

Rezgési optikai aktivitás – Abszolút konfiguráció és konformáció meghatározása

TARCZAY György,^{a,b,*} VASS Elemér,^{c,*} GÓBI Sándor,^{a,b} és MAGYARFALVI Gábor^{a,b}

^aMolekulaspektroszkópai Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

^bELTE TTK – MTA TTK Környezeti Kémiai-Fizikai Laboratórium, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

^cKiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratórium, ELTE Kémiai Intézet, Pázmány P. s. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Becslések szerint az 1950-es évek végén, 1960-as évek elején mintegy 10–20 ezer végtag nélküli, vagy fejletlen végtagú csecsemőt hoztak napvilágra azok a nők, akik a terhességi rosszulletre a Contergan nevű gyógyszer szedték. Az 1980-as években derült egyértelműen fény arra, hogy a rendellenességet az okozta, hogy a királis Thalidomide hatóanyagot a gyógyszer racém keverékként tartalmazta; a gyógyszerhatást az egyik enantiomer fejté ki, míg a születési rendellenességért a másik enantiomer a felelős. Ugyan a felelős gyógyszergyár csak 2012-ben kért nyilvánosan bocsánatot, ez a tragédia már az utóbbi 2–3 évtizedben a gyógyszerkémia kulcsfontosságú területei közé emelte az abszolút konfiguráció meghatározását, a királis elválasztásokat és az enantiomerszelektív szintézisek fejlesztését.

Ebben a közleményben az abszolút konfiguráció meghatározásának egy újabb, kevésbé ismert, de véleményünk szerint az egyik legperspektivikusabb módszer családját mutatjuk be, amelyet összefoglalóan rezgési optikai aktivitásnak (vibrational optical activity, VOA) nevezünk. Ebbe a családba két módszer, a rezgési cirkuláris dikroizmus (vibrational circular dichroism, VCD) és a Raman optikai aktivitás (Raman optical activity, ROA) tartozik. A két módszer potenciálját mutatja az is, hogy 2010 végén egyetemi és műszergyártói összefogásban megnyílt a European Centre for Chirality nevű intézet,¹ amely az alap kutatások, valamint a műszeres és elméleti módszerek fejlesztése mellett cégeknek is vállal VOA módszereken alapuló abszolút konfiguráció meghatározást. A tapasztalatok alapján egyértelműen kijelenthető, hogy kis és közepes méretű, merev molekulák esetében egyértelműen ma már a VCD (és ROA) technika a legolcsóbb, leggyorsabb és legmegbízhatóbb módszer abszolút konfiguráció meghatározására.

A kézirat írásakor Magyarországon csak az ELTE Kémiai Intézete rendelkezik VCD és ROA spektrométerrel, amely a régióban egyedülálló vizsgálati lehetőségeket biztosít. Tudomásunk szerint a Budapesti Műszaki Egyetemen építés alatt áll egy VCD készülék, de egyetemek és gyógyszergyárak kutató részlegei is érdeklődnek a módszer iránt. Cikkünk nem titkolt célja ezért az is, hogy a két módszer teljesítőképessége mellett, az ELTE műszerezettségét, lehetőségeinket is bemutassuk. Mivel a műszereken, különösen a VCD készüléken végzett alap kutatásainkról már más aspektusban beszámoltunk a

Magyar Kémiai Folyóiratban megjelent közleményekben,^{2–4} ezért ezekről csak röviden ejtünk szót.

2. A rezgési optikai aktivitás alapjainak áttekintése

Az optikai aktivitás (vagy kirotikai) vizsgálatok a királis molekulák és a síkban vagy a cirkulárisan polarizált fény közötti kölcsönhatást vizsgálják. Egy síkban polarizált fény nyalámban az egyes fotonoknak megfelelően elektromágneses hullámok elektromos tér vektorai egy síkban helyezkednek el, míg a cirkulárisan polarizált fény esetében az elektromos tér vektora térben és időben körbe jár. Attól függően, hogy a körbejárás a forrás irányába nézve órajárással megegyező vagy azzal ellentétes irányú, jobbra (pozitív), vagy balra (negatív) cirkulárisan polarizált fényről beszélünk. Kémiai szóhasználatnál élve a jobbra és balra cirkulárisan polarizált fény nyalábok egymás „enantiomer párjai”. A cirkulárisan polarizált fény előállítható olyan két azonos irányba terjedő, de elektromos tér vektorait tekintve egymásra merőleges hullámból, (azaz két egymásra merőleges síkban polarizált fény nyalábból,) amelyekben az egyik hullám 90°-os fáziskésésben van a másikhoz képest. Ha nem pontosan 90°-os a fáziskésés, akkor ún. elliptikusan polarizált fényt kapunk.

2.1. Reszgési optikai aktivitás (VCD)

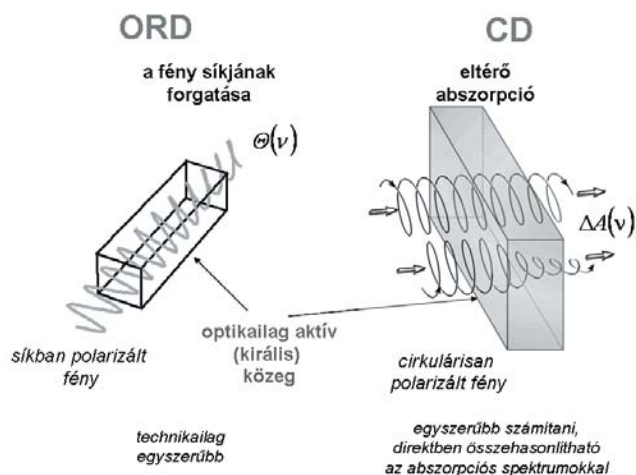
A síkban polarizált fény és a királis molekula kölcsönhatásakor az optikailag aktív molekula elforgatja az elektromágneses tér síkját. A hullámhossz függvényében mért forgatást optikai rotációs diszperzióknak (ORD) nevezzük.

A cirkulárisan polarizált fény esetében a jobbra és balra cirkulárisan polarizált fény eltérő abszorpcióját figyelhetjük meg. A fény hullámhosszának függvényében mért abszorpciókülönbséget (egységnyi koncentráció és úthossz esetében ez a rotátorerősség) cirkuláris dikroizmus (CD) spektrumnak nevezzük. Ennek megfelelően a CD spektrumokban olyan hullámhossznál találunk pozitív vagy negatív sávot, ahol a sávok az abszorpciós (például UV-látható vagy IR) spektrumban is jelentkeznek. Az UV-látható tartományban a kétféle cirkulárisan polarizált fény között mérhető abszorpciókülönbség nagyságrendileg ezred, az IR tartományban pedig tízezered–százezered része az abszorpciónak. Az enantiomerek CD spektrumai a hullámhossz tengelyre tükörszimmetrikusak.

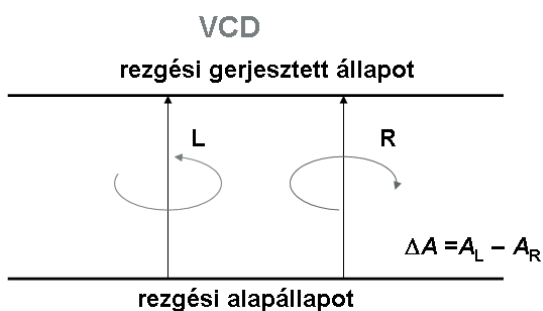
* Főszerzők. Tarczay György Tel.: +36 1 372 2500/6587; fax: +36 1 372 2592; e-mail: tarczay@chem.elte.hu;

Vass Elemér Tel.: +36 1 372 2500/1654; fax: +36 1 372 2592; e-mail: evass@chem.elte.hu

Az ORD és CD módszerek összehasonlítása az 1. ábrán látható. Megmutatható (képzetes törésmutatók használatával), hogy egy vegyület ORD görbéje és a CD spektruma nem független egymástól. Elvileg, a teljes CD spektrum (0-tól ∞ hullámhosszig) ismeretében a teljes ORD spektrum kiszámolható. Ez az állítás fordított irányban is igaz. A két spektrum közötti átszámítás az ún. Kramers-Kronig transzformációval⁵ lehetséges.



1. Ábra. Az ORD és a CD spektroszkópia.



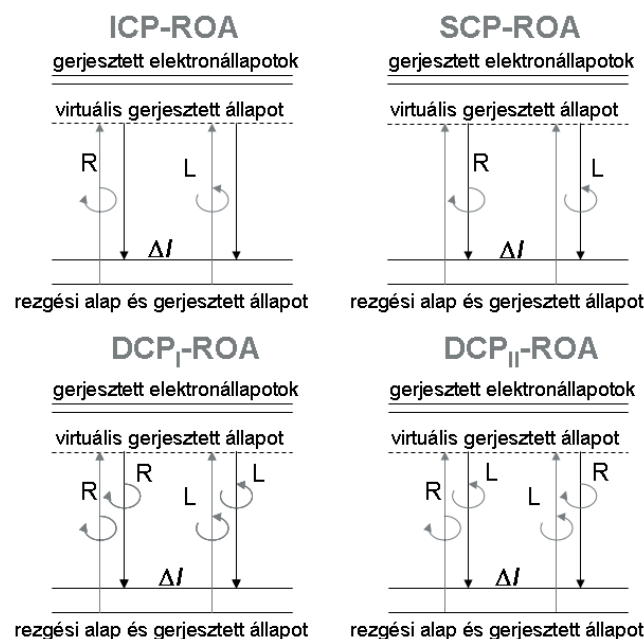
2. Ábra. A VCD spektroszkópia elve.

Az UV-látható fény tartományában általában elektrongerjesztést vált ki a fény, ezért az ebben a tartományban felvett CD spektrumokat gyakran elektronikus CD (ECD) spektrumnak is lehet tekinteni. Hasonlóan, az infravörös fény tartományában rezgési (vibrational) VCD spektroszkópiáról beszélünk. Az IR és VCD spektroszkópia tehát ugyanolyan viszonyban áll egymással, mint az UV-Vis és CD spektroszkópia, csak a vizsgálati tartomány eltérő. A VCD módszer elvét a 2. ábra mutatja.

2.2. Raman optikai aktivitás (ROA)

A fentiek alapján kézenfekvő, hogy a VCD spektroszkópia egyszerű analógiájára a Raman spektroszkópiának is létezik kiroptikai megfelelője, ez a Raman optikai aktivitás (ROA). ROA kísérletet többféleképpen is elvégezhetünk. Elvileg legegyszerűbb módszer, ha a besugárzó (incident) lézertény cirkulárisan poláris. Ha a kétféle cirkulárisan polarizált fényvel besugárzott királis mintáról szóródó polarizálatlan fény intenzitáskülönbségét mérjük a hullámhossz függvényében, akkor az ICP-ROA spektrumhoz jutunk. Ha a besugárzó fény polarizálatlan, és a szórt (scattered) fényben vizsgáljuk meg a kétféle cirkulárisan polarizált fény

intenzitásának a különbségét a hullámhossz függvényében, akkor SCP-ROA spektrumhoz kapunk. Végezhetünk olyan kísérletet is, amelyben a besugárzó fény is cirkulárisan poláris és a szórt fényben is a kétféle cirkulárisan polarizált fény intenzitáskülönbségét vizsgáljuk. Ez a kétszeresen (dual) cirkulárisan polarizált módszer, a DCP-ROA. A DCP_I-ROA esetében a jobbra cirkulárisan polarizált fényvel besugárzott mintáról szóródó jobbra cirkulárisan polarizált fény intenzitásából vonjuk ki a balra cirkulárisan polarizált fényvel besugárzott mintáról szóródó balra cirkulárisan polarizált fény intenzitását. A DCP_{II}-ROA esetében pedig a jobbra cirkulárisan polarizált fényvel besugárzott mintáról szóródó balra cirkulárisan polarizált fény intenzitásából vonjuk ki a balra cirkulárisan polarizált fényvel besugárzott mintáról szóródó jobbra cirkulárisan polarizált fény intenzitását. A négyféle ROA alapmérést tekinti át a 3. ábra.



3. Ábra. A ROA spektroszkópiai módszerek elve.

A négyféle ROA spektrum elvileg egyenértékű, de a gyakorlatban az ICP-ROA, az SCP-ROA és a DCP_I-ROA spektrumok között kis eltérés mutatkozik. További variációt jelent az is, ha az SCP-ROA esetében a beeső, vagy ha az ICP-ROA esetében a vizsgált szórt fény nem polarizálatlan, hanem lineárisan polarizált. Szintén elvileg is különböző spektrumokhoz jutunk, ha a besugárzó és a szórt fény közötti szöveget változtatjuk. A gyakorlatban leginkább az SCP-ROA módszert és „hátraszórt” geometriát (a besugárzó és a szórt fény 180°-os szöveget zár be) használják. Így működik az egyetlen kereskedelemben kapható készülék is.

