

Analyse von Sekundärstrukturmotiven von isolierten Peptid /Peptid-Aggregaten
in der Gasphase mit Hilfe von IR/UV-Doppelresonanzspektroskopie

von Holger Fricke
aus Bad Harzburg

Betreuer: Professor Dr. Markus Gerhards

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 13.06.2007

vom Fachbereich Chemie der Universität Kaiserslautern zur Verleihung des akademischen
Grades „Doktor der Naturwissenschaften“ genehmigte Dissertation

D386 (Zeichen der TU Kaiserslautern im Bibliotheksverkehr)

Kaiserslautern 2007

Diese Arbeit wurde in der Zeit von September 2003 bis Februar 2007 am Institut für Physikalische Chemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt:

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

Herrn Professor Dr. Gereon Niedner-Schatteburg für die Übernahme des Zweitgutachtens.

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

Meinen Kollegen Andreas Funk, Kristina Bartl, Kirsten Schwing und Philip Bialach, meinen ehemaligen Kollegen Dr. Claus Unterberg, Dr. Andreas Gerlach und Dr. Andreas Funk für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung bei den Messungen, Rechnungen und Diskussionen.

Allen Mitarbeitern des Institutes für das gute Arbeitsklima.

Klaus Kelbert für die Hilfsbereitschaft und das Engagement bei der Lösung elektronischer Probleme.

Der Zentralwerkstatt Chemie und Physik für die prompte und zuverlässige Bearbeitung vieler benötigter Spezialanfertigungen.

Meiner gesamten Familie und besonders meinen Eltern, die mich stets auf meinem Weg unterstützt haben.

Für Ingrid

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	2
2. STOFFKLASSE DER AMINOSÄUREN UND PEPTIDE	5
2.1 Aminosäuren	5
2.2 Peptide	7
2.2.1 Sekundärstrukturen von Peptiden	10
2.3 Untersuchte Moleküle	15
3. APPARATIVER AUFBAU UND SPEKTROSKOPISCHE TECHNIKEN	18
3.1 Molekularstrahlen	18
3.1.2 Molekularstrahlapparatur	20
3.2 Spektroskopische Techniken und verwendete Lasersysteme	23
3.2.1 R2PI (Resonant-2-Photon-Ionization)	23
3.2.2 Infrared/ Resonant-2 Photon-Ionization (IR/R2PI)	25
4. THEORETISCHE METHODEN	29
4.1 Moleküldynamik/Kraftfeld	29
4.2 ab initio Rechnungen	31
4.3 Dichtefunktionaltheorie	33
4.4 Normalkoordinatenanalyse	34
5. ZUSAMMENFASSUNG	39
5.1 Ac-Phe-OMe	39
5.2 Ac-Trp-OMe	41
5.3 Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe	42
5.4 Pyrazolderivate-Dipeptid/Tripeptid	43
5.5 Ac-Leu-Val-Tyr(Me)-NHMe	45
LITERATURVERZEICHNIS	47
ANHANG A	53

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chiralität bei α -Aminosäuren	6
Abbildung 2: Cis-trans Isomerie der Peptidbindung	8
Abbildung 3: Definition der Diederwinkel des Rückgrats ϕ, ψ und der Seitenkette χ_1, χ_2	9
Abbildung 4: Helicaler Bindungsmotive	11
Abbildung 5: Darstellung von α -Helix, 3_{10} -Helix und π -Helix	12
Abbildung 6: β -Faltblattmodelle	14
Abbildung 7: Schleifenmotive in Sekundärstrukturen	15
Abbildung 8: Geschwindigkeitsverteilungen	20
Abbildung 9: Experimenteller Aufbau	22
Abbildung 10: Probenhaltersystem mit aufgeschraubter Pulsdüse	23
Abbildung 11: Termschema der R2PI-Spektroskopie	25
Abbildung 12: Schematische Darstellung IR-R2PI-Spektroskopie	26
Abbildung 13: Schematischer Aufbau des IR-Lasersystems	28

1. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit werden Strukturanalysen kleiner Peptide und Peptidaggregate in der Gasphase durchgeführt. Eine Motivation für diese Untersuchungen liegt in dem Zusammenhang zwischen Struktur und Funktionalität bei Proteinen. Es ist z.B. bekannt, dass Enzyme nach dem Schlüssel-Schloss Prinzip (nach H.E. Fischer, 1894) nur mit Substraten der passenden Geometrie in Wechselwirkung treten, worauf sich deren sehr hohe Selektivität und Spezifität begründet. Zum besseren Verständnis dieser Reaktionen ist es notwendig, die Faktoren zu untersuchen, die zur Ausbildung einer bestimmten Struktur führen. Die Bausteine von Proteinen sind Aminosäuren, die sich via Peptidbindungen zu makromolekularen Ketten verbinden, den sogenannten Polypeptiden. Hierbei stellen sich die Fragen, welche Aminosäuren und Peptide eine spezielle Struktur bevorzugen und ob es Abhängigkeiten bezüglich der Kettenlänge, Position innerhalb der Kette und der benachbarten Aminosäuren gibt. Um eine systematische Analyse durchzuführen, sollen zunächst äußere Einflüsse wie das umgebende Medium ausgeschlossen werden, so dass nur die intrinsischen Eigenschaften, die die Struktur beeinflussen, untersucht werden können. In einem weiteren Schritt kann durch gezielte und sukzessive Anlagerung von Solvatmolekülen, z.B. Wasser, untersucht werden, inwiefern sich die Anlagerung auf die Struktur der isolierten Moleküle auswirkt. Die Anlagerung bzw. Dimerenbildung mit Peptiden und anderen geeigneten Templatmolekülen ist ebenfalls eine Untersuchung des Einflusses der Umgebung. Hierbei soll betrachtet werden, ob es zur Ausbildung von Modellsystemen für β -Faltblätter kommt. Die Stärke der dabei auftretenden intermolekularen Wasserstoffbrücken ist von entscheidender Bedeutung für die Effizienz und Selektivität der Aggregation. Die Dimerisierung mit Templatmolekülen ermöglicht eine Untersuchung der Inhibierung des Wachstums von β -Faltblattstrukturen, die im Zusammenhang mit einigen Krankheiten diskutiert werden.

