfeleltethetők egymásnak.

8. Összefoglalás és kitekintés

TDK munkám során a ciszteinmolekula ikerionos és protonált formáinak vizes oldatokban felvett konformereit vizsgáltam Raman és Raman optikai aktivitás (ROA) spektroszkópiai módszerekkel. A mérési eredmények kiértékeléséhez DFT számításokat végeztem a konformereloszlásra, valamint ezen a szinten számítottam a konformerek Raman és ROA spektrumait is. A vizes közeg ciszteinmolekulára, illetve annak spektrumaira gyakorolt hatását implicit és explicit vízmolekulákkal kombinált oldószermodellel próbáltam modellezni. A ciszteinmolekula konformereloszlásának meghatározásakor az ikerionos forma esetében Pecul és munkatársai eredményeiből [8] indultam ki. A protonált forma konformációs analízisét magam végeztem a molekula négy diéderes szögének szisztematikus változtatásával. A protonált forma kilenc legstabilabb konformere közül nyolc a négy legstabilabb ikerionos konformerből formailag levezethető, azok NH_3^+ -csoportjukhoz közelebbi, illetve attól távolabbi karboxilát-oxigénjük protonálásával. A konformerek szerkezet-meghatározásához IEF-PCM oldószermodellt használtam, és első közelítésben azok spektrumainak számításakor is ezzel a modellel vettem figyelembe az oldószer és a ciszteinmolekula között kialakuló kölcsönhatásokat. A tisztán implicit oldószermodellel kapott elméleti spektrumoknál megállapítható volt, hogy azok a kísérleti eredményekkel csak azokban a spektrumtartományokban mutattak elfogadható egyezést, ahol a molekula olyan rezgései találhatók, melyekben csak kis mértékben vesznek részt azok a csoportok, melyeknél specifikus solvatáció, intermolekuláris hidrogénkötés kialakulására számíthatunk. A specifikus solvatáció számításba vételére vizsgáltam a ciszteinmolekula négy, illetve öt vízmolekulával alkotott komplexeit. A vízmolekulák explicit módon történő figyelembevételével jelentős javulást értünk el az elméleti spektrumok kísérleti eredményekkel való egyezésének tekintetében. Pecul és munkatársai által szimulált spektrumokhoz képest is jobb egyezést mutatnak a számított és kísérleti spektrumaink. Kombinált implicit és explicit oldószermodellel végzett számításaink azt mutatták, hogy specifikus solvatáció kialakulásakor az intramolekuláris kölcsönhatások elveszítik jelentőségüket a molekulák közt kialakulókkal szemben. Ennek alátámasztására MP2 számításokat is végeztem. Az explicit vízmolekulák ciszteinhez viszonyított helyzetének és orientációjának részletes vizsgálata alapján arra jutottunk, hogy a kísérleti eredményekkel való egyezés tekintetében kiemelkedő fontosságú a vízmolekulák között kialakuló hidrogénkötések figyelembevétele is.

A további terveink között szerepel hasonló vizsgálatok elvégzése más aminosavak esetében is. Mindenképpen szükséges az alkalmazott számítási szint (B3LYP/aug-cc-pVDZ) megbízhatóságának további ellenőrzése más funkciókkal, illetve magas szintű elektronkorrelációs módszerekkel. Ezek a számítások mind a konformereloszlás, mind az egyes konformerekhez tartozó számított ROA sávok intenzitásarányai megbízhatóságának ellenőrzése szempontjából szükségesek. Szeretnénk továbbá olyan alkalmas molekuladinamikai módszert találni, mely megkönnyítheti a konformerek keresését, különböző konformációk automatikus generálásával, és lehetővé teszi lényegesen több szerkezet vizsgálatát.