3. Történeti áttekintés

3.1. Az optikai aktivitás felfedezésének és alkalmazásának mérföldkövei

Több mint 200 éve, 1811-ben, a fény polarizációját vizsgáló francia természettudós, François Jean Dominique Arago azt észlelte, hogy ha síkban polarizált fehér fény útjába egy kvarckristályt, ezután pedig egy polarizátort helyez, akkor a

polarizátor után színes fény jelenik meg. Megmutatta, hogy a szín függ a polarizátornak a belépő polarizált fény síkjához viszonyított helyzetétől.⁵⁻⁸

Egy évvel később további kísérletekre alapozva, Jean-Baptiste Biot megmutatta, hogy az Arago-féle kísérlet két független jelenséggel magyarázható. Az egyik az optikai rotáció, azaz az a jelenség, hogy a kvarc elforgatja a polarizált fény síkját. A másik jelenség pedig az ún. optikai rotációs diszperzió, azaz az, hogy az elforgatás mértéke függ a síkban polarizált fény hullámhosszától.⁹ Kísérletei során Biot azt is észlelte, hogy kétféle kvarckristály létezik, amelyek ellentétes irányban forgatják a fény síkját.

1815 szintén Biot írta le elsőként, hogy optikai forgatást oldatokkal is el lehet érni; észlelte a terpentinolaj¹⁰ és a kámfor alkoholos, valamint a cukor vizes¹¹ oldatának optikai forgatását. Ezek a kísérletek megmutatták, hogy a kvarccal ellentétben (melynek olvadáka nem forgatja a fény síkját), ezekben a kísérletekben az optikai forgatás molekuláris, nem tömbfázishoz tartozó tulajdonság.

1817-ben, Aragot megelőzve, Augustin-Jean Fresnel elsőként állított elő cirkulárisan polarizált fényt.¹² 1847-ben az osztrák geológus-minerológus, Wilhelm Karl Ritter von Haidinger, észlelte elsőként, hogy az ametiszt eltérő mértékben nyeli el a jobbra és balra cirkulárisan polarizált fényt.¹³ Közel négy évtizeddel később, 1895-ben, Aimé Auguste Cotton észlelte réz- és króm-tartarát oldatokban a kétféle cirkulárisan polarizált fény eltérő elnyelését.¹⁴

Az optikai forgatás IR tartománybeli kimutatásával a XX. század közepén kezdtek intenzíven foglalkozni. A japán JASCO cég már 3 éve megépítette az első UV-látható fény tartományában működő, az optikai diszperziós (ORD) görbe felvételére alkalmas automata spektropolariméterét, amikor korábbi reprodukálhatatlan kísérletek után, 1964-ben Leonard I. Katzin elsőként mutatta meg a kvarckristály optikai forgatásnak hullámhosszfüggését a közeli IR tartományban.¹⁵

Az első kereskedelmi, UV-látható fény tartományában működő CD készüléket 1965-ben hozta forgalomba a JASCO. Ekkor még nemcsak a VCD és ROA kísérleti megfigyelése, de még ezek elméletének kidolgozása is váratott magára.

A Cambridge-i Egyetemen Buckingham és Barron a ROA elméletét fekteti le egy 1971-ben megjelent tanulmányban,¹⁶ míg egy évvel később Holtzwarth és Chabay (University of Chicago) közli az első elméleti modellt VCD spektrumok számítására.¹⁷ Ezután már a kísérleti eredményekre sem kellett sokáig várni. 1973-ban Barron, Buckingham és Bogaard felveszi az első (artifaktumoktól mentes) ROA spektrumot (az α -feniletaminról),¹⁸ amit Werner Hug és munkatársai reprodukálnak 1975-ben.¹⁹ 1974-ben pedig Holtzwarth és munkatársai közlik az első VCD spektrumot (a 2,2,2-trifluorometil-1-feniletanolról),²⁰ amit Nafie, Cheng és Stephens (University of South Carolina) független kísérlete igazol egy évvel később.²¹

A technikai nehézségeknek köszönhető, hogy az első sikeres VCD és ROA méréseket követő 30–40 évben ezek a mérések

egyedi építésű készüléken történtek. Az első, 1997-ben kereskedelmi forgalomba kerülő VCD készüléket a Bomem (később BioTools), az első ROA készüléket pedig a BioTools hozta forgalomba 2003-ban. Jelenleg ROA készüléket csak a BioTools (ChiralRAMAN-2X), Fourier-transzformációs VCD készüléket vagy FT-IR spektrométerhez csatlakoztatható VCD kiegészíthető egységet ma már a BioTools (ChiralIR-2X spektrométer), a Bruker (PMA-50 kiegészítő egység), a Thermo Scientific (kiegészítő egység), és a JASCO (FVS-6000 VCD spektrométer és FVT-4000 kiegészítő egység) is forgalmaz. A kiegészítő egység beszerzése mellett az szól, hogy a már meglévő FT-IR spektrométert felhasználva kisebb beruházással juthatunk mérési lehetőséghez, és a készülékegyüttest sokrétűbben használhatjuk. A komplett VCD készülékek fő előnye pedig az, hogy ezek a készülékek kizárólag VCD mérésre optimaláltak, a kiegészítő egységekhez képest általában jobb minőségű spektrumok felvételét teszik lehetővé.

A kereskedelmi készülékek késői megjelenésével magyarázható, hogy az ezredfordulón még a két-két tucatot sem érte el a VCD és ROA elméletével foglalkozó, vagy e módszereket használó kísérleti tanulmányok száma. Az évezred első évtizedének második felére VCD-vel foglalkozó cikkek száma meghaladta az évi 100-at, míg ROA tartalmú cikkek kb. 50 jelent meg ebben az időszakban. Annak ellenére, hogy a VOA módszerek az alap kutatásban is csak az utóbbi évtizedben terjedtek el, a nagyobb gyógyszergyárak már most felismerték a két módszer nyújtotta páratlan lehetőségeket, a komoly előnyöket más abszolút konfiguráció meghatározására alkalmas módszerekkel szemben. A nagyobb gyógyszergyárak között például a GlaxoSmithKline, a Bristol-Myers Squipp Co., a Wyeth/Pfizer, az Eli Lilly, és az AstraZeneca már kb. tíz éve rutinszerűen használja a VCD technikát.¹ A VCD-vel történt abszolút konfiguráció meghatározásokat az amerikai gyógyszergyártást felügyelő szervezet, az FDA (Food and Drug Administration) is hivatalosan elismeri.¹

3.2. A módszerek elterjedése Magyarországon és az ELTÉ-n

Elsősorban a kiroptikai módszerek használatát 1970-ben Humboldt-ösztöndíjasként Hamburgban Günther Snatzke mellett elsajátító Kajtár Márton iskolateremtő munkájának köszönhető, hogy ezek a módszerek hamar megjelentek Magyarországon, ezen belül az ELTÉ-n. Az első ORD spektropolariméter 1967-ben, az első UV-látható tartományban működő CD spektrométer 1971-ben került beszerzésre, ezeket modernebb készülékek váltották 1989-ben, majd 2001-ben. Időközben a CD-spektroszkópia több magyarországi egyetemen (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Debreceni Egyetem, Semmelweis Egyetem, Szegedi Tudományegyetem) és akadémiai kutatóintézetben (MTA TTK Enzimológiai Intézet, MTA TTK Molekuláris Farmakológiai Intézet) valamint a gyógyszeriparban (Richter Gedeon) is meghonosodott.

Az ELTE VCD készüléke (Bruker Equinox55 FT-IR PMA37 VCD egységgel) 2003 óta, míg a ROA (BioTools ChiralRAMAN-2X) készülék 2011 vége óta áll szolgálatban.

4. A rezgési optikai aktivitás elmélete

A közlemény terjedelmi korlátai miatt nem vállalkozhatunk arra, hogy részletesen tárgyaljuk a VCD és ROA spektrumok számításának elméletét. Ugyanakkor mindkét módszer esetében a mérések csak megbízható elméleti számításokkal összevetve adnak szerkezeti információt. Nincsenek a VCD sávok előjelét a szerkezetből megjósolni képes empirikus szabályok, ezért a számítások a módszerek elválaszthatatlan részét képezik. Az alábbi két alfejezetben csak rövid bevezetőt tudunk nyújtani, illetve a számításokra alkalmas programcsomagokat mutatjuk be. Az elméleti háttérrel alaposabban a [5,6,22,23] referenciákban ismerheti meg az érdeklődő olvasó.

4.1. A VCD spektroszkópia elmélete

Rosenfeld már a kvantummechanika hajnalán, 1928-ban közölte²⁴ a cirkuláris dikroizmus jelenségének leírásához szükséges formulát, ami érvényes az elektromágneses sugárzás bármely, így az UV-látható és IR tartományában is:

$$R_{ab} = \text{Im}\{\langle a|\boldsymbol{\mu}_e|b\rangle\langle b|\boldsymbol{\mu}_m|a\rangle\} \quad (1)$$

Ez alapján egy 'a' és 'b' állapot közti átmenethez tartozó rotációerősséget a kérdéses rendszert leíró elektromos és mágneses dipólusoperátorok segítségével lehet kiértékelni. Az operátorok a magok és az elektronok dipólus hozzájárulását is tartalmazzák.

Mint ahogy tükrözés hatására a mágneses operátor előjelet vált, enantiomer párok esetében azonos nagyságú és ellenkező előjelű rotációerősséget ad a számítás. Akirális molekulák esetén a rotációerősség zérus, ezért a képletben szereplő skalárszorzat tényezőinek, az elektromos és mágneses átmeneti momentumoknak egymásra merőleges vektoroknak kell lenniük.

Az alapvető összefüggések ismeretének ellenére a VCD rotációs erősségek kiértékelése nem vált lehetségessé az alkalmazott kvantumkémia és a számítógépek elterjedésével. A Rosenfeld-formula egyszerűsége ellenére is sok buktatót rejt. Rezgési állapotok esetén például mind az atommagok, mind az elektronok hozzájárulása az átmeneti dipólokhoz számottevő. Az elektronok hozzájárulását egyszerűbb kiértékelni, ha a molekula rezgéseit harmonikusnak, a rezgési torzulások hatását az elektromos dipólusmomentumra pedig lineárisnak tekintjük (kétszeresen harmonikus közelítés).

Az igazán komoly problémát a mágneses momentum viselkedése jelenti. Ugyanis a diamágneses molekulák stacionárius alapállapotában az elektronoknak nincs hozzájárulása a rendszer mágneses momentumához tetszés szerinti molekulageometria esetén sem. Ennek megfelelően a molekularezgésekhez társítható átmeneti mágneses momentumok csak az atommagok mozgásából származnának, ami nem adja vissza a fizikai valóságot.

A tökéletlen leírás mögött ez esetben sajnos a kvantumkémia egyik legalapvetőbb közelítése, a Born–Oppenheimer-közelítés áll. Azzal, hogy a magok és elektronok mozgását egymástól függetlenül vesszük, épp az elektronok mágneses momentumának kritikus tényezőjét hanyagoltuk

el. Minthogy a Born–Oppenheimer-közelítés, az eddig kifejlesztett kvantumkémiai módszerek alapköve, hosszú ideig csak heurisztikus és elég pontatlan módszereket tudtak alkalmazni a rotációerősségek számítására.

A fordulatot jelentő lépést Stephens tette meg.²⁵ A Born–Oppenheimer-közelítésen túllépve levezetett egy olyan kifejezést az elektronok mágneses átmeneti momentumára, amelyben csak az elektron-alapállapotot jellemző mennyiségek (történetesen analitikus deriváltak) szerepelnek. Ezeket a Born–Oppenheimer-közelítést használó programokkal is ki lehetett értékelni.