In dieser Arbeit wurden gezielt Modellsysteme ausgewählt, die laut den Chou-Fasman Regeln¹ eine β -Faltblattstruktur bevorzugen, wobei unklar ist ob diese Regeln auch in der Gasphase

gültig sind. Das β -Faltblatt ist neben der α -Helix die gängigste Sekundärstruktur von Peptiden (näheres dazu in Abschnitt 3). Dennoch ist bisher im Vergleich zu anderen Strukturtypen nur wenig bekannt. Dieser Strukturtyp ist dahingehend von besonderem Interesse, da er bei den sogenannten Prionenkrankheiten ², z.B. Creutzfeld-Jakob und BSE, eine wichtige Rolle spielt. Im Verlaufe dieser Erkrankungen werden Proteine mit α -helicaler Struktur in β -Faltblattstrukturen umgewandelt, ausgelöst von bereits vorhandenen pathogenen Proteinen mit einer β -Faltblattstruktur. Eine weitere Krankheit, bei deren Entstehung β -Faltblattstrukturen mit einer bestimmten Aminosäuresequenz diskutiert werden, ist die Alzheimer Erkrankung. Hier führen intrazelluläre Ablagerungen eines Fragment des APP (Amyloid Precursor Protein) zu einem Zellverlust im Gehirn ³.

Wie bereits oben beschrieben besteht die Strategie dieser Arbeit darin, isolierte Systeme in der Gasphase zu untersuchen. Dabei sollen große Systeme zunächst auf kleinere Modelle reduziert werden, die jedoch im weiteren Verlauf für eine systematische Untersuchung stetig vergrößert werden. Eine geeignete Methode zur Untersuchung von isolierten Molekülen in der Gasphase ist die Molekularstrahltechnik. Hierbei werden durch adiabatische Expansion ins Vakuum kalte, isolierte Moleküle erzeugt. Diese Moleküle können mittels kombinierter spektroskopischer und massenspektrometrischen Messungen untersucht werden. Von besonderem Interesse sind hier die Schwingungsspektren, die in Kombination mit ab initio und DFT Rechnungen eine direkte Information bezüglich der Struktur der untersuchten Peptide und Peptidaggregate liefern. Anhand der gemessenen Schwingungsfrequenzen und Bandenintensitäten können freie NH und C=O Gruppen von wasserstoffbrückengebundenen unterschieden werden. Somit gelingt es gezielt Aussagen über bestimmte Strukturelemente zu treffen, da die Schwingungsfrequenzen in Peptiden charakteristisch für ihre jeweilige Struktur sind. Im Vergleich mit quantenchemischen Rechnungen werden somit Strukturanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind in Kapitel 5 zusammengefasst und die dazugehörigen Publikationen sind im Anhang A aufgeführt.

2. Stoffklasse der Aminosäuren und Peptide

In diesem Kapitel soll eine kurze Einführung über die charakteristischen Eigenschaften der untersuchten Stoffklassen gegeben werden. Dabei werden zunächst die Aminosäuren als Grundbausteine dargestellt und im weiteren Verlauf die Peptide. Bei letzteren liegt der Schwerpunkt auf der Beschreibung der verschiedenen Sekundärstrukturtypen.

2.1 Aminosäuren

Die Bausteine der Peptide sind Aminosäuren. Es handelt sich chemisch betrachtet um Carbonsäuren mit einer Aminofunktion. Je nach Position der Aminogruppe kann man verschiedene Typen unterscheiden. Dabei richtet sich die Nomenklatur nach dem C-Atom, an dem auch die Aminogruppe gebunden ist. Ausgehend vom C-Atom der Carboxylgruppe wird gezählt und man definiert beispielsweise 2-Aminocarbonsäuren, 3-Aminocarbonsäuren, welche nach einer alternativen Nomenklatur auch als α - und β -Aminosäuren benannt werden. Die Carboxylgruppe wird als C- die Aminogruppe als N-Terminus bezeichnet.