9. Felhasznált irodalom

- [1] Tarczay G., Vass E., Góbi S., Magyarfalvi G., Magyar Kémiai Folyóirat 119, 53 (2013)
- [2] Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, 1–5 (2011)
- [3] Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, 7–9 (2011)
- [4] Wenzel, T. J. & Wilcox, J. D. *Chirality*, 15(3), 256-270. (2003)
- [5] Hobro, Alison J. et al. *Vibrational Spectroscopy* 48.1 (2008): 37-43.
- [6] Kneipp, H. Kneipp, J., & Kneipp, K. *Analytical chemistry*, 78(4), 1363-1366. (2006)
- [7] Deplazes, E., Van Bronswijk, W., Zhu, F., Barron, L. D., Ma, S., Nafie, L. A., & Jalkanen, K. J. *Theoretical Chemistry Accounts*, 119(1-3), 155-176. (2008)
- [8] Kamiński, M., Kudelski, A., & Pecul, M. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(16), 4976-4990. (2012)
- [9] Zhu, P., Yang, G., Poopari, M. R., Bie, Z., & Xu, Y. *ChemPhysChem*, 13(5), 1272-1281. (2012)
- [10] Poopari, M. R. Zhu, P., Dezhahang, Z., & Xu, Y. *The Journal of chemical physics*, 137(19), 194308. (2012)
- [11] PeiYan Zhu, Conformations of Some Amino Acids in Aqueous Solutions by Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy, MSc diplomamunka (2012)
- [12] Losada, M., & Xu, Y. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 9(24), 3127-3135. (2007)
- [13] Johannessen, C., & Abdali, S. *Spectroscopy: An International Journal*, 21(3), 143-149. (2007)
- [14] Johannessen, C., White, P. C., & Abdali, S. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111(32), 7771-7776. (2007)
- [15] Abdali, S., Johannessen, C., Nygaard, J., & Nørbygaard, T. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 19(28), 285205. (2007)
- [16] Hopmann, K. H., Ruud, K., Pecul, M., Kudelski, A., Dračinský, M., & Bour, P. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(14), 4128-4137. (2011)
- [17] K. J. Jalkanen; I. M. Degtyarenko; R. M. Nieminen; X. Cao; L. A. Nafie; F. Zhu; L. D. Barron. *Theoretical Chemistry Accounts Account* 119:191–210. (2008)
- [18] Gonzalez-Outeiriño, J., Kirschner, K. N., Thobhani, S., & Woods, R. J. *Canadian journal of chemistry*, 84(4), 569-579. (2006)

- [19] Kirschner, K. N., & Woods, R. J. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(19), 10541-10545. (2001)
- [20] Cheeseman, J. R., Shaik, M. S., Popelier, P. L., & Blanch, E. W. *Journal of the American Chemical Society*, 133(13), 4991-4997. (2011)
- [21] Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, 35–68, 131–167 (2011)
- [22] Long, D. A. *The Raman effect: a unified treatment of Raman scattering by molecules*, John Wiley & Sons, 19–84, 303–328, 513–536 (2002)
- [23] Hecht, L., & Nafie, L. A. *Molecular physics*, 72(2), 441-469. (1991)
- [24] Nafie, L. A. *Theoretical Chemistry Accounts*, 119(1-3), 39-55. (2008)
- [25] Nafie, L. A. *Annual review of physical chemistry*, 48(1), 357-386. (1997)
- [26] Gaussian 09, Revision A.1, Frisch, M. J. *et al.* Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**, <http://gaussian.com/>
- [27] DALTON, *a molecular electronic structure program*, Release Dalton2011 (2011), see <http://daltonprogram.org/>
- [28] “Psi4: An open-source *ab initio* electronic structure program,” J. M. Turney *et al.*, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2**, 556 (2012). (doi:10.1002/wcms.93).
- [29] ADF2012, SCM, Theoretical Chemistry, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, <http://www.scm.com>.
- [30] Nicu, V. P., & Baerends, E. J. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11(29), 6107-6118. (2009)
- [31] Góbi, S., & Magyarfalvi, G. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(36), 16130-16133. (2011)
- [32] Jensen, F. *Introduction to computational chemistry*. John Wiley & Sons. 177–193, (1999)
- [33] Jensen, F. *Introduction to computational chemistry*. John Wiley & Sons. 233–263, (2007)
- [34] Jensen, F. *Introduction to computational chemistry*. John Wiley & Sons. 475–486, (2007)
- [35] Tomasi, J., Mennucci, B., & Cammi, R. *Chemical reviews*, 105(8), 2999-3094. (2005)
- [36] Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, 205–224, 131–167 (2011)
- [37] GaussView, Version 5, Dennington, R.; Keith, T.; Millam, J. *Semichem Inc.*, Shawnee Mission KS, (2009)