A VCD spektrumok gyors és megbízható számítása ma már számos programcsomagba be van építve. Legelőször a Gaussian programcsomagban jelent meg a rotációerősségek sűrűségfüggő (DFT) szintű számítása.^{26,27} A Dalton programcsomaggal Hartree-Fock (HF) és multikonfigurációs (MCSCF) módszereket használhatunk.²⁸ Szintén alkalmasak VCD spektrum számítására az ADF (DFT szinten)^{29,30} és a PQS (HF és DFT)^{31–33} programcsomagok is. A Gaussian programcsomaggal lehetőség az oldószerhatás is figyelembevételére. A legújabb eredmények nyomán a rezgési anharmonicitás VCD intenzitásokra gyakorolt hatását is figyelembe lehet venni, és a rezgési felhangok és kombinációs sávok rotációerősségét is lehet számolni.³⁴

A számítások eredményeként legtöbbször a rezgési sávok előjelét vetik össze a mérésekkel. Az általában megbízhatóan tekinthető elméleti végeredmény több tényezőből épül fel, abszolút értékben is kicsi és a számolás sok paraméterére is érzékeny lehet. Előfordulhat, hogy a VCD spektrum sok sávjából nem mindegyiknél adódik egyezés. Nicu és Baerends vezette be a sávok robusztusságának fogalmát,³⁵ amivel ezt a megfeleltetést könnyítik meg. Ugyanis lehetőség van arra, hogy csak a számítások alapján, a priori jelezzük, hogy az egyes sávok mennyire érzékenyek a molekula szerkezetének, vagy a számítás paramétereinek változására. Bár az eredeti szerzők által használt kritérium szerencsétlenül volt kiválasztva, a megbízhatóság hasonló előrejelzése fontos és hasznos, mert a nem robusztus sávokat és előjelüket az asszignáció során el lehet hanyagolni.

Nicuék megbízhatósági paraméterként az elektromos és mágneses átmeneti momentumok vektora által bezárt szöget választották. Ez akirális anyagoknál 90° kell legyen, ezért a derékszögtől távoli (<60°) szögek esetén tekintettek csak robusztusnak egy sávot. Valós sávok esetén azonban sajnos ez a szög nem jól definiált, nem egy mérhető fizikai mennyiség, hisz a mágneses momentumvektor iránya és nagysága függ a számításban használt koordináta-rendszerrel is, csak a mágneses és az elektromos momentumok skalárszorzata független a koordináta-rendszer megválasztásától.

Csoportunk definiált és bevezetett^{36,37} egy alternatív (és korrekt) megbízhatósági paramétert, ami tapasztalataink szerint megkönnyíti az összetett spektrumok egyértelmű hozzárendelését, hisz intenzívebb sávokról is meg tudja mutatni, hogy nagyon könnyen válhatnak előjelet.

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

Ez két fizikai mennyiségnek, az k -dik sáv rotátorerősségének és dipólerősségének aránya. Az átmenetimomentumvektorokat tekintve azt mutatja meg, hogyan viszonyul az elektromos átmeneti momentumvektor ($\mu_{e,k}$) nagyságához a mágneses átmeneti momentum vele azonos irányba mutató komponense. ζ a két vektor variábilis szöge. Akkor nem lesz egy sáv ez szerint robusztus, ha a kicsi és bizonytalan mágneses átmeneti dipólus ellenére nagyobb a rotátorerőssége a sáv igen magas dipóluserőssége miatt.

4.2. A ROA spektroszkópia elmélete

A Raman-szórás első közelítésben a fény, mint elektromágneses sugárzás elektromos tere (\mathbf{E}) és a molekula polarizálhatósága (α) közötti kölcsönhatásként lehet leírni. A fény hatására időben változó indukált elektromos dipólusmomentum (μ) jön létre. β -irányú elektromos tér a következő α irányú indukált elektromos dipólt indukálja:

$$\mu_{e,\alpha} = \alpha_{\alpha\beta} E_{\beta}. \quad (3)$$

Az elektromos tér a besugárzó fény frekvenciájával (ν_0) időben változik:

$$E_{\beta} = E_0 \sin 2\pi\nu_0 t; \quad (4)$$

míg a polarizálhatóság a molekularezgések frekvenciájával változik az időben. Harmonikus közelítésben az i -dik normálrezgés hatása a polarizálhatóságra:

$$\alpha_{\alpha\beta} = \alpha_{0,\alpha\beta} + \alpha_{1,\alpha\beta} \sin 2\pi\nu_i t. \quad (5)$$

Behelyettesítve a következő egyenletet kapjuk:

$$\begin{aligned} \mu_{e,\alpha} &= E_0 (\alpha_{0,\alpha\beta} + \alpha_{1,\alpha\beta} \sin 2\pi\nu_i t) \sin 2\pi\nu_0 t = \\ &= \alpha_{0,\alpha\beta} E_0 \sin 2\pi\nu_0 t + \\ &+ \frac{1}{2} \alpha_{1,\alpha\beta} E_0 \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_i) t + \\ &+ \frac{1}{2} \alpha_{1,\alpha\beta} E_0 \cos 2\pi(\nu_0 + \nu_i) t, \end{aligned} \quad (6)$$

ahol az első tag a Rayleigh-szórás, míg az utolsó két tag a Stokes, illetve az anti-Stokes szórás adja meg. Klasszikus képben ez az időben változó dipól kelti a szórt elektromágneses sugárzást.

A fenti leírás azonban csak a Raman-szórás legnagyobb tagját adják meg, ami nem ad királis információt. Precízebb leírásban az indukált elektromos dipólt olyan sorfejtéssel fejezhetjük ki, amelyben a besugárzó fény mágneses terének (\mathbf{B}) hatása és magasabb rendű molekuláris tenzorok is szerepelnek. Abban az esetben, ha a fény hullámhossza távol van minden gerjesztés hullámhosszától:

$$\mu_{e,\alpha} = \alpha_{\alpha\beta} E_{\beta} + \frac{1}{2\pi\nu_0} G'_{\alpha\beta} \dot{B}_{\beta} + \frac{1}{3} A_{\alpha\beta\gamma} \nabla_{\beta} E_{\gamma} + \dots, \quad (7)$$

ahol \mathbf{G}' az elektromos dipól – mágneses dipól tenzor, \mathbf{A} pedig az elektromos dipól – elektromos kvadrupól tenzor.

Az időfüggő perturbáció-elmélet szerint a fent bevezetett három tenzor az 'a' és 'b' állapotok ismeretében a következőképpen számítható:

$$\alpha_{\alpha\beta} = \frac{2}{\hbar} \sum_{a \neq b} \frac{\omega_{ab}}{\omega_{ab}^2 - \omega_0^2} \operatorname{Re} \left(\langle a | \mu_{e,\alpha} | b \rangle \langle b | \mu_{e,\beta} | a \rangle \right), \quad (8)$$

$$G'_{\alpha\beta} = \frac{1}{\hbar} \sum_{a \neq b} \frac{\omega_{ab}}{\omega_{ab}^2 - \omega_0^2} \operatorname{Im} \left(\langle a | \mu_{e,\alpha} | b \rangle \langle b | \mu_{m,\beta} | a \rangle \right), \quad (9)$$

$$A_{\alpha\beta\gamma} = \frac{1}{\hbar} \sum_{a \neq b} \frac{\omega_{ab}}{\omega_{ab}^2 - \omega_0^2} \operatorname{Re} \left(\langle a | \mu_{e,\alpha} | b \rangle \langle b | \theta_{\beta\gamma} | a \rangle \right), \quad (10)$$

ahol a $\mu_{m,\beta}$ a β -irányú indukált mágneses momentum:

$$\mu_{m,\beta} = -\frac{1}{\omega} G'_{\alpha\beta} \dot{E}_{\beta} + \dots, \quad (11)$$

$\theta_{\alpha\beta}$ pedig az indukált elektromos kvadrupól momentum tenzoreleme:

$$\theta_{\alpha\beta} = A_{\alpha\beta\gamma} E_{\gamma} + \dots \quad (12)$$

A gyakorlatban (akár gáz, akár oldat vagy folyadék, vagy por minta vizsgálatok) a molekulák rendezetlenül, a tér minden irányba állhatnak. Ha statisztikusan átlagolunk minden orientációra, akkor a fenti egyenletekből csak két független izotróp:

$$\alpha = \frac{1}{3} (\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}), \quad (13)$$

$$G' = \frac{1}{3} (G'_{xx} + G'_{yy} + G'_{zz}) \quad (14)$$

és három független anizotróp paraméter adódik:

$$\beta(\alpha)^2 = \frac{1}{2} (3\alpha_{\alpha\beta} \alpha_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha} \alpha_{\beta\beta}), \quad (15)$$

$$\beta(G')^2 = \frac{1}{2} (3\alpha_{\alpha\beta} G'_{\alpha\beta} - \alpha_{\alpha\alpha} G'_{\beta\beta}), \quad (16)$$

$$\beta(A)^2 = \frac{1}{2} \omega \alpha_{\alpha\beta} \varepsilon_{\alpha\gamma\delta} A_{\gamma\delta\beta}, \quad (17)$$

ahol $\varepsilon_{\alpha\gamma\delta}$ a Levi-Civita permutációs jel. A fenti ún. ROA-paraméterekkel minden kísérleti összeállításra (SCP, ICP, DCP_I és DCP_{II}), és bármilyen szórási geometriára megadható a ROA intenzitás. A ROA intenzitáson (Δ) matematikailag a következőt értjük:

$$\Delta = (I^R - I^L) / (I^R + I^L), \quad (18)$$

ahol I^R és I^L a cirkulárisan jobbra és balra polarizált fény intenzitása. Visszaszórási geometria esetében például a következő ICP- és DCP_I-ROA intenzitások vezethetők le:²³

$$A(180^\circ, \text{ICP}) = \frac{48 \left[\beta(G')^2 - \frac{1}{3} \beta(A)^2 \right]}{2c \left[45\alpha^2 + 7\beta(\alpha)^2 \right]}, \quad (19)$$

$$A(180^\circ, \text{DCP}_I) = \frac{48 \left[\beta(G')^2 - \frac{1}{3} \beta(A)^2 \right]}{12c\beta(\alpha)^2}. \quad (20)$$

A 2.2 fejezetben említettük, hogy a szórás geometriájától is függ a ROA intenzitás. Példaként előre szórás esetében a következő ICP-ROA intenzitások adódnak:²³

$$\Delta(0^\circ, \text{ICP}) = \frac{8[45\alpha G' + \beta(G')^2 - \beta(A)^2]}{2c[45\alpha^2 + 7\beta(\alpha)^2]} \quad (21)$$

Ugyan a ROA spektrumok számítása a VCD spektrumokéhoz képest kevésbé rutinszerű, és jelentősen nagyobb számítógépes kapacitást igényel, az utóbbi években egyre effektívebb és gyorsabb kódok jelentek meg. A Gaussian programcsomaggal HF és DFT módszerekkel,²⁷ a DALTON programmal HF, DFT és MCSCF,^{28,38,39} a PSI4 kóddal⁴⁰ pedig már a jóval precízebb CC (coupled-cluster) módszerrel is,⁴¹ míg az ADF programcsomaggal DFT szinten, rezonancia közelében^{29,42} is számíthatunk ROA spektrumokat.

5. A VOA módszerek legfőbb előnyei a többi abszolút kiralitás meghatározására alkalmas módszerekkel szemben

Agyógyszerkémiaiában a legelterjedtebb abszolút konfiguráció meghatározási módszer az anomális röntgendiffrakció. Ez a módszer hosszabb előkészítést igényel, nehézatomot kell beépíteni a molekulába, vagy nehézatom ionjával kell sőt képezni, ezután egykristályt növesztetni. A vizsgálathoz tiszta anyagokra, sőt enantiomertiszta anyagra van szükség.

Királis shift reagensek segítségével az NMR spektroszkópia is lehetőséget nyújt az abszolút kiralitás meghatározására. Ehhez azonban elsőként a shift reagens és a vizsgált molekula között létrejövő sokszor bonyolult komplex térszerkezetét kell felderíteni. A feladat komplexitása miatt ez egy viszonylag ritkábban alkalmazott módszer.

Az UV-látható tartományban alkalmazott ECD (és ORD) spektroszkópia szintén régóta elterjedt módszer az abszolút konfiguráció meghatározásának gyakorlatában. A módszer mellett az egyszerű kivitelezhetőség, gyors mintaelőkészítés, rövid mérési idő, és az alacsony költségek szólnak. Ugyanakkor elengedhetetlen előfeltétel az, hogy a vizsgált molekulában jelen legyen egy kromofórcsoport. Nehézséget jelenthet az is, hogy korábban nem vizsgált molekula esetében a spektrumok értelmezéséhez a sávok előjelét empirikus szabályok, vagy ab initio módszerek segítségével ki kell számítani. Az empirikus szabályok sok esetben jól működnek, de nehéz előre megjósolni korlátaikat. Az ab initio számításoknál pedig az okoz nehézségét, hogy az elektronikus CD (ECD) spektrumok számításához gerjesztett állapotok számítására van szükség. Az alap elektronállapotú molekula tulajdonságaival szemben a gerjesztett állapotok számítása ma sem teljesen rutinszerű feladat, jóval nagyobb gyakorlatra és elővigyázatosságra van szükség. Mivel az ECD spektrumokban csak ritkán fordul elő több mint 2–3 sáv, ezért egy-egy sáv előjelének hibás becslése megbízhatatlan vagy rossz abszolút konfiguráció meghatározásához vezethet. Éppen a fenti nehézségek miatt a gyakorlatban elterjedt a módszer kombinálása olyan kémiai lebontással vagy átalakítással, amely már ismert konformációjú termékhez vezet. Ebben az esetben az abszolút kiralitás meghatározása már rutinszerűen elvégezhető a termék optikai rotációjának mérésével. Ugyanakkor az átalakítás időigényes, és nehézkessé teszi az, hogy racemizáció nem következhet be az átalakítás során.