Die einfachste Aminosäure ist die Carbaminsäure, die nur die Amino- und Carboxylgruppe enthält. Eine weitaus wichtigere Klasse sind die 2-Aminocarbonsäuren, die im Allgemeinen als α -Aminosäuren bezeichnet werden. Sämtliche Proteine im menschlichen Körper sind aus α -Aminosäuren, den sogenannten proteinogenen Aminosäuren, aufgebaut. Damit sind sie Bausteine des Lebens. Es sind bisher 23 proteinogene Aminosäuren und 250 nichtproteinogene Aminosäuren, die ebenfalls biologische Funktionen haben, bekannt. Die Aminosäuren werden nach den unterschiedlichen Seitenketten am C_{α} -Atom unterschieden. So unterteilt man in neutrale, basische und saure Aminosäuren. Die Namen der einzelnen Aminosäuren werden gemäß IUPAC-IUB⁴ durch drei Buchstaben abgekürzt, z.B. Phenylalanin = Phe. Unter den proteinogenen Aminosäuren befinden sich drei Aminosäuren mit aromatischen Seitenketten: Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin. Für die

Untersuchungsmethoden in dieser Arbeit werden sie benötigt, da über den jeweiligen aromatischen Chromophor ein Zugang zur optischen Spektroskopie gegeben ist. Eine Alternative besteht darin, aromatische Chromophore über Schutzgruppen einzuführen.

Ein weiteres Merkmal ist die Chiralität dieser Aminosäuren. Das Chiralitätszentrum ist hierbei das asymmetrische C_{α} -Atom. Es liegen jeweils, mit Ausnahme des Glycins und Prolins, Enantiomerenpaare vor, von denen nur die L-Enantiomere proteinogen sind. Gemäß der Nomenklatur nach Cahn-Ingold-Prelog^{5,6} haben alle L-Enantiomere, mit Ausnahme des Cysteins, eine S-Konfiguration.

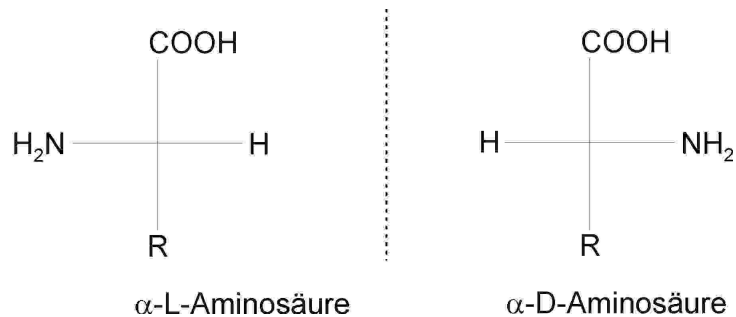


Abbildung 1: Chiralität bei α -Aminosäuren

Aminosäuren zeigen in fester und flüssiger Phase amphoterer Verhalten, wobei die Aminogruppe als Protonenakzeptor und die Carboxylgruppe als Protonendonator fungiert. Infolge dieser Doppelfunktion können Aminosäuren positiv oder negativ geladen oder aber zwitterionisch, als Betain, vorliegen.

2.2 Peptide

Peptide entstehen durch die Kondensationsreaktion des N- und C-Terminus zweier Aminosäuren unter Bildung der sogenannten Peptidbindung NH-COR. Von den zahlreichen in vitro Darstellungsmöglichkeiten soll hier kurz die Merrifield-Synthese⁷ erwähnt werden. Mit Hilfe dieser vollautomatisierten Methode können großtechnisch Polypeptide mit unterschiedlichen Aminosäuren hergestellt werden. Im ersten Schritt wird an die Oberfläche von chlormethyliertem Polystyrol eine am N-Terminus geschützte Aminosäure gebunden. Die Schutzgruppe wird entfernt und der aktivierte N-Terminus kann nun in einer nächsten Reaktion mit einer wiederum am N-Terminus geschützten Aminosäure umgesetzt werden. Auf diese Weise können nun gezielt Polypeptide definierter Zusammensetzung hergestellt werden. Mit Hilfe der Mikrowellentechnik konnte die Reaktionsgeschwindigkeit erheblich gesteigert und die Reinheit der Polypeptide verbessert werden. Die Mikrowellentechnik erlaubt ein direktes Einkoppeln von Aktivierungsenergie zu einer bestimmten Reaktion, so dass ganz gezielt in einer sehr kurzen Zeitspanne eine definierte Aktivierungsenergie zugeführt werden kann.

Die Abfolge der Aminosäuren innerhalb eines Peptids wird als Sequenz oder Primärstruktur bezeichnet. Die Benennung erfolgt hier vom N- zum C-Terminus hin, z.B. Leu-Phe-Thr. Die Nahordnung innerhalb einer Kette wird durch die Sekundärstruktur beschrieben. Die Tertiärstruktur wiederum kennzeichnet die Orientierung und Abfolge der Sekundärstrukturelemente innerhalb einer Polypeptidkette. Letztendlich können sich Proteine und Enzyme aus mehreren Polypeptidketten zusammensetzen, z.B. besteht das Hämoglobin aus mehreren Untereinheiten. Die Quartärstruktur beschreibt diese Anordnungen. Da in dieser Arbeit Sekundärstrukturmotive untersucht worden sind, soll im Folgenden näher darauf eingegangen werden.

Zur Beschreibung der Konformation von Aminosäureeinheiten innerhalb einer Peptidkette werden verschiedene Diederwinkel verwendet. Die Orientierung der Peptidbindung NH-CO,

die partiellen Doppelbindungscharakter und ein Dipolmoment von etwa 3,5 Debye hat, wird durch den Diederwinkel ω beschrieben. Dabei gibt es die cis und trans-Anordnung mit Winkeln von 0 und 180°. In der Regel ist die trans-Anordnung aus sterischen Gründen stabiler und wird wesentlich häufiger vorgefunden. Eine Ausnahme ist hier das Prolin, bei dem das N-Atom Teil eines Rings ist.