10. Függelék

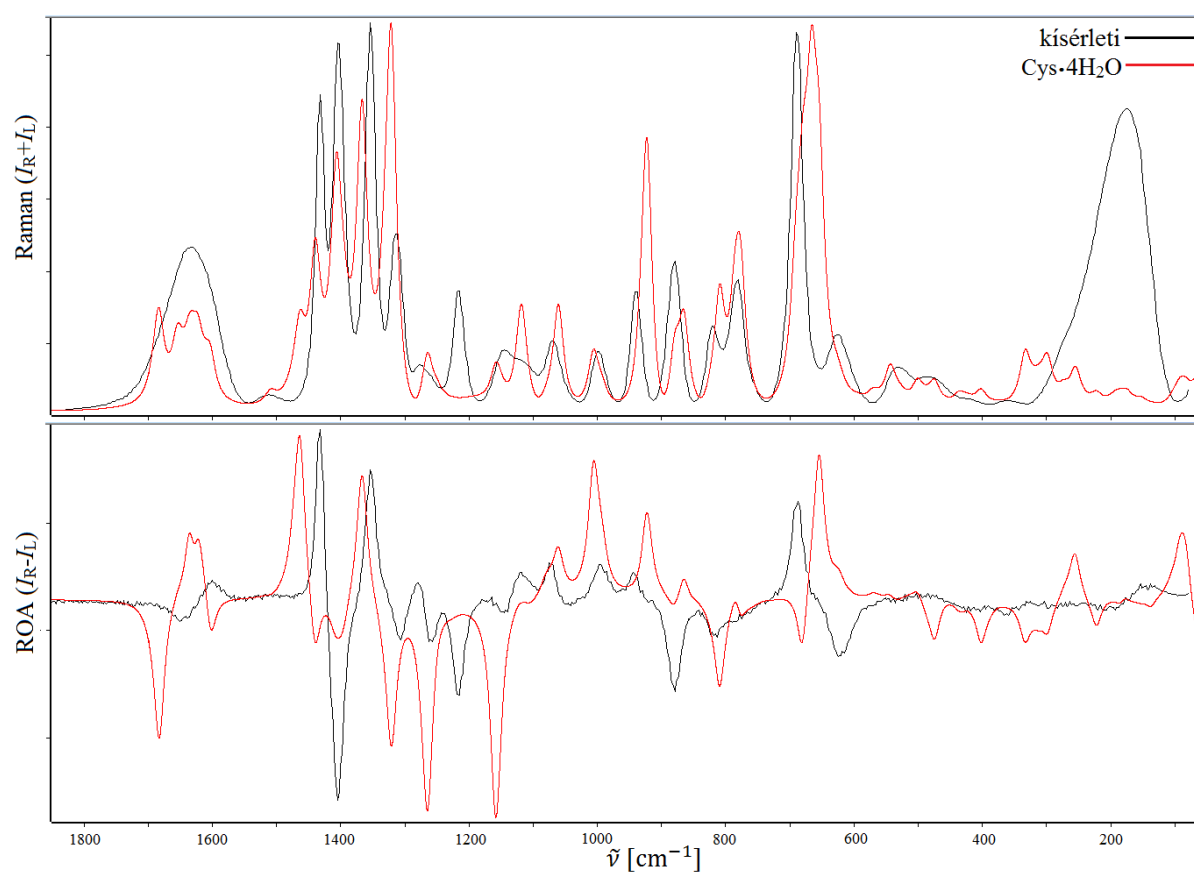
7.1.2.