A VCD és ROA spektroszkópiára szintén elmondhatók azok az előnyök, amelyek az ECD spektroszkópiát is

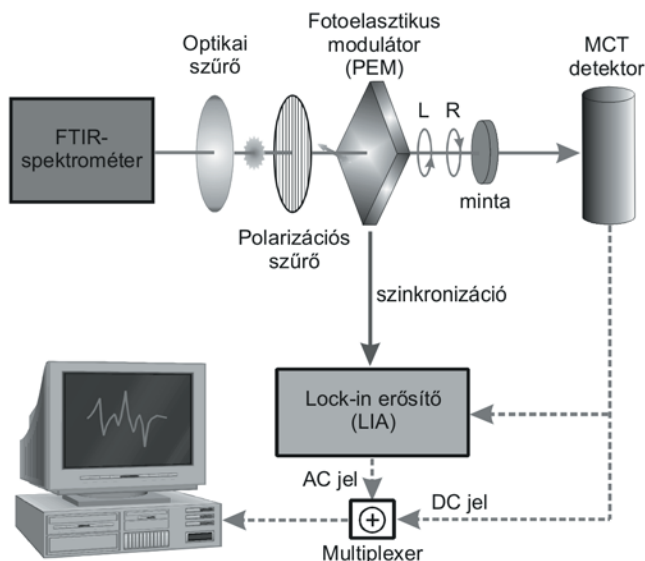
jellemzik; azaz olcsó és egyszerű a mintaelőkészítés, nincs szükség kristályosításra, shift reagensre. A mintának nem kell enantiomer tisztának lennie, mintegy 10%-os enantiomerfelesleg is elég a meghatározáshoz. Valamivel, de nem jelentősen hosszabb az átlagos mérési idő, mint ECD spektroszkópia esetében, ugyanakkor az ECD-vel szemben nincs szükség kromofórcsoportra és kémiai átalakításra sem. Ez egyrészt annak köszönhető, hogy a spektrumértékeléshez kvantumkémiai módszerekkel számított VCD és ROA spektrumok jóval megbízhatóbbak, mint a számított ECD spektrumok, mivel nincs szükség gerjesztett állapotok tulajdonságainak számítására (lásd 4. fejezet). Másrészt úgy a VCD, mind a ROA spektrumok sokkal részletgazdagabbak, mint az ECD spektrumok. A közepes és kis molekulák esetében is egy vagy akár több tucat sávra is lehet alapozni a konfiguráció meghatározását, azaz egy-egy rossz előjellel jelzett sáv nem befolyásolja számottevően az asszignáció megbízhatóságát. A VCD spektrumok értelmezésének megbízhatóságát az is növeli, hogy a számított előjelek és intenzitások mellett az egyes sávokhoz megbízhatósági faktort (lásd 4. fejezet) kapunk a számításokból.

Mivel a VCD és ROA spektrumok érzékenyebbek a konformációra, mint az ECD spektrumok, ezért flexibilis, multikonformációs molekulák esetében az abszolút konfiguráció meghatározása a konformációs eloszlás egyidejű meghatározásával lehetséges. Ez ugyan azt jelenti, hogy ilyen molekulák esetén az abszolút konfiguráció meghatározása nem rutinszerű, nagyobb gyakorlatot igényel, de egyben több információt is szolgáltat. A konformációval szembeni érzékenységük miatt a VOA módszereket az abszolút konfiguráció meghatározásán kívül – ismert vagy ismeretlen abszolút konfigurációjú vegyületek – konformációanalízisére is széleskörűen használják. Mivel a ROA esetében leggyakrabban használt oldószer a víz, ezért ez a módszer kiválóan alkalmas biomolekulák natív környezetben felvett térszerkezetének tanulmányozására is.

6. A VCD és ROA spektrométerek felépítése

6.1. A VCD készülék

A VCD spektrométer lényegében egy olyan módosított infravörös spektrométer, amely cirkulárisan polarizált infravörös sugárzás előállítására képes optikai eszközökkel van kiegészítve, és képes megmérni a királis minta balra- ill. jobbra cirkulárisan polarizált fényben mutatott abszorpciójának különbségét hullámszám függvényében. A manapság kereskedelemben forgalmazott készülékek mind Fourier-transzformációs elven működnek. Amint azt korábban említettük, a műszerek lehetnek dedikált FT-VCD vagy pedig Fourier-transzformációs infravörös spektrométerhez kapcsolható VCD feltétek. Az utóbbi esetben az alap FT-IR spektrométer tartalmazza a sugárforrást és az interferométert, a kilépő infravörös nyaláb szoftveres vezérléssel átirányítható a saját mintatérrel és detektorral rendelkező kiegészítő VCD modulba. Ezzel a megoldással találkozunk az ELTE TTK Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratóriumában, ahol egy Bruker Equinox55 FT-IR spektrométerből és egy PMA37 típusú VCD modulból álló műszeregyüttes üzemel. A konkrét megoldástól függetlenül, az FT-VCD spektrométerek lényegében azonos elven működnek (4. ábra).



4. Ábra. Egy VCD spektrométer sematikus felépítése.

Az FT-IR spektrométer sugárforrásából származó és a készülék interferométeréből kilépő nem polarizált infravörös nyalábot előbb egy cserélhető optikai szűrőn bocsátjuk keresztül, így az infravörös sugárzást a kívánt spektrumtartományra korlátozzuk. A legjobb jel/zaj viszony ugyanis úgy érhető el, hogy a lehető legszűkebb spektrumtartományra a lehető legnagyobb fényintenzitást biztosítjuk. A nyaláb fényintenzitása az FT-IR spektrométer apertúrájával szabályozható. A nyaláb ezt követően egy polarizációs szűrőn halad át. Ez általában egy tallium-jodid-bromid (KRS-5) hordozóra felvitt, igen finom osztású optikai rácsot képező fémréteg, amely lineáris polarizátorként az infravörös fényt vízszintes síkban polarizálja.

A VCD spektrométer legfontosabb eleme a ZnSe egykristályt tartalmazó fotoelasztikus modulátor (PEM), amelynek főtengelye 45° -os szöget zár be a belépő fény polarizációs síkjával. A ZnSe kristály sajátossága, hogy főtengelye menti vagy arra merőleges irányú mechanikai hatás (nyomás vagy nyújtás) kettőtörésűvé válik, azaz a fő- és melléktengelye mentén eltérő lesz a törésmutatója, az eltérés mértéke a mechanikai hatás erősségétől függ. A PEM-en áthaladó fény terjedési sebessége így különböző lesz e tengelyek által definiált két egymásra merőleges síkban. Mivel a lineárisan polarizált belépő fényhullám felbontható két egymásra merőleges síkban terjedő, azonos fázisú hullámkomponensre, a polarizációs szűrő síkjának és a modulátor tengelyének egymáshoz viszonyított 45° -os elrendezéséből adódóan e két komponens pontosan a ZnSe kristály fő- és melléktengelyének síkjában terjed. A modulátor kristályát érő nyomás szabályozásával elérhető, hogy a két komponens fáziskülönbsége a modulátorból való kilépéskor adott λ hullámhosszra pontosan $\lambda/4$ legyen, aminek eredménye bal- vagy jobbirányú cirkulárisan polarizált fény. A modulátor ZnSe kristályát jól meghatározott modulációs frekvenciával (ez általában 50 vagy 37 kHz) egy piezoelektromos szerkezet periodikusan deformálja, így a modulátort elhagyó infravörös sugárzás váltakozó irányú cirkulárisan polarizált fényként halad át a királis mintán, miközben differenciáltan nyelődik el. Az eredmény a detektorban (mely rendszerint nagyérzékenységű, alacsony zajszintű, cseppfolyós N_2 -nel hűtött MCT detektor)

keletkező olyan elektromos jel, amely a modulációs frekvencián hordozza a királis információt.

A tisztán királis információt hordozó modulált jelet a fotoelasztikus modulátorral (PEM) szinkronizált lock-in erősítő (LIA) segítségével csatoljuk le, ezt különbség- vagy AC jelnek (AC interferogramnak), míg a LIA-t megkerülő globális jelet összeg- vagy DC jelnek (DC interferogramnak) nevezik. Ez utóbbi lényegében az egycsatornás infravörös spektrum Fourier-transzformáltja. E két jel feldolgozásának konkrét megvalósításában az egyes VCD spektrométerek eltérhetnek, így például a BioTools legújabb, ChiralIR-2X spektrométere esetében lock-in erősítőre már nincs is szükség, mivel a jelfeldolgozást egy dedikált áramkör segítségével a vezérlő számítógép végzi. A Bruker PMA37 készüléke egy multiplexert alkalmazva összefésüli a digitalizált AC és DC interferogramot úgy, hogy az adatok váltakozva az AC illetve DC jelhez tartoznak. A multiplex interferogram feldolgozását (az AC és DC interferogramok szétválasztását, apodizációját, fázis-korrekcióját, Fourier-transzformációját, stb.) dedikált szoftver végzi el. Ennek a megoldásnak az előnye, hogy az AC és DC jelet garantáltan azonos körülmények közt (egyidejűleg) mérjük, és egyetlen méréssel megkapjuk mind a VCD, mind pedig az egycsatornás infravörös spektrumot. A nyers VCD spektrum az AC és DC interferogramokból Fourier-transzformációval nyert egycsatornás spektrumok hányadosaként definiálható.

A fotoelasztikus modulátor működési elvéből adódóan a tökéletes cirkulárisan polarizált fény létrejöttéhez szükséges $\lambda/4$ fáziskülönbség csak egyetlen λ hullámhosszú ($\tilde{\nu}$ hullámszámú) fénykomponensre teljesül, ennek értékét a mérendő spektrumtartomány közepére célszerű beállítani. Mivel a modulátor hatékonysága hullámszámfüggő, a nyers VCD spektrum intenzitását egy kalibrációs spektrummal kell korrigálni, amelyet egy kettőtörésű CdS kalibrálókristály és egy második, az analízator szerepét betöltő lineáris polarizátor segítségével nyernek.

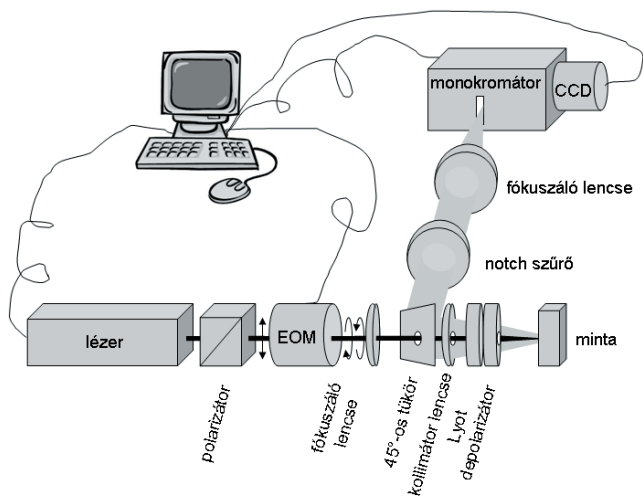
A VCD spektroszkópiai mérések egyik fő problémája az alacsony jel/zaj viszony mellett az alapvonal egyenletlensége és a mérési artifaktumok. Ezek részben az egyes optikai elemek tökéletlenségéből, részben a detektor nemlinearitásából és az infravörös nyaláb polarizációs állapotára való érzékenységéből adódnak. Az alapvonal-problémák jelentős része kiküszöbölhető a BioTools által szabadalmaztatott „dual-PEM” felépítéssel. Ennek lényege, hogy a minta és a detektor közé egy második fotoelasztikus modulátort iktatunk be, és e második modulátorral szinkronizált AC jelet kivonjuk az első (a minta előtti) modulátorral szinkronizált AC jelből. A minta esetleges orientációjából származó (elsősorban szilárd minták esetében jelentkezik) lineáris dikroizmus, valamint a küvettkék anyagának esetleges kettőtöréséből származó artifaktumok egy forgó mintatartó és a „dual-PEM” megoldás együttes használatával lényegesen csökkenthetők.