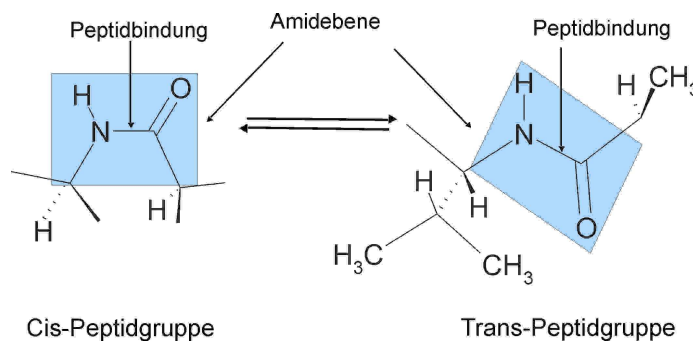


Abbildung 2: Cis-trans Isomerie der Peptidbindung C – N beschrieben durch die Orientierung des Diederwinkels H-N-C-O ω . Blau gekennzeichnet ist die Ebene, in der die Peptidbindung liegt, die sogenannte Amidebene.

Durch die Diederwinkel ϕ (C-N-C $_{\alpha}$ -C) und ψ (N-C $_{\alpha}$ -C-C) wird die Orientierung des Rückgrats beschrieben. Die Darstellung der potentiellen Energie als Funktion dieser beiden Winkel führt zu einer zweidimensionalen Hyperfläche, dem sogenannten Ramachandran-Plot^{8,9}. Dabei treten neun verschiedene Regionen auf, die zu bestimmten Konformationen gehören. Gemäß der IUPAC-IUB Empfehlung wird eine Notation verwendet, die die Kombinationen der drei möglichen Minima der Diederwinkel ϕ und ψ , gauche+ (g+ = 60°), anti (a = 180) und gauche- (g- = 300°), darstellt. Eine vereinfachte Bezeichnung, die auch in dieser Arbeit benutzt wird, beschreibt die neun möglichen Konformationen mit α_L , α_D , β_L , γ_L , γ_D , δ_L , δ_D , ϵ_L und ϵ_D .

Zur Charakterisierung der Seitenkette wird der Diederwinkel χ_1 eingeführt. Dabei wird die Drehung um die C_α - C_β Bindung beschrieben, die die drei Minima *gauche+* ($g+ = 60^\circ$), *anti* ($a = 180^\circ$) und *gauche-* ($g- = 300^\circ$) hat. Bei einigen Aminosäuren reicht ein Diederwinkel zur eindeutigen Beschreibung der Seitenkette nicht mehr aus und es werden weitere Diederwinkel benötigt. Zum Beispiel kann der Indolring von Tryptophan durch eine 180° Drehung um C_β - C_γ zwei verschiedene Orientierungen annehmen, welche in diesem Fall mit $+$ und $-$ angegeben werden. Mit diesem Satz von Diederwinkeln kann nun eine Konformation eindeutig beschrieben werden und man erhält für ein Dipeptid z.B. folgende Bezeichnung: β_L ($g+$) - $\gamma_L(a)^+$

Anzumerken ist hier noch, dass die Bezeichnung der transständigen Peptidbindung weggelassen wird und nur bei Vorliegen einer *cis*-Anordnung als *cis* angegeben wird. Durch die Abfolge von Aminosäuren bestimmter Konformation werden so die im Folgenden beschriebenen Sekundärstrukturen abgeleitet.

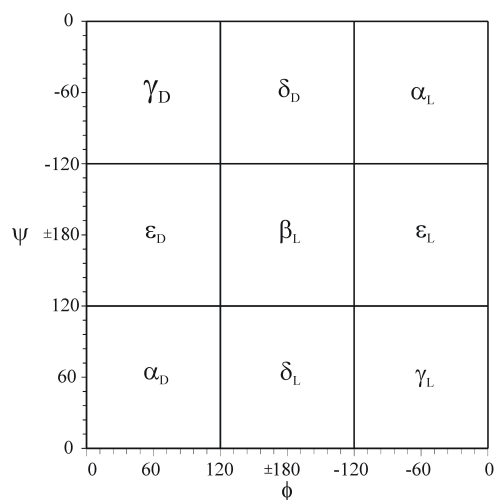
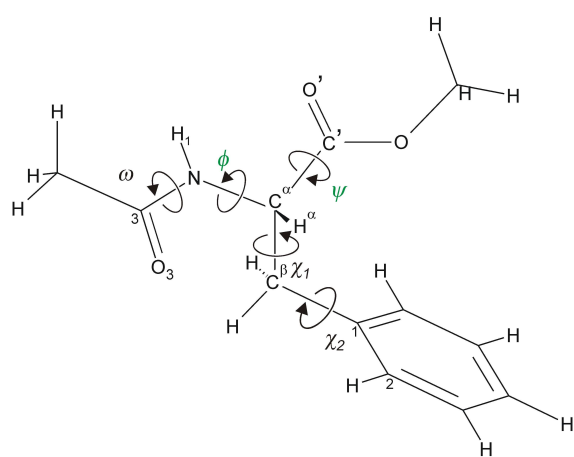


Abbildung 3: Definition der Diederwinkel zur Beschreibung des Rückgrats (ϕ und ψ) und der Seitenkette (χ_1 und χ_2) eines Peptids. Das rechte Bild zeigt den sogenannten Ramachandran-Plot.