6. táblázat. Az ikerionos Cys·4H₂O klaszterek szabadentalpiáik alapján számított mólfraekciói (x (G)), valamint stabilitási sorrendjük. Az 1a–5e a 8. referencia klasztereinek a Gaussian program G09 verziójával [25] újraoptimalt szerkezeteit jelöli

Név	x (G)	Stabilitási sorrend	Név	x (G)	Stabilitási sorrend	Név	x (G)	Stabilitási sorrend
A1	0,002697	57.	Bxx1	$5,83 \cdot 10^{-4}$	92.	Dx7	0,017194	42.
A2	0,002627	58.	Bxx2	$7,22 \cdot 10^{-4}$	84.	Dx8	0,018794	40.
A3	0,005619	52.	C1	$8,17 \cdot 10^{-4}$	81.	Dxx1	$7,04 \cdot 10^{-4}$	85.
A4	0,002859	55.	C2	$5,89 \cdot 10^{-4}$	91.	Dxx2	$8,59 \cdot 10^{-4}$	80.
A5	0,006455	49.	C3	$6,76 \cdot 10^{-4}$	86.	1a	0,002001	62.
A6	0,002465	59.	C4	0,003541	53.	1b	0,003452	54.
A7	0,002308	61.	C5	$6,16 \cdot 10^{-4}$	90.	1c	0,002761	56.
A8	0,001975	64.	C6	0,006161	50.	1d	0,365861	4.
Ami1	$1,36 \cdot 10^{-4}$	99.	C7	0,002439	60.	1e	0,201964	5.
Ami2	$1,71 \cdot 10^{-4}$	98.	C8	0,00187	66.	2a	0,084653	9.
Ax1	$7,77 \cdot 10^{-4}$	83.	Cmi1	$3,28 \cdot 10^{-5}$	103.	2b	0,050916	22.
Ax2	$1,47 \cdot 10^{-3}$	70.	Cmi2	$3,96 \cdot 10^{-5}$	102.	2c ¹¹	—	—
Ax3	$1,02 \cdot 10^{-3}$	76.	Cx1	$6,26 \cdot 10^{-4}$	89.	2d	2,953737	2.
Ax4	0,001749	67.	Cx2	$8,79 \cdot 10^{-4}$	79.	2e	2,96	1.
Ax5	$1,51 \cdot 10^{-3}$	69.	Cx3	$1,14 \cdot 10^{-3}$	75.	3a	$3,26 \cdot 10^{-4}$	94.
Ax6	0,00198	63.	Cx4	$6,27 \cdot 10^{-4}$	88.	3b ¹²	—	—
Ax7	$1,18 \cdot 10^{-3}$	73.	Cx5	$8,93 \cdot 10^{-4}$	78.	3c	0,008484	45.
Ax8	$1,38 \cdot 10^{-3}$	71.	Cx6	$1,32 \cdot 10^{-3}$	72.	3d	0,008166	47.
Axx1	$7,31 \cdot 10^{-5}$	100.	Cx7	$8,04 \cdot 10^{-4}$	82.	3e	0,008184	46.
Axx2	$7,21 \cdot 10^{-5}$	101.	Cx8	$1,16 \cdot 10^{-3}$	74.	4a	0,005931	51.
B1	0,078188	11.	Cxx1	$2,43 \cdot 10^{-4}$	96.	4b	0,018616	41.
B2	0,06	16.	Cxx2	$2,49 \cdot 10^{-4}$	95.	4c	0,026686	34.
B3	0,072294	12.	D1	0,047579	24.	4d	0,009352	44.
B4	0,050487	23.	D2	0,083761	10.	4e	0,368193	3.
B5	0,061025	15.	D3	0,061414	14.	5a	$6,38 \cdot 10^{-4}$	87.
B6	0,037096	26.	D4	0,061545	13.	5b	0,006692	48.
B7	0,051404	20.	D5	0,058494	17.	5c	0,001701	68.
B8	0,034628	29.	D6	0,057026	18.	5d	0,08973	8.
Bmi1	$9,45 \cdot 10^{-4}$	77.	D7	0,097148	6.	5e	0,052172	19.
Bmi2	0,001886	65.	D8	0,09204	7.			
Bx1	0,030657	32.	Dmi1	$1,72 \cdot 10^{-4}$	97.			
Bx2	0,027929	33.	Dmi2	$3,26 \cdot 10^{-4}$	93.			
Bx3	0,046533	25.	Dx1	0,020219	38.			
Bx4	0,031247	30.	Dx2	0,022194	37.			
Bx5	0,037096	27.	Dx3	0,023401	36.			
Bx6	0,031181	31.	Dx4	0,019901	39.			
Bx7	0,051295	21.	Dx5	0,026573	35.			
Bx8	0,035557	28.	Dx6	0,014919	43.			