6.2. Az ICP-ROA készülék

Egy ICP-ROA készülék sematikus rajzát az 5. ábra mutatja. Mint minden mai modern Raman készülékben, a ROA készülékben is a monokromatikus fényt egy lézer szolgáltatja. Ha a kísérletben olyan lézert használnak, amelynek fénye nem, vagy csak kis mértékben polarizált,

akkor a fénynyaláb először egy polarizátoron halad keresztül. A síkban polarizált lézernyaláb ezután egy elektrooptikai modulátorra (EOM) jut. Az EOM a PEM-hez hasonlóan egy olyan kristály, amelyben a két eltérő síkban terjedő fény sebessége eltérő lehet, a két sebesség aránya (azaz a relatív törésmutató) külső hatással változtatható. A PEM-mel szemben ez a külső hatás nem mechanikai összenyomás, hanem elektromos tér. Az EOM-et elhagyó fénynyalábbal, amely időben váltakozik a jobbra és balra cirkulárisan polarizált fény között, sugározzák be a mintát.

Az 5. ábra a leginkább alkalmazott, visszaszórásos (180° -os) elrendezést mutatja be. Először a szórt fény polarizációját egy ún. Lyot-depolarizátorral szüntetik meg. Lencserendszerrel párhuzamosítják a szórt fényt, majd egy tükrök segítségével eltérítik a fénynyalábot. (Mivel a szórt fény optikai tengelye egy irányba esik a beeső lézernyaláb optikai tengelyével az utóbbi három optikai elem, azaz a Lyot-depolarizátoron, a lencserendszeren és a tükrön való keresztüthaladáskor, ezért a jóval kisebb átmérőjű lézernyaláb akadálymentes terjedéséhez kis résekkel látják el e három optikai elem közepét.) Ezután egy olyan optikai szűrő segítségével, amely csak egy szűk tartományban nem engedi át a fényt (ún. notch filter), kiszűrik a szórt fényből a lézer hullámhosszának megfelelő fényt. A fénynyalábot ezután egy monokromátor belépő részére fókuszálják. A monokromátor hullámhossz szerint egy CCD detektorra teríti a fényt. A CCD-ből pedig az EOM frekvenciájának megfelelő sebességgel olvassák ki a jobbra és a balra cirkulárisan polarizált besugárzó lézerfényhez tartozó Raman spektrumokat, majd ezek különbségéből előállítják a ROA spektrumot.

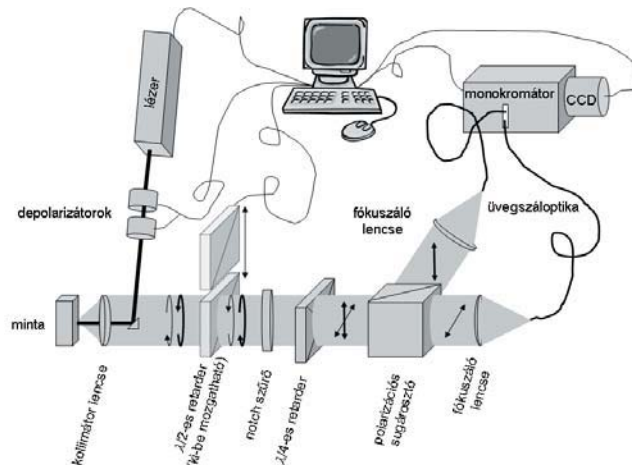


5. Ábra. Egy ICP-ROA spektrométer sematikus felépítése.

6.3. Az SCP-ROA készülék

A jelenleg működő SCP-ROA készülékek, így a BioTools ChiralRAMAN-2X készüléke is, a Werner Hug és csoportja által kifejlesztett SCP-ROA berendezés alapján épültek. Egy ilyen SCP-ROA készülék leegyszerűsített sémáját mutatja be a 6. ábra. Az SP-ROA készülékek esetében először a lézerfény esetleges polarizációjától kell megszabadulni. A ChiralRAMAN-2X készülékekbe frekvenciakétszerezett, 532 nm hullámhosszon lineárisan polarizált fényt kibocsátó Nd:YAG lézert építenek be. A polarizációt úgy szüntetik meg, hogy két kettőtörő kristályt helyeznek a fény útjába,

és ezeket gyorsan és eltérő sebességgel forgatják. Ez időátlagban polarizálatlan fényt eredményez. Egy kis prizma segítségével irányítják ezt a fényt a mintára.



6. Ábra. Egy SCP-ROA spektrométer sematikus felépítése.

A ChiralRAMAN-2X készülék is a visszaszórt fényt gyűjti össze egy gyűjtő és párhuzamosító lencserendszer segítségével. A szórt fényben elvileg a kétféle cirkulárisan polarizált fényt kell vizsgálni. Ez a gyakorlatban úgy történik, hogy a szórt fényt egy notch szűrőn keresztül egy $\lambda/4$ -es kettőtörő folyadékkristályra (quarter-waveplate, $\lambda/4$ -es retarder) vezetik. A $\lambda/4$ -es kettőtörő folyadékkristály a jobbra cirkulárisan polarizált fényből síkban polarizált fényt, a balra cirkulárisan polarizált fényből szintén síkban, mégpedig az előzőre merőleges síkban polarizált fényt állít elő. A két egymásra merőleges síkban polarizált fény ezután egy polarizációs sugárosztóra (Wollaston-prizma) kerül, amely az egyik síkban polarizált fényt tovább engedi, míg az erre merőleges polarizációjú az eredeti optikai tengelyre merőlegesen visszaveri.

A polarizációs sugárosztó után a két fénynyalábot egy-egy lencsével üvegszáloptikára (pontosabban egy-egy több üvegszálból álló üvegszáloptika-kötegre) fókuszálják. Az üvegszáloptika segítségével mindkét fénynyalábot ugyanabba a monokromátorba vezetik be úgy, hogy a monokromátor optikai rácsának alsó felét az egyik, a felső felét a másik fénynyaláb világítja meg. Így a monokromátor úgy vetíti a fényt a CCD detektor síkjára, hogy a pixeleket egyik irányban kétfelé osztja, az egyik feléhez az egyik, a másik feléhez pedig a másik (azaz az eredetileg jobbra és az eredetileg balra cirkulárisan polarizált) fénynyalábból érkeznek fotonok. Az erre merőleges irányban a fény hullámhossz szerint bomlik fel. A ROA spektrumot a CCD két félterének különbségként kapjuk.

Mivel ebben az esetben a ROA spektrumot nem időben egymást követő mérések különbségként mérjük, ezért az ilyen elven működő SCP-ROA spektrométer jobb jel/zaj paraméterrel rendelkezik, mint a fentiekben leírt ICP-ROA spektrométer.

A $\lambda/4$ -es kettőtörő folyadékkristályra kapcsolt elektromos feszültség polaritásának megfordításával az általa létrehozott síkban polarizált komponensek 90° -kal elfordulnak, így a CCD kamera két térélfére továbbított fénynyalábok is felcserélődnek. A direkt és inverz polaritás mellett felvett

spektrumok különbsége kiküszöböli a CCD kamera két térfelének eltérő érzékenységet, valamint a két fényút eltérő optikai transzmisszióját.

Az alapvonalhibák csökkentése céljából a szórt fény útjába egy ki-be mozgatható $\lambda/2$ -es kettőtörő kristályt (half-waveplate, $\lambda/2$ -es retarder) is be szoktak építeni a notch szűrő elé. A spektrumot úgy is felveszik, hogy ez bent van, illetve úgy is, hogy ez nincs bent a fényútban. A $\lambda/2$ -es retarder a cirkulárisan polarizált fény irányát megfordítja, ezáltal az optika egy ún. „virtuális enantiomer” spektrumot állít elő. Az ilyen módon nyert „virtuális enantiomer” spektrumok egymásból való kivonása a műszer egyes optikai elemeinek nemkívánatos cirkuláris és lineáris polarizációt okozó hibáiból adódó alapvonal-egyenetlenségek és artifaktumok kiküszöbölését teszi lehetővé.

Átalakítással, cirkulárisan (vagy lineárisan) polarizált fényvel besugározva az SCP-ROA készülékekkel DCP- (vagy LCP-SCP-) ROA spektrumot is fel lehet venni. Hangolható lézer segítségével pedig rezonancia-SCP-ROA kísérleteket is vezettek már.

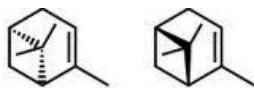
Mivel a ROA intenzitás nagyon kicsi, ezért a ROA készülékek, így a kereskedelemben kapható ChiralRAMAN-2X készülék felbontása sem nagy, kb. 8–10 cm^{-1} . Cserébe viszont a ChiralRAMAN-2X ROA spektrométer egyben a kereskedelemben kapható egyik legérzékenyebb Raman spektrométer is.

7. Példák a VOA módszerek alkalmazására

Az alábbiakban néhány kiragadott példát mutatunk be a módszer alkalmazására, és a számított spektrumok megbízhatóságára. További példák találhatóak az [5,22,23,43–47] referenciákban.

7.1. Kis és közepes méretű merev molekulák

Kismolekulák VOA módszerekkel történő abszolút konfiguráció meghatározását az α -pinén (7. ábra) példáján mutatjuk be. A 8. és a 9. ábrán a hígítatlan R (+)- α -pinén és S (-)- α -pinén mért, valamint az R (+)- α -pinén B3LYP/ aug-cc-pVTZ számított VCD és (SCP)-ROA spektrumát mutatjuk. (A számításokat természetesen elég csak az egyik enantiomerre elvégezni, hiszen az enantiomerek esetében a rezgési frekvenciák és intenzitások megegyeznek, csak a sávok előjelet váltanak.) Jól látszik, hogy a két enantiomer mért spektruma szinte tökéletes tükörképe egymásnak, azaz sem a VCD sem a ROA spektrumban nem jelennek meg mérési artifaktumok.

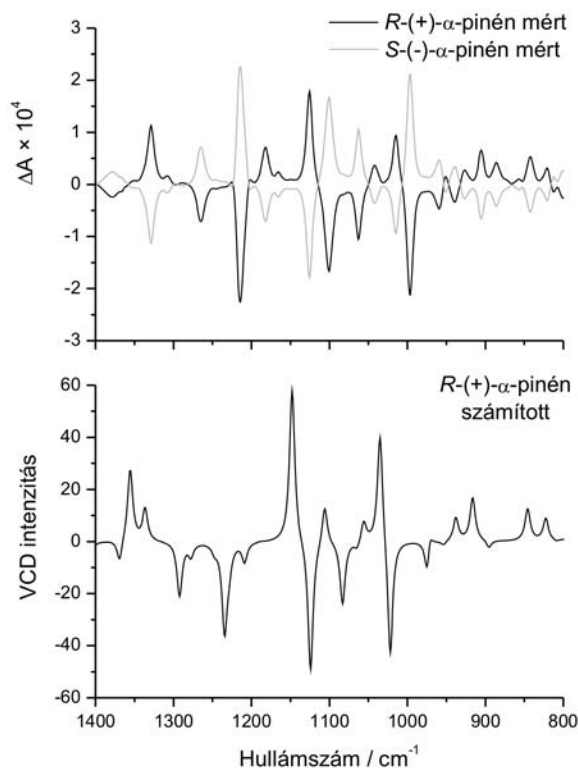


7. Ábra. Az R (+)- α -pinén és a S (-)- α -pinén.

A számításokat és a méréseket összevetve ránézésre is jól látható, hogy az intenzívebb sávok mért és számított előjele, valamint relatív intenzitása kiváló egyezést mutat mind a VCD, mind a ROA spektrumok esetében. (Az elméleti spektrumok esetében skálázást nem alkalmaztunk, így a legtöbb számított hullámhosszérték kissé nagyobb

értéknél látható, mint a mért spektrum esetében. Az egyezés skálázással javítható.) A kiváló egyezés teljesen egyértelmű abszolút konfiguráció meghatározását tesz lehetővé, amit nem befolyásol az, hogy a tucatnyi jó egyezést mutató nagy és közepes intenzitású sáv mellett egy-egy kis intenzitású (pl. a VCD spektrumban 900 cm^{-1} körül) sáv számított és mért előjele nem egyezik. A VCD spektrumok esetében a számítások is megmutatják, hogy ezek az utóbbi sávok nem robosztus sávok (lásd 4.1 fejezet), előjelük bizonytalan, a kiértékelésnél ezeket nem kell figyelembe venni.