2.2.1 Sekundärstrukturen von Peptiden

Es lassen sich grundsätzlich drei Typen unterscheiden: Helices, Faltblätter und Schleifen. Die typischen Charakteristika (Diederwinkel, Verknüpfungsmuster) sind in Tabelle 1 zusammengefasst:

Strukturmotiv	ϕ	ψ		
Faltblätter				
Antiparalleles β -Faltblatt	-139	135		
Paralleles β -Faltblatt	-119	113		
Helices				
Rechtsgängige α -Helix	-57	-47		
3_{10} -helix	-49	-26		
π -Helix	-57	-69		
Schleifen				
Klassischer γ -turn	75 ± 40	-64 ± 40		
Inverser γ -turn	-79 ± 40	69 ± 40		
	$\phi_{(i+1)}$	$\psi_{(i+1)}$	$\phi_{(i+2)}$	$\psi_{(i+2)}$
β -turn type I	-60	-30	-90	0
β -turn type I'	60	30	90	0
β -turn type II	-60	120	80	0
β -turn type II'	60	-120	-80	0

Tabelle 1: Diederwinkel für typische Sekundärstrukturen der Kategorie Faltblätter, Helices und Schleifen.

Helices

Die Helix ist mit einem durchschnittlichen Auftreten von ca. 33% die am häufigsten in der Natur vorkommende Sekundärstruktur. Es lassen sich mehrere Typen unterscheiden, die durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen unterschiedlich große Pseudoringe bilden (siehe Abb. 4). Von diesen Typen sollen hier α -Helix, 3_{10} -Helix und die π -Helix kurz beschrieben werden sollen. Die α -Helix, eine von Pauling und Corey 1951¹⁰ entwickelte und 1957 im Myoglobin¹¹ mittels Röntgenstrukturanalyse nachgewiesene Struktur, wird durch die Abfolge von Aminosäuren mit α -Konformation gebildet, so dass eine rechtsgängige Helix entsteht, in der die Seitenketten nach außen gerichtet sind. Jede Carbonylgruppe (C=O) einer Amidbindung i bildet hierbei eine Wasserstoffbrückenbindung mit einem Amidproton (NH) einer Amidbindung $i+4$ aus und es entsteht dabei ein dreizehngliedriger Ring. Die Wasserstoffbrücken sind gerichtet und liegen parallel zur Helixachse, so dass sich ein Gesamtdipolmoment von $n \cdot 3,5$ D bei n Amidbindungen ergibt. Pro 360° Windung kommen 3,6 Aminosäuren vor. Es wird ein deutlicher kooperativer Effekt bei Verlängerung der Helix festgestellt.

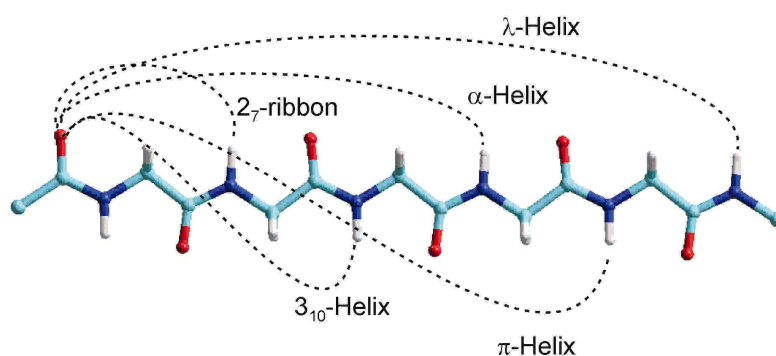


Abbildung 4: Schematische Darstellung möglicher helicaler Bindungsmotive. Die gepunkteten Linien stellen die Wasserstoffbrücken des jeweiligen Typs dar.

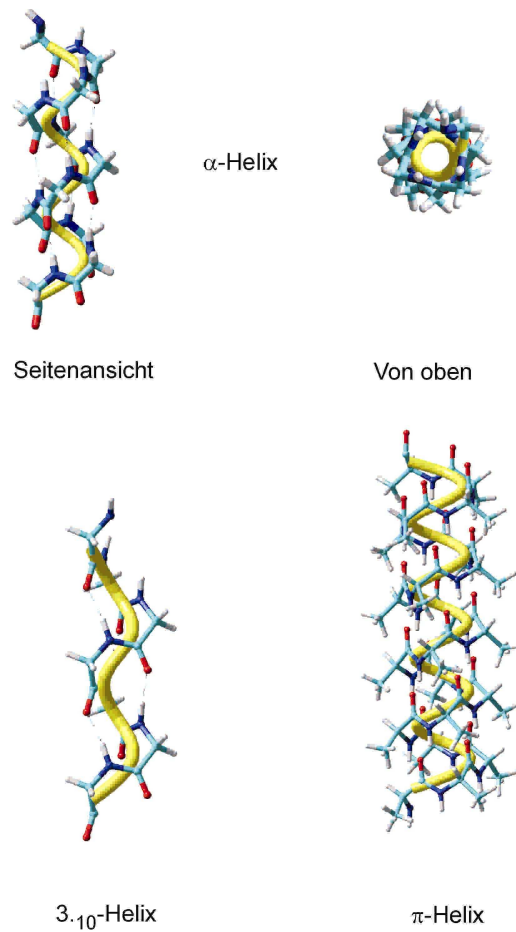
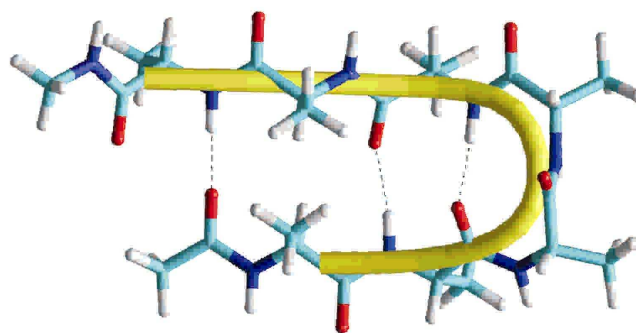