¹¹ Ez a szerkezet elsőként a lengyel csoporttól kapott koordinátákból indítva a geometriaoptimalást, egymás utáni ötödik próbálkozásra sem konvergált.

¹² A kapott szerkezeti paraméterek hibásak voltak. A klaszter szerkezete egyáltalán nem hasonlított a többi klaszterére, a vízmolekulák távol estek a ciszteinmolekulától.



31. ábra. A kísérleti és a 6. táblázatban feltüntetett szerkezetek súlyozott elméleti spektrumainak összehasonlítása

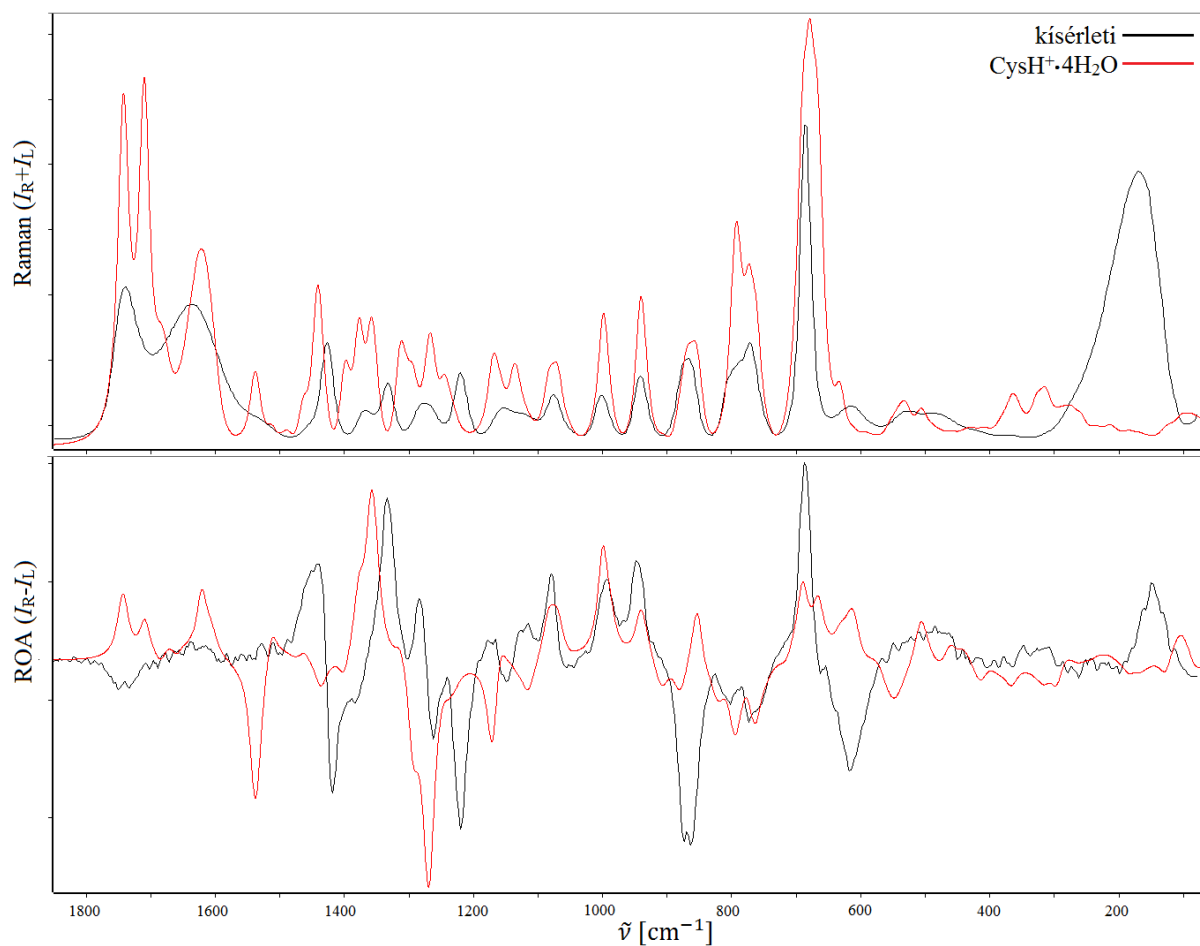
7. táblázat. Az ikerionos Cys·4H₂O klaszterek szabadentalpiáik alapján számított mólfrakciói (x (G)), valamint stabilitási sorrendjük az MP2/aug-cc-pVDZ és a B3LYP/aug-cc-pVDZ szinten