A bemutatott VCD és ROA spektrumok esetében ki kell emelni, hogy a spektrumok felvételéhez egy, illetve fél órányi mérési időt alkalmaztunk. A mérések előkészítése néhány percet vesz igénybe, a kiértékelésekhez elengedhetetlen számítások pedig egy nem nagy teljesítményű személyi számítógépen is néhány óra alatt lefutnak. Összességében megállapítható, hogy egy ekkora merev, gyenge intermolekuláris kölcsönhatásokat kialakító molekula abszolút konfiguráció meghatározása kis gyakorlattal már pár óra alatt elvégezhető. Ahogy azt a következő fejezetben tárgyaljuk, az intermolekuláris kölcsönhatásokat oldószermodellel, a molekulák flexibilitását pedig konformációanalízissel vehetjük figyelembe. Ilyenkor az analízis valamivel több gyakorlatot igényel, a spektrum kiértékelése ilyenkor is elvégezhető néhány nap alatt.

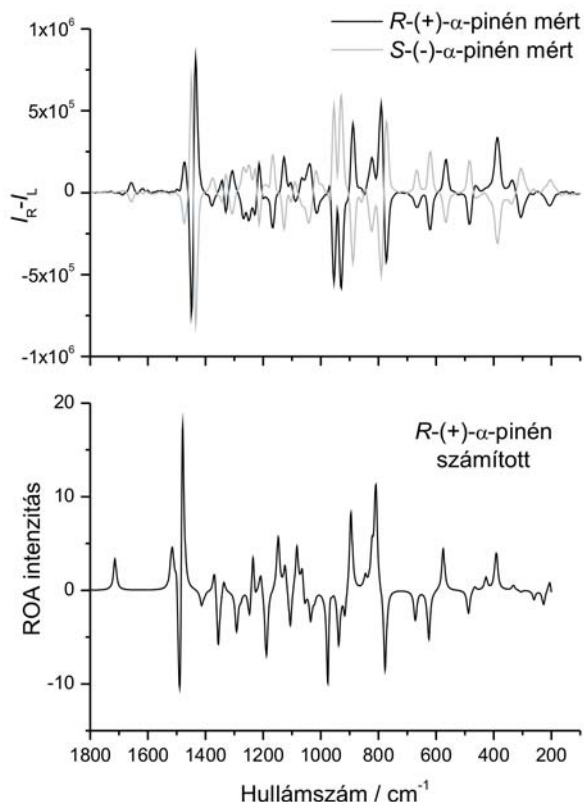


8. Ábra. Az R (+)- α -pinén és az S (-)- α -pinén mért (1 óra mérési idő, 4 cm^{-1} -es felbontás, hígítatlan minta, 50 μm -es BaF_2 küvetta) és az R (+)- α -pinén számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ, oldószermodell nélkül) VCD spektruma. A spektrumok az ELTE Equinox 55 FTIR + VCD PMA 37 készüléken lettek felvéve.

7.2. Kis és közepes méretű flexibilis molekulák

Mivel a VCD és a ROA spektrum nemcsak az abszolút konfigurációtól, hanem a konformációtól is függ, flexibilis molekulák esetén az elméleti spektrum számítása mellett

konformációanalízist kell végezni, azaz meg kell becsülni az egymással dinamikus egyensúlyban levő konformerek populációját. Ehhez rendszerint Boltzmann-eloszlást tételezünk fel, és egy adott T hőmérsékleten az i -edik konformer relatív populációját a (22) képlettel számítjuk ki, ahol ΔG_i° az adott konformernek a legkisebb energiájú konformerhez viszonyított szabadentalpia-különbsége.

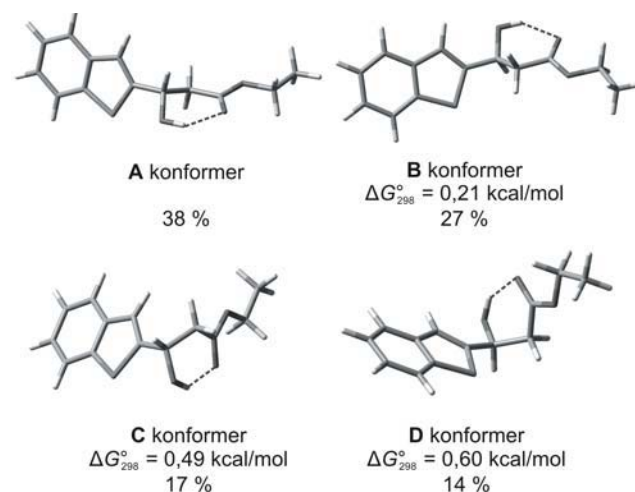


9. Ábra. Az $R(+)$ - α -pinén és az $S(-)$ - α -pinén mért (0,5 óra mérési idő, kb. $8\text{--}10\text{ cm}^{-1}$ -es felbontás, 80 mW lézerteljesítmény, 532 nm lézershullámhossz, hígítatlan minta, kvarcküvetta) és az $R(+)$ - α -pinén számított (B3LYP/aug-cc-pVTZ, oldószermodell nélkül) SCP-ROA spektruma. A spektrumok az ELTE ChiralRAMAN-2X készülékén lettek felvéve.

$$p_i = e^{-\frac{\Delta G_i^\circ}{RT}} / \sum_i e^{-\frac{\Delta G_i^\circ}{RT}} \quad (22)$$

Mivel a spektrumhoz minden konformer hozzájárul a saját populációjának mértékében, a flexibilis molekula elméleti spektruma ($S(v)$) legjobban az egyes konformerek számított spektrumának ($S_i(v)$) populációval súlyozott összegeként írható le, azaz $S(v) = \sum_i p_i S_i(v)$. Flexibilis molekulák esetén tehát a kísérleti és elméleti spektrum közti jó egyezést a populációk becslésének pontossága is befolyásolja. Mivel a mérések gyakran oldatfázisban történnek, és az oldószer akár jelentősen befolyásolhatja a konformerelegy összetételét, célszerű mind a konformációanalízis, mind a spektrumok számítása során valamilyen oldószermodellt alkalmazni. Különösen fontos az oldószermodell használata akkor, ha a vizsgált molekula és az oldószer között számottevő szolvatáció jöhet létre. Leggyakrabban polarizált kontinuum oldószermodelleket alkalmaznak,^{48,49} de H-kötést kialakító oldószer (pl. víz) esetében gyakran csak explicit oldószermolekulákkal (azaz a vizsgált molekula és az oldószer komplexére) történő számítás ad megfelelő eredményt.

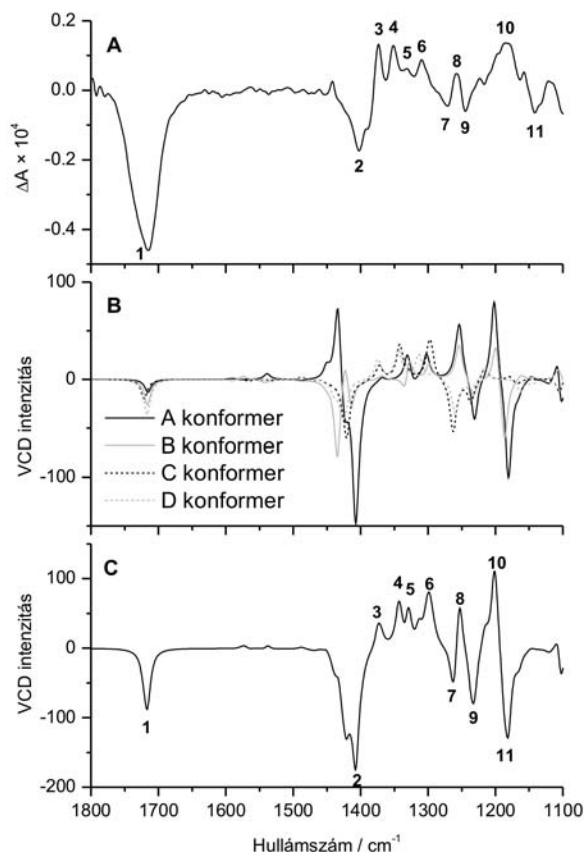
Flexibilis molekula VCD spektroszkópián alapuló abszolút konfiguráció meghatározását szemléltethetjük az általunk vizsgált, $(S)(-)$ -3-benzo[*b*]tiofen-2-il-3-hidroxi-propánsav-etilészter esetével.⁵⁰ A balra forgató enantiomert a racém vegyület enantioszelektív enzimatis acilezése során nyerték (az enzim csak az egyik enantiomer HO-csoportjának acilezését katalizálja). A vegyület igen flexibilis, nincs kitüntetett domináns konformere. Az S enantiomer vákuumban, B3LYP/6-31G* szinten végzett konformációanalízis szerint négy legalacsonyabb energiájú konformerének (10. ábra) összesített populációja mintegy 96%, így lényegében ezek járulnak hozzá a VCD spektrumhoz. A CDCl_3 -oldatban mért VCD spektrum (11. A ábra) nem írható le jól egyetlen egyedi konformer számított VCD spektrumával sem (11. B ábra), azonban a populációval súlyozott összegspektrum (11. C ábra) igen jó egyezést ad a mért spektrummal, annak ellenére, hogy a számítás során nem alkalmaztunk oldószermodellt (a kloroform szolvatációs hatása elhanyagolható volt). Az eredmény alapján teljes biztonsággal megállapítható, hogy a balra forgató enantiomer abszolút konfigurációja S .



10. Ábra. Az $(S)(-)$ -3-benzo[*b*]tiofen-2-il-3-hidroxi-propánsav-etilészter négy legkisebb energiájú konformerének B3LYP/6-31G* szinten számított szerkezete, relatív szabadentalpiája és populációja.

7.3. Fémkomplexek

A VCD spektroszkópiát több esetben sikeresen alkalmazták királis fémkomplexek abszolút konfigurációjának és konformációjának meghatározására. Ezek között olyan vegyületek is előfordultak, ahol a ligandumok ugyan akirálisak, de a központi fématom körül kelatos koordinációval királis elrendeződésű komplexet alkotnak. Ilyen például a Sato és munkatársai⁵¹ által vizsgált $[M(\text{III})(\text{acac})_3]$ (acac = acetilacetato; $M = \text{Cr}, \text{Co}, \text{Ru}, \text{Rh}, \text{Ir}, \text{Al}$) vagy $[M(\text{III})(\text{acac})_2(\text{dbm})]$ (dbm = dibenzoilmetano; $M = \text{Cr}, \text{Co}, \text{Ru}$). E komplexek Δ és Λ enantiomerjeit egyértelműen azonosítani lehet mért és számított spektrumok összehasonlítása alapján. A szintén akirális ligandumot tartalmazó, de királis elrendeződésű (+)-*tris*(etiléndiamin)k obalt(III) komplex részletes konformációvizsgálatát és VCD spektrumának értelmezését Nafie és munkatársai közölték.⁵² $\text{Rh}_2(\text{II})$ -tetraacetáttól és aminosavszármazékokból ligandumcserével előállított kétmárvú $\text{Rh}(\text{II})$ komplexek VCD spektroszkópiái vizsgálatával az ELTE Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratóriuma foglalkozik.⁵³



11. Ábra. Az (S)-(-)-3-benzo[b]tiofen-2-il-3-hidroxi-propánsav-etilészter CDCl_3 -ban mért VCD spektruma (A), az S enantiomer A-D konformerének B3LYP/6-31G* elméleti szinten számított, populációval súlyozott VCD spektruma (B), valamint a konformerek számított spektrumának populációval súlyozott összesspektruma (C).

Királis fémkomplexek ROA spektroszkópián alapuló vizsgálatában nehézséget okozhatja a molekula fluoreszcenciája vagy abszorpciója a látható tartományban. Az abszorpció elsősorban a színes átmenetifém-komplexeknél problémás, ugyanis nehéz nemrezonáns mérési körülményeket teremteni, vagy az oldat erős fényelnyelése miatt a Raman és ROA spektrum intenzitása igen csekély lesz. Átmenetifém-komplexe ROA spektroszkópiájára is találunk példát az irodalomban. Elsőként egy királis Zr(IV)-komplex, a dikloro[etilénbis(4,5,6,7-tetrahidro-1-indenil)]cirkónium(IV) enantiomerjeinek abszolút konfigurációját sikerült nemrezonáns körülmények közt mért és számított ROA spektrumának összehasonlítása alapján meghatározni.⁵⁴

7.4. Peptidek és szénhidrátok térszerkezet-vizsgálata

Peptidek és fehérjék esetében az építőkövek (aminosav-egységek) abszolút konfigurációja legtöbbször ismert, így a vizsgálat tárgya nem ez, hanem ezek egymáshoz viszonyított térbeli elrendeződése, a konformációk és konformációs eloszlás meghatározása. VCD és ROA spektroszkópia segítségével információt kaphatunk a peptidlánc konformációját jellemző másodlagos szerkezeti elemekről (α -hélix, 3_{10} -hélix, β -redő, poliprolin II konformáció, rendezetlen szerkezet, különféle kanyarok). A peptidek és fehérjék legjellemzőbb, legintenzívebb rezgése az IR és VCD spektrumban az 1600–1700 cm^{-1} tartományban jelentkező amid I mód (D_2O -ban végzett mérések esetén

az amidcsoportok deuterálása miatt mintegy 5–10 cm^{-1} értékkel alacsonyabb frekvencián jelentkeznek, ezért amid I'-ként jelölik), ami kb. 80%-ban C=O vegyértékrezgésből áll. Szintén hasznos lehet az 1500–1600 cm^{-1} között jelentkező amid II rezgési mód, amely főleg N–H síkban hajlító rezgés, kevés C–N nyújtással kombinálva (ez D_2O -ban 1450 cm^{-1} környékére tolódik el és amid II'-nek nevezzük). A ROA-spektrumban az amid I-II sávok intenzitása kicsi, sokkal informatívabb az ún. kiterjesztett amid III tartomány (1230–1350 cm^{-1}), amely elsősorban azonos fázisban csatolt C–N nyújtási és N–H síkban deformációs rezgésből származik, valamennyi C_α -H deformációval kombinálva.