Abbildung 5: Darstellung von α -Helix, 3_{10} -Helix und π -Helix

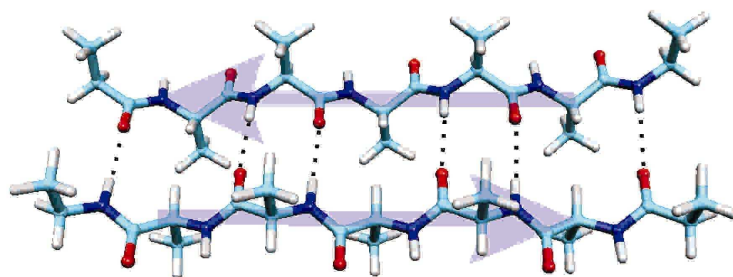
Bei der 3_{10} -Helix liegen pro Windung drei Aminosäuren vor. Die Stabilisierung findet hier durch Wasserstoffbrücken zwischen den Amidgruppen i und $i+3$ statt, wobei diesmal ein zehngliedriger Ring gebildet wird. Diese Helix kann auch als ein Aufeinanderfolgen von β -turns des Typs II' aufgefasst werden. 3 Aminosäuren liegen pro Windung vor. Bei der π -Helix liegen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Amidgruppen i und $i+5$ vor. Die π -Helix ist kein natürlich vorkommender Typ.

Faltblätter

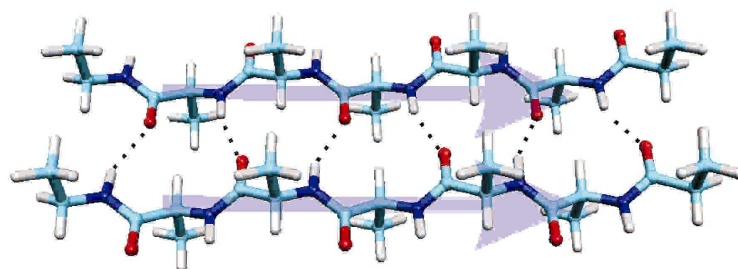
Im Gegensatz zu den helicalen Strukturmotiven wird ein β -Faltblatt durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen gegenüberliegenden Peptidsträngen (β -Strang) gebildet. Dabei ist es zum einen möglich das Faltblatt intramolekular über einen Einzelstrang, der in der Mitte einen β -turn (s. Abschnitt Schleifen) hat, zu bilden, z.B. beim Gramacidin S, oder intermolekular über zwei Einzelstränge. Prinzipiell gibt es bezogen auf die Orientierung der Peptidstränge zueinander zwei verschiedene Anlagerungsmöglichkeiten, nämlich in die gleiche und in die entgegengesetzte Richtung verlaufend bezüglich des N- und C-Terminus. Dies führt zur Ausbildung von parallelen und antiparallelen Faltblättern. Letztere werden in der Natur wesentlich häufiger vorgefunden und gelten als thermodynamisch stabiler. Die Diederwinkel ϕ und ψ liegen typischerweise bei -139° und 135° für antiparallele und bei -119° und 113° bei parallelen Faltblättern. Die mittleren Abstände der Stränge sind 5.07 bzw. 4,84 Å für parallele bzw. antiparallele Faltblätter. Die intermolekularen Wasserstoffbrücken zwischen den Carbonyl- und Amidgruppen bilden bei parallelen Faltblättern gleichmäßige 12 gliedrige Ringe, während bei den antiparallelen Faltblättern abwechselnd 10 und 14 gliedrige Ringe entstehen. Theoretische Untersuchungen¹² an isolierten Systemen haben gezeigt, dass die Stabilisierungsenergien der 14 gliedrigen Ringe um ca. 8 kcal/mol größer sind als die der 10 gliedrigen Ringe. Dieser Energieunterschied wird auf den geringeren O ... O Abstand in 10 gliedrigen Ringen und die damit stärker wirkenden repulsiven Kräfte zurückgeführt. Die Stabilisierungsenergie der 12 gliedrigen Ringe in parallelen Faltblättern wird zu 7,5 kcal/mol berechnet. Die Seitenketten der einzelnen Aminosäuren liegen abwechselnd ober- und unterhalb des Faltblatts.