Név	$x^{\text{MP2}} (G)$	$x^{\text{B3LYP}} (G)$	MP2 stabilitási sorrend	B3LYP stabilitási sorrend
1a	$6,40 \cdot 10^{-4}$	$4,78 \cdot 10^{-4}$	24.	18.
1d	0,0153	0,0874	12.	2.
2a	0,00712	0,0202	17.	6.
2d	0,0658	0,705	6.	1.
3a	$3,02 \cdot 10^{-4}$	$7,79 \cdot 10^{-5}$	26.	26.
3d	0,00131	0,00195	21.	16.
4d	0,00162	0,00223	20.	15.
5a	0,00302	$1,52 \cdot 10^{-4}$	19.	23.
5d	0,0128	0,0214	14.	5.
A5	0,0167	0,00154	10.	17.
Ami1	$7,05 \cdot 10^{-4}$	$3,25 \cdot 10^{-5}$	23.	29.
Ax5	0,0202	$3,61 \cdot 10^{-4}$	9.	19.
Axx1	$7,87 \cdot 10^{-4}$	$1,75 \cdot 10^{-5}$	22.	30.
B1	0,179	0,0187	2.	8.
B3	0,125	0,0173	4.	9.
B5	0,201	0,0146	1.	11.
B7	0,163	0,0123	3.	12.
Bmi1	$3,22 \cdot 10^{-4}$	$2,26 \cdot 10^{-4}$	25.	20.
Bx5	0,0807	0,00886	5.	13.
Bxx1	$1,97 \cdot 10^{-4}$	$1,39 \cdot 10^{-4}$	29.	25.
C5	0,0111	$1,47 \cdot 10^{-4}$	15.	24.
Cmi1	$7,50 \cdot 10^{-5}$	$7,84 \cdot 10^{-6}$	30.	31.
Cx5	0,00545	$2,13 \cdot 10^{-4}$	18.	21.
Cxx1	$2,42 \cdot 10^{-5}$	$5,79 \cdot 10^{-5}$	28.	27.
D2	0,00791	0,0200	16.	7.
D5	0,0261	0,0147	7.	10.
D7	0,0158	0,0232	11.	3.
D8	0,0152	0,0220	13.	4.
Dmi1	$2,51 \cdot 10^{-4}$	$4,11 \cdot 10^{-5}$	27.	28.
Dx5	0,0221	0,00635	8.	14.
Dxx1	$5,21 \cdot 10^{-5}$	$1,68 \cdot 10^{-4}$	31.	22.

A jelölésükben számmal kezdődő szerkezetek a 8. hivatkozás klaszterei. A két jelölésben egymásnak megfelelő konformerek: 1–D, 2–B, 3–C, 4–E(D), 5–A.