Az amid I-III sávok mintázata függ az aminosav-egységek lokális konformációjától, a szomszédos amidcsoportok rezgéseinek csatolásától és a különböző H-kötéses sémákból eredő sáveltolódásoktól, mindez megmagyarázza a VCD és ROA érzékenységet a peptidok és fehérjék másodlagos szerkezetére. Fehérjék VCD spektroszkópiai vizsgálata során többnyire vizet vagy D_2O -t (esetleg vizes vagy nehézvízes puffereket) használnak oldószerként, az oldószer intenzív abszorpciója miatt azonban kis rétegvastagságot és nagy koncentrációt kell alkalmazni, az elérhető spektrumtartomány is eléggé behatárolt. Kisebb peptidok spektrumának felvételéhez szerves (elsősorban deuterált) oldószerek is használhatók. A ROA spektroszkópiában a víz a legjobb oldószer (a szerves oldószerek csak korlátozottan alkalmazhatók), így a peptidek és fehérjék natív közegben történő vizsgálatára ideális.

Természetesen fehérjék esetében nincs mód a spektrumok pontos elméleti számítására a molekula nagy mérete miatt. A fehérjék VCD és ROA spektrumának értékelése elsősorban empirikus módon történik, így globális információt nyerhetünk a másodlagos szerkezeti elemek előfordulásáról és esetleg arányáról. Erről részletesen olvashatunk egy frissen megjelent kiadványban. Kisebb peptidok esetében lehetőség van a spektrumok számítására, a térszerkezet konformációanalízissel és kvantumkémiai számításokkal igazolható. Ebben az esetben a flexibilis molekuláknál alkalmazott, korábban tárgyalt módszerrel analóg módon járunk el. Hangsúlyoznunk kell, hogy peptidek és más biomolekulák esetében az oldószerhatás rendszerint nem hanyagolható el, tehát mindenképpen használnunk kell valamilyen oldószermodellt a számítások során.

Empirikusan megfigyelték, majd számításokkal is igazolták, hogy a szénhidrátok glikozidos OH-csoportjának térállásáról a VCD spektrumok 1145 cm^{-1} környékén megjelenő sávja ad információt.⁵⁷ Szénhidrátok vizsgálatára azonban a ROA spektroszkópia sokkal alkalmasabb, mivel a szénhidrátok többsége kiválóan oldódik vízben, és így a műszer teljes méréstartományában felvehető a spektrumuk. Mivel a ROA spektrum érzékeny a cukrok szomszédos OH-csoportjainak relatív térállására (a C–O rezgések erős csatolása miatt), a piranóz- vagy furanózgyűrű konformációjára és glikozidos kötés (α vagy β) konfigurációjára, gyakorlatilag ujjlenyomatként jellemez egy szénhidrát molekulát.⁵⁸ Mivel víz erősen szolvatálja a cukrokat, H-kötéseket alakítva ki az OH-csoportokkal, a számított spektrumok még polarizált kontinuum oldószermodellek esetén sem adnak jó egyezést a kísérleti ROA spektrumokkal, a szénhidrátok spektrumának

megbízható számolásához tehát elengedhetetlen a vízmolekulák explicit figyelembe vétele.⁵⁹

7.5. Szupramolekuláris szerveződésektől biológiai alkalmazásokig

A VOA technikákat egyre elterjedtebben használják szupramolekuláris szerveződések vizsgálatára is. VCD (és ECD) spektroszkópia segítségével például megmutatták, hogy tartarát jelenlétében akirális amfifilek önszerveződése során királis micellák jönnek létre.⁶⁰ Egy közelmúltbeli VCD vizsgálat során megfigyelték, hogy egy azobenzol-tartalmú folyadékkristálynak megváltoztatható a szupramolekuláris kiralitása,⁶¹ ha cirkulárisan polarizált fényvel sugározzák be. Szintén a közelmúltban állapították meg azt is, hogy a VCD spektroszkópia igen érzékeny az amiloidszálak hosszabb távú, szupramolekuláris kiralitására.⁶²

Mind VCD,⁶³ mind ROA^{64,65} technikákkal vizsgáltak vírusokat. Mindkét módszer elsődlegesen a vírus RNS-ét borító fehérjék szerveződésére ad információt. Ilyen jellegű információt korábban csak röntgen-diffrakcióval lehetett nyerni. A röntgen-diffrakciós vizsgálat azonban jóval nehezebb, mivel először a vírusokat ki kell kristályosítani. A ROA vizsgálatok ezen is túlmutató, fontosabb információval szolgáltak. A vírus ROA spektrumának és az RNS-t nem tartalmazó üres fehérjetokról felvett ROA spektrum kivonásával meg lehetett különböztetni eltérő RNS-szálakat tartalmazó vírusokat. Ilyen információt a röntgen-diffrakciós adatokból nem lehet kinyerni.

8. Kutatási témák az ELTÉ-n

Az ELTE Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratóriumában a VCD spektroszkópiát királis molekulák abszolút konfigurációjának meghatározásra és konformációs viszonyainak felderítésére egyaránt alkalmaztuk. A Szegedi Tudományegyetemmel együttműködve számos, lipoláz jelenlétében enzimatisz szintézissel nyert enantiomertiszta ciklusos β -laktám abszolút konfigurációját vizsgáltuk.⁶⁶ Egyértelműen igazolható volt, hogy az enzim jelenlétében mindig ugyanolyan abszolút konfigurációjú termék keletkezett, függetlenül a kondenzált gyűrű méretétől, annak telített, telítetlen vagy aromás jellegétől. A Kolozsvári Babeş-Bolyai Egyetemmel közösen végzett kutatásaink során szintén enzimatisz sztereoselektív szintézissel előállított királis 3-heteroaril-3-hidroxi-propionsav-etilészterek,^{50,67} 3-heteroaril-3-acetoxi-propionitrilek⁶⁸ és 3-klór-1-arilpropán-1-olok⁶⁹ abszolút konfigurációját határoztuk meg.

A peptidek, peptidmimetikumok és királis átmenetifémkomplexek térszerkezetének vizsgálata terén végzett kutatásainkat e folyóirat egy korábbi számában² részletesebben összefoglaltuk. A peptidek területén kutatásaink többek közt kanyarszerkezetek spektroszkópiai jellemzésére szintetizált ciklotetrapeptidek,^{70,71} *transz*-(1*S*,2*S*)-2-aminociklopentán-karbonsav (*transz*-Acpc) vagy *transz*-(1*S*,2*S*)-2-aminociklohexán-karbonsav (*transz*-Ache) egységeket tartalmazó ciklopenta- és hexapeptidek,⁷² valamint tisztán β -aminosavakat tartalmazó, alternáló kiralitású *cisz*-2-amino-ciklopentánkarbonsav (*cisz*-Acpc) egységekből felépített H-[(1*S*,2*R*)-*cisz*-Acpc-(1*R*,2*S*)-*cisz*-Acpc]_{*n*}-NH₂ (*n*=2, 3) heterokirális

oligomerek,⁷³ továbbá természetes és mutáns efrapeptinek⁷⁴ konformációjának VCD spektroszkópiái vizsgálatára terjedtek ki. Egyik legaktuálisabb kutatási terület a védett aminosavegységeket tartalmazó királis kétmagvú Rh(II)-komplexek szintézise, izolálása,⁷⁵ és szerkezetének VCD spektroszkópiával történő felderítése.⁵³ Jelenleg olyan új típusú, két aminosavligandumot tartalmazó, eredendően királis Rh₂(II) komplexek szintézise és kiroptikai vizsgálata van folyamatban, melyek VCD spektrumában erős rezgési excitoncsatolás figyelhető meg, lehetővé téve a királis komplexek abszolút konfigurációjának meghatározását célzó egyszerű empirikus kiroptikai szabály megfogalmazását.

A ROA-spektroszkópia közelmúltban való bevezetése elindította a biomolekulák (peptidek, szénhidrátok), valamint ezek építőköveinek vizes közegben való térszerkezetvizsgálatát, az első eredményt, az Ac- β -homoPro-NHMe ROA spektrumának értelmezését nemrég publikáltuk.² A közeljövőben diszulfid-hidas és triptofán-egységet tartalmazó ciklopeptidek, valamint cukoraminosavakból felépülő foldamerek térszerkezetének ROA spektroszkópiái jellemzését is tervezzük.

Az ELTE Molekulaspektroszkópiái és Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratóriumainak együttműködésében elsők között végeztünk mátrixizolációs VCD (MI-VCD) méréseket. Vizsgálataink előtt ugyan már megmutatták,^{76,77} hogy a két technika kombinálása technikailag kivitelezhető, de nem világítottak rá a MI-VCD mérések fő előnyeire, így sokáig nem alkalmazták ezt a módszert. Megmutattuk, hogy a kriogén nemesgázmátrixokban mért VCD spektrumok az oldószerben vagy a hígítatlan mintáról felvett spektrumokhoz viszonyított sokkal jobb felbontása lehetővé teszi olyan bonyolult, flexibilis, sok konformerrel rendelkező molekulák VCD vizsgálatát is, amikor a konformerek egymáshoz közel eső, ellentétes előjelű sávjai gyakorlatilag kioltják egymást.⁷⁸ Szintén előnyt jelent az is, hogy nem kell figyelembe venni az oldószerhatást, így a spektrumértelmezéshez szükséges számítások is leegyszerűsödnek. A MI-VCD technikát modellpeptid térszerkezetének vizsgálatán kívül^{79,80} az ún. kiralitás transzfer megfigyelésére is használtuk.^{37,81} Kiralitás transzfer (vagy indukált kiralitás) alatt értjük azt a jelenséget, amikor a vizsgált királis molekula és egy akirális molekula (pl. oldószer) között kialakult intermolekuláris kölcsönhatások miatt az akirális molekula is optikailag aktívvá válik, (rezgési) átmenetei is megjelennek a (V)CD spektrumban.^{44,82,83} A jelenség nemcsak alapkutatói szempontból és a kialakuló komplexek térszerkezetének felderítéséhez nyújtott értékes információ miatt jelentős, hanem gyakorlati szempontból is fontos annak megértése, hogy az ilyen kölcsönhatások mikor és milyen mértékben nehezítik meg az egyszerű oldószeres VCD vizsgálatok kiértékelését. Hasonló, gyakorlati szempontból is fontos eredményre vezető vizsgálataink például megmutatták, hogy bár a karbonsav dimerek VCD spektrumának számítása időigényesebb, oldószeres méréseknél mégis érdemes ezeket a molekulákat olyan koncentrációtartományban mérni, ahol döntő részt dimerek vannak jelen; a karbonsav dimerek VCD jelei ugyanis intenzívebbek és robosztusabbak, mint a monomerek VCD sávjai.³⁷ A MI-VCD technika alkalmas lehet királis reakcióintermedierek, reaktív molekulák és gyökök VCD vizsgálatára is. Vizsgálataink által inspirálva ma már más kutatócsoportok is alkalmazzák a MI-VCD

technikát.⁸⁴ A közeljövőben szeretnénk próbálkozni a MI és a ROA módszer kombinálásával is.

Aktívan foglalkozunk VCD és ROA spektrumok számítására alkalmas programkódok fejlesztésével is. A VCD számítások PQS programcsomagba való beépítése Pulay Péterrel való együttműködés keretében valósult meg. A 4.1. fejezetben már említettük, hogy a szerzők egy része alternatív megbízhatósági faktorokat javasolt, amelyek szintén be lettek építve a PQS programcsomagba.³⁶ A közelmúltban az ELTE Elméleti Kémiai Laboratóriumával együttműködésben a VCD számítások pontos, CC (coupled cluster) szintű beprogramozását kezdtük el.