Intramolekular gebildetes β -Faltblatt



antiparalleles β -Faltblatt



paralleles β -Faltblatt

Abbildung 6: β -Faltblattmodelle

Schleifen

Schleifen (engl. turns oder loops) sind keine sich regelmäßig wiederholende Einheiten, sondern sie verbinden einzelne Bereiche mit definierter Sekundärstruktur, z.B. α -Helix – β -Faltblatt – α -Helix. Es lassen sich drei Typen unterscheiden: α -Turns, β -Turns und γ -Turns. Alle Turns bilden eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen einem Carbonylsauerstoff und einem Amidproton. Je nach Art des Turns entstehen dabei vierzehn- (α), zehn- (β) und siebengliedrige (γ) Ringe. Die β -Turns, die auch Polyprolin-Struktur genannt werden, lassen sich wiederum in zehn verschiedene Typen einteilen, die sich in den Diederwinkeln ϕ und ψ unterscheiden. Bei mehrfacher Wiederholung des β -Turns Typ II entsteht eine reguläre 3_{10} -Helix. Bei den γ -Turns gibt es die regulären und inversen Typen.

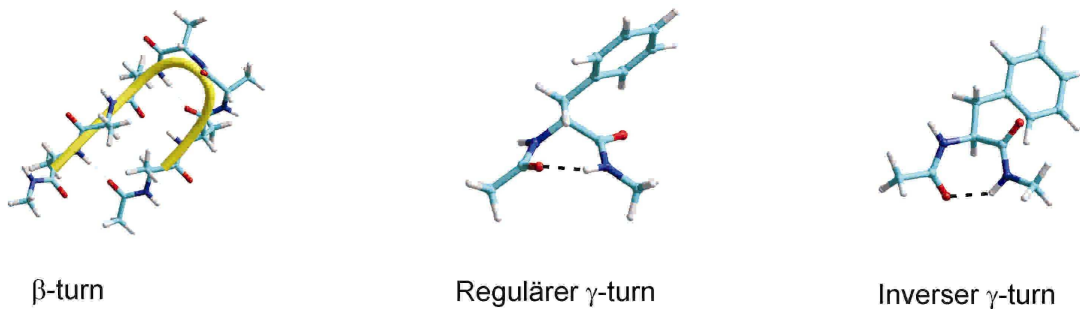


Abbildung 7: Typische Schleifenmotive in Sekundärstrukturen: β -turn, regulärer und inverser γ -turn.

2.3 Untersuchte Moleküle

Die untersuchten Moleküle sollen als Aggregate Modellsysteme für β -Faltblätter darstellen. Es sind deshalb Aminosäuren mit hydrophoben Seitenketten ausgewählt worden, die dazu neigen sollten bevorzugt in der β -Faltblattform aufzutreten. Weiterhin sollen die Moleküle einen kleinen Ausschnitt aus einer Polypeptidkette darstellen. Die Endgruppen in Polypeptiden sind polar oder teilweise sogar geladen. Allerdings sind sie räumlich sehr weit entfernt und haben keinen bzw. nur einen sehr geringen Einfluss auf die eigentliche

Konformation des Polypeptids. In kürzeren Sequenzen würde die polaren Endgruppen die Struktur maßgeblich beeinflussen und die ausgewählten Moleküle würden keine guten Modelle für einen kleinen Ausschnitt aus einem großen Polypeptid darstellen. Deshalb werden die Endgruppen geschützt. Zu diesem Zweck wird am N-Terminus eine Acetylgruppe (abgekürzt Ac = N-acetyl) eingeführt und der C-Terminus entweder verestert (OMe = methylester) oder amidiert (NHMe = methylamid). Der Schutz beider Termini erhöht zudem die thermische Stabilität und unterdrückt somit die Fragmentbildung bei der Überführung in die Gasphase. Wie eingangs bereits erwähnt muss immer ein aromatischer Chromophor enthalten sein, um einen Zugang über die optische Spektroskopie zu erhalten. Die in dieser Arbeit untersuchten Systeme lassen sich unterteilen in Monomere und Aggregate. Bei den Aggregaten wird zum einen der Einfluss der Umgebung durch Zugabe von Wasser untersucht, zum anderen werden Modellsysteme für β -Faltblätter untersucht, die aus Peptid-Peptid oder Peptid-Templat bestehen.

Die Monomere gliedern sich in geschützte Aminosäuren, Ac-Phe-OMe und Ac-Trp-OMe, das Dipeptid Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe und das Tripeptid Ac-Leu-Val-Tyr(Me)-NHMe. Die beiden Peptide sind aufgrund ihrer NHMe-Schutzgruppe auch als Modelle für Tri- bzw. Tetrapeptide anzusehen, da sie drei bzw. vier Amidgruppen NH-C=O enthalten.

Um den Einfluss einer Mikrosolvatation zu erforschen, ist als Aggregat das System Ac-Phe-OMe/(H₂O)₁₋₃ untersucht worden.

Bei den untersuchten Modellsystemen für β -Faltblätter handelt es sich zum einen um die Dimere der geschützten Aminosäuren Ac-Phe-OMe und Ac-Trp-OMe, zum anderen um das Dimer des Dipeptids Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe. Die Dimere von Ac-Phe-OMe und Ac-Trp-OMe können durch die Ausbildung zweier intermolekularer Wasserstoffbrücken einen 10 gliedrigeren Ring formen und enthalten damit das gleiche Strukturelement wie ein antiparalleles β -Faltblatt. Das Dimer des Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe kann sowohl als ein

Modellsystem für ein paralleles als auch für ein antiparalleles β -Faltblatt angesehen werden, da beide Struktur motive gebildet werden können.

Eine spezielle Form des β -Faltblatts soll mit der Wechselwirkung zwischen Peptiden und geeigneten Templatmolekülen erforscht werden. Die Motivation für diese Untersuchungen findet sich in der Alzheimerforschung. Bei dieser Krankheitsform bildet ein β -Faltblattbereich eines Proteins, dass die Aminosäuresequenz KLVFF (Lysin-Leucin-Valin-Phenylalanin-Phenylalanin) aufweist, immer größer werdende Aggregate, die schließlich zu einem Gewebeausfall führen. Eine Strategie diesen pathologischen Vorgang zu verhindern, besteht darin, die entsprechenden aktiven Zentren für Wasserstoffbrückenbildung der Aminosäuresequenz mit geeigneten Templatmolekülen zu blockieren. Nachdem das Templatmolekül an das Peptid gebunden ist, wird eine fortschreitende Aggregation inhibiert. Eine Substanzklasse, die als Templatmolekül in Frage kommt sind Aminopyrazole und deren Derivate. Um die Untersuchung systematisch durchzuführen, wurden zunächst die Cluster eines Templatmoleküls, 5-Amino-3-methylpyrazol, mit zwei unterschiedlichen Peptiden, Ac-Val-Phe-OMe und Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe untersucht. In einem weiteren Schritt wurde der Cluster eines modifizierten Templatmoleküls, 5-methyl-3-trifluoracetylpyrazol, mit Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe untersucht. Durch diese Vorgehensweise kann man zum einen das Clusterungsverhalten von einem Templatmolekül mit zwei unterschiedlichen Peptiden untersuchen und zum anderen feststellen wie ein Peptid mit zwei unterschiedlichen Templatmolekülen wechselwirkt. Auf diese Weise werden Effizienz und Selektivität untersucht und die Ergebnisse können dazu benutzt werden, die Synthesen der Templatmoleküle zu optimieren.

3. Apparativer Aufbau und spektroskopische Techniken

Alle Untersuchungen in dieser Arbeit sind an gepulsten Molekularstrahlen vorgenommen worden. Die durchgeführten Messungen im Molekularstrahl stellen eine Kombination von Spektroskopie und Massenspektrometrie dar. Aus diesem Grund, wird zunächst eine kurze Einleitung über die Erzeugung und die charakteristischen Eigenschaften von Molekularstrahlen sowie den Nachweis von Ionen gegeben. Im anschließenden Abschnitt werden die spektroskopischen Techniken und die dafür verwendeten Lasersysteme beschrieben.

3.1 Molekularstrahlen

Zur Erzeugung von Molekularstrahlen wird aus einem Rezipienten ein Gas mit dem Druck p_0 und der Temperatur T_0 durch eine Pulsdüse in eine evakuierte Kammer mit dem Druck $p_i \ll p_0$ expandiert. Da das Ausströmen sehr schnell verläuft, findet so gut wie kein Energieaustausch mit der Düse statt und der Vorgang ist als adiabatisch und irreversibel anzusehen. Nach den Grundsätzen der Thermodynamik gilt für die Energie des Gases:

$$U_0 + p_0 V_0 + \frac{1}{2} M v_0^2 = U_i + p_i V_i + \frac{1}{2} M v_i^2 \quad (3.1)$$

$$\text{d.h.} \quad H_0 = H_i \quad (3.2)$$

Da $v_0 \sim 0$ ist und in der Expansionskammer $p_i \sim 0$ gilt, vereinfacht sich (3.1) zu

$$U_0 + p_0 V_0 = U_i + \frac{1}{2} m v_i^2 \quad (3.3)$$

Weiterhin gilt $\frac{1}{2} m v_i^2 \gg p_0 V_0$

Damit (3.2) weiterhin erfüllt ist, kommt es zu einer Absenkung der inneren Energie U_i ¹³.

Ist der Düsendurchmesser größer als die mittlere freie Weglänge λ der Gasmoleküle zwischen zwei Stößen, kommt es in Düsennähe zu einer sehr großen Zahl von Stößen. Dabei findet eine Umwandlung von statistisch verteilter, thermischer Energie in gerichtete kinetische Energie in Expansionsrichtung statt und es entsteht ein Düsenstrahl mit Überschallgeschwindigkeit. Die Geschwindigkeitsverteilung ist somit auf einen sehr kleinen Bereich reduziert worden. Zusätzlich werden sogenannte Skimmer verwendet werden, die aus einem kegelförmigen Metall mit einem Öffnungsradius von 1.0 mm bestehen, um die äußeren Bereiche des Molekularstrahls abzuschälen und nur den kalten Kernstrahl durchlassen. Bei der seeded-beam Technik wird die Probe einem Expansionsgas beigemischt. Durch inelastische Stöße mit dem Expansionsgas wird eine Abkühlung der Probenmoleküle erreicht. Dabei wird die in Translations-, Rotations- und Schwingungsfreiheitsgraden gespeicherte Energie der Probenmoleküle in Translationsenergie des Expansionsgases umgewandelt. Die Effektivität der Abkühlung sinkt in der genannten Reihenfolge (Translation>Rotation>Vibration). Die Abkühlung ist umso effektiver, je größer der Stoßquerschnitt des verwendeten Expansionsgases ist. In der Regel werden zur Expansion inerte Edelgase wie Helium, Neon und Argon verwendet. In dieser Arbeit wurde hauptsächlich mit Helium und Neon expandiert. Man erhält somit „kalte“ Moleküle (bezogen auf ihre Translations-, Rotations- und Schwingungstemperatur), die sich im elektronischen Grundzustand im Schwingungszustand v_0 befinden. Hieraus ergeben sich einige wichtige Konsequenzen