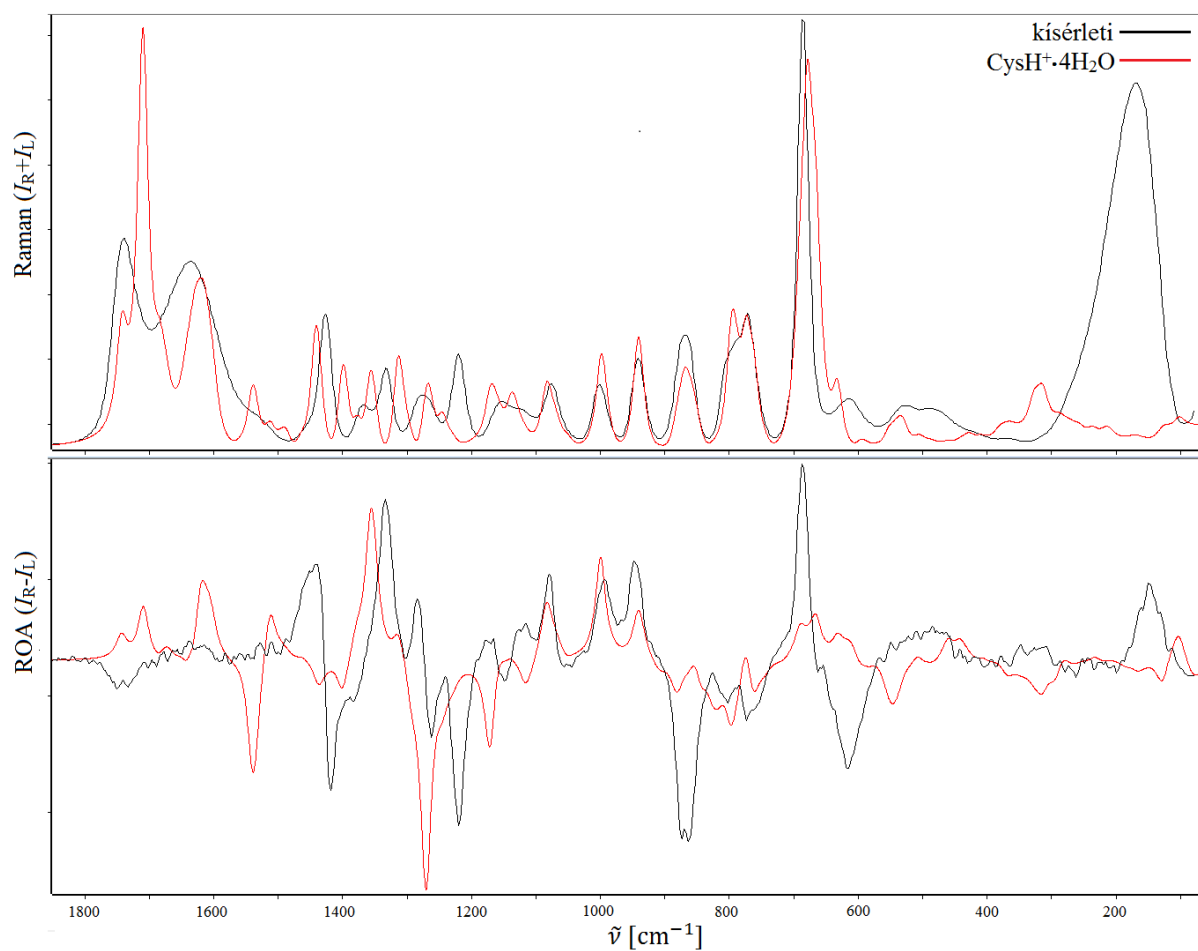
7.2.2.

A (69) egyenlet alapján számított spektrumok:



32. ábra. A kísérleti spektrumok összehasonlítása a protonált forma CysH⁺·4H₂O klaszterire számított súlyozott spektrumokkal, melyben az egyes konformerekhez tartozó klaszterek csoportjain belül súlyozott spektrumokat úgy adtam össze, hogy a rokonkonformerek (A-E, B-F, C-G, D-H) PCM modellből kapott mólfraakciói összegét rendeltem a rokonkonformerek mindkét tagjának klaszterei spektrumához

A (70) egyenlet alapján számított spektrumok:



33. ábra. A kísérleti spektrumok összehasonlítása a protonált forma $\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ klaszterire számított súlyozott spektrumokkal, melyben az egyes konformerekhez tartozó klaszterek csoportjain belül súlyozott spektrumokat úgy adtam össze, hogy a rokonkonformerek (A-E, B-F, C-G, D-H) PCM modellből kapott mólfrakcióinak összegét a rokonkonformerek közt azok $\text{CysH}^+\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ klasztereinek relatív populációja alapján súlyoztam