9. Összefoglalás helyett

Reméljük, hogy mind ez a közlemény, valamint későbbi személyes tapasztalatszerzések, együttműködések is hozzájárulhatnak ahhoz, hogy ezek módszerek ne csak egyetemünkön, hanem hazánkban is minél előbb elnyerjék méltó szerepüket az alap- és alkalmazott kutatásokban is.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönettel tartoznak Hollósi Miklósnak, Surján Péternek, valamint Keszei Ernőnek a VCD és a ROA technikák meghonosításában betöltött kulcsszerepükért. A ROA készülék beszerzése a KMOP-4.2.1/B-10-2011-000 pályázat keretében történt, a szerzők kutatómunkáját az OTKA K75877, K81175 és a TAMOP 4.2.1./B-09/KMR-2010-0003 pályázatok is támogatják.

Hivatkozások

1. <http://www.chiralitycentre.eu/>.
2. Hollósi, M.; Knapp, K.; Majer, Zs.; Szilvágyi, G.; Vass, E.; *Magyar Kémiai Folyóirat*, **2012**, 118, 145.
3. Hollósi, M.; Majer, Zs.; Vass, E.; *Magyar Kémiai Folyóirat*, **2006**, 112, 117–122.
4. Bazsó, G.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. *Magyar Kémiai Folyóirat*, **2006**, 112, 137–148.
5. Nafie, L. A. *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, **2011**.
6. Barron, L. D. *Molecular Light Scattering and Optical Activity*, Cambridge University Press, **2004**.
7. Arago, J. D. F. *Mém. Inst.* **1811**, 1, 93–134.
8. Kahr, B.; Arteaga, O. *ChemPhysChem* **2012**, 13, 79–88.
9. Biot, J.-B. *Mém. Inst.* **1812**, 13, 1–371.
10. Biot, J.-B. *Bull. Soc. Philomat.* **1815**, 190–192.
11. Biot, J.-B. *Mém. Acad. Sci.* **1817**, 2, 41–136.
12. Arago, F.; Fresnel, A. *Ann. Chim. et Phys.* **1819**, 10, 288–305.
13. Haidinger, W. *Ann. Phys.* **1847**, 70, 531–544.
14. Cotton, A. *Compt. Rend.* **1895**, 120, 989–991.
15. Katzin, L. I. *J. Phys. Chem.* **1964**, 68, 2367–2370.
16. Barron, L. D.; Buckingham, A. D. *Mol. Phys.* **1971**, 20, 1111–1119.
17. Holtzwarth, G.; Chabay, I. *J. Chem. Phys.* **1972**, 57, 1632–1635.
18. Barron, L. D.; Bogaard, M. P.; Buckingham, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 603–605.
19. Hug, W.; Kint, S.; Bailey, G. F.; Scherer, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 5589–5590.
20. Holtzwarth, G.; Hsu, E. C.; Mosher, H. S.; Faulkner, T. R.; Moscowitz, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 251–252.
21. Nafie, L. A.; Cheng, J. C.; Stephens, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 3842–3843.
22. Magyarfalvi, G.; Tarczay, G.; Vass, E. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2011**, 1, 403–425.
23. Barron, L. D.; Buckingham, A. D. *Chem. Phys. Lett.* **2010**, 492, 199–213.
24. Rosenfeld, L. *Z. Physik* **1929**, 52, 161–174.
25. Stephens, P. J. *J. Phys. Chem.* **1985**, 89, 748–752.
26. Cheeseman, J. R.; Frisch, M. J.; Devlin, F. J.; Stephens, P. J. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, 252, 211–220.
27. Gaussian 09, Revision A.1, Frisch, M. J. et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**, <http://gaussian.com/>.
28. DALTON, a molecular electronic structure program, Release Dalton2011 (2011), see <http://daltonprogram.org/>.
29. ADF2012, SCM, Theoretical Chemistry, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands, <http://www.scm.com>.
30. Nicu, V. P.; Neugebauer, J.; Wolff, S. K.; Baerends, E. J. *Theo. Chem. Acc.* **2008**, 119, 245–263.
31. <http://pqs-chem.com/>
32. Baker, J.; Wolinski, K.; Malagoli, M.; Kinghorn, D.; Wolinski, P.; Magyarfalvi, G.; Saebø, S.; Janowski, T.; Pulay, P. *J. Comp. Chem.* **2009**, 30, 317–335.
33. Baker, J.; Janowski, T.; Wolinski, K.; Pulay, P. *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2012**, 2, 63–72.
34. Cappelli, C.; Bloino, J.; Lipparini, F.; Barone, V. *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, 3, 1766–1773.
35. Nicu, V. P.; Baerends, E. J. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 6107–6118.
36. Göbi, S.; Magyarfalvi, G. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 16130–16133.
37. Göbi, S.; Vass, E.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 13972–13984.
38. Ruud, K.; Helgaker, T.; Bour, P. *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106, 7448–7455.
39. Helgaker, T.; Ruud, K.; Bak, K. L.; Jørgensen, P.; Olsen, J. *Faraday Discuss.* **1994**, 99, 165–180.
40. <http://www.psicode.org/>.
41. Crawford, T. D.; Ruud, K. *ChemPhysChem* **2011**, 12, 3442–3448.
42. Jensen, L.; Autschbach, J.; Krykunov, M.; Schatz, G. C. *J. Chem. Phys.* **2007**, 127, 134101–1–11.
43. Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Cheeseman, J. R. *VCD Spectroscopy for Organic Chemists*, CRC Press, **2012**.
44. Yang, G.; Xu, Y. *Top. Curr. Chem.* **2011**, 298, 189–236.
45. Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Pan, J. J. *Chirality* **2008**, 20, 643–63.
46. He, Y.; Wang, B.; Dukor, R. *Appl. Spectrosc.* **2011**, 65, 699–723.
47. Stephens, P. J.; Pan, J. J.; Krohn, K. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 7641–7649.
48. Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **2002**, 117, 43–54.
49. Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 2999–3094.
50. Brem, J.; Paizs, C.; Toşa, M.I.; Vass, E.; Irimie, F.D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 489–496.
51. Sato, H.; Taniguchi, T.; Nakahashi, A.; Monde, K.; Yamagishi, A. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 6755–6766.
52. Freedman, T.B.; Cao, X.; Young, D.A.; Nafie, L.A. *J. Phys. Chem. A*, **2002**, 106, 3560–3565.
53. Szilvágyi, G.; Majer, Z.; Vass, E.; Hollósi, M. *Chirality* **2011**, 23, 294–299.
54. Johannessen, C.; Hecht, L.; Merten, C. *ChemPhysChem* **2011**, 12, 1419–1421.
55. Keidreling, T.A.; Lakhani, A. *In Comprehensive Chiroptical Spectroscopy*; Berova, N.; Polavarapu, P.L.; Nakanishi, K.; Woody, R.W., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, **2012**; Vol. 2, pp 707–758.
56. Barron, L.D.; Hecht, L. *In Comprehensive Chiroptical Spectroscopy*; Berova, N.; Polavarapu, P.L.; Nakanishi, K.;

- Woody, R.W., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, **2012**; Vol. 2, pp 759–793.
57. Taniguchi, T., Monde, K. *Chem-Asian J* **2007**, *2*, 1258–1266.
 58. Wen, Z.Q.; Barron, L.D.; Hecht, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 285–292.
 59. Cheeseman, J.R.; Shaik, M.S.; Popelier, P.L.; Blanch, E.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *113*, 4991–4997.
 60. Brizard, A.; Berthier, D.; Aimé, C.; Buffeteau, T.; Cavagnat, D.; Ducasse, L.; Huc, I.; Oda, R. *Chirality* **2009**, *21*, E153–62.
 61. Moreno, J. R. A.; González, J. J. L.; Ureña, F. P.; Vera, F.; Ros, M. B.; Sierra, T. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 5090–5096.
 62. Ma, S.; Cao, X.; Mak, M.; Sadik, A.; Walkner, C.; Freedman, T. B.; Lednev, I.; Dukor, R. K.; Nafie, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12364–12365.
 63. Shanmugam, G.; Polavarapu, P. L.; Kendall, A.; Stubbs, G. *J. Gen. Virol.* **2005**, *86*, 2371–2377.
 64. Blanch, E. W.; Robinson, D. J.; Hecht, L.; Barron, L. D. *J. Gen. Virol.* **2001**, *82*, 1499–1502.
 65. Blanch, E. W.; Hecht, L.; Syme, C. D.; Volpetti, V.; Lomonosoff, G. P.; Nielsen, K.; Barron, L. D. *J. Gen. Virol.* **2002**, *83*, 2593–2600.
 66. Vass, E.; Hollósi, M.; Forró, E.; Fülöp, F. *Chirality* **2006**, *18*, 733–740.
 67. Brem, J.; Toşa, M.I.; Paizs, C.; Vass, E.; Irimie, F.D. *Tetrahedron:Asymmetry* **2010**, *21*, 365–373.
 68. Bencze, L.C.; Paizs, C.; Toşa, M.I.; Vass, E.; Irimie, F.D. *Tetrahedron:Asymmetry* **2010**, *21*, 443–450.
 69. Pop, L.A.; Czompa, A.; Paizs, C.; Toşa, M.I.; Vass, E.; Mátyus, P.; Irimie, F.D. *Synthesis* **2011**, 2921–2928.
 70. Vass, E.; Majer, Zs.; Kóhalmy, K.; Hollósi, M. *Chirality* **2010**, *22*, 762–771.
 71. Vass, E.; Kóhalmy, K.; Majer, Zs.; Hollósi, M. *In Peptides 2004*; Flegel, M.; Fridkin, M.; Gilon, Ch.; Slaninova, J. Eds.; Kenes International: Geneva, **2005**, pp 1037–1038.
 72. Vass, E.; Strijowski, U.; Wollschläger, K.; Mándity, I. M.; Szilvágyi, G.; Jewgiński, M.; Gaus, K.; Royo, S.; Majer, Zs.; Sewald, M.; Hollósi, M. *J. Peptide Sci.* **2010**, *16*, 613–620.
 73. Martinek, T.A.; Mándity, I.M.; Fülöp, L.; Tóth, G.K.; Vass, E.; Hollósi, M.; Forró, E.; Fülöp, F. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 13539–13544.
 74. Weigelt, S.; Huber, T.; Hofmann, F.; Jost, M.; Ritzefeld, M.; Luy, B.; Freudenberger, C.; Majer, Z. ; Vass, E.; Greie, J.-C.; Panella, L.; Kaptein, B.; Broxterman, Q.B.; Kessler, H.; Altendorf, K.; Hollósi, M.; Sewald, N. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 478–487.
 75. Szilvágyi, G.; Hollósi, M.; Tölgyesi, L.; Frelek, J.; Majer, Zs. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2594–2599.
 76. Schlosser, D.; Devlin, F.; Jalkanen, K.; Stephens, P.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *88*, 286–291.
 77. Henderson, D. O.; Polavarapu, P. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7110–7111.
 78. Tarczay, G.; Magyarfalvi, G.; Vass, E. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2006**, *45*, 1775–1777.
 79. Pohl, G.; Perczel, A.; Vass, E.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 4698–4708.
 80. Pohl, G.; Perczel, A.; Vass, E.; Magyarfalvi, G.; Tarczay, G. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 2126–2133.
 81. Tarczay, G.; Góbi, S.; Vass, E.; Magyarfalvi, G. *Vib. Spectrosc.* **2009**, *50*, 21–28.
 82. Zehnacker, A.; Suhm, M. A. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2008**, *47*, 6970–6992.
 83. Sadlej, J.; Dobrowolski, J. C.; Rode, J. E.; *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1478–88.
 84. Merten, C.; Xu, Y. *ChemPhysChem* megjelenés alatt, **2012**, doi: 10.1002/cphc.201200758.

Vibrational Optical Activity and the Determination of Absolute Configurations and Conformation

This review article attempts to present the vibrant and quickly developing field of vibrational optical activity to the Hungarian chemical community. We try to put emphasis on the utility of both vibrational circular dichroism (VCD) spectroscopy and Raman optical activity (ROA) measurements in the study of chiral molecules and in the determination of absolute conformation.

In the course of the review the basic physical phenomena of the two methods are introduced together with the historical development timeline of the necessary instrumentation. The historical outlook extends to the introduction of VOA research in Hungary. After a

brief outline of the necessary theoretical background the focus is on the advantages and uses of these methods.

The operation and components of these relatively lesser known instruments are described in hopefully adequate detail before we turn to the description of research taking place at the Eötvös Loránd University.

The authors are gladly obliged to acknowledge the contributions from the funding agencies (KMOP-4.2.1/B-10-2011-000, OTKA K75877, K81175 and TAMOP 4.2.1./B-09/KMR-2010-0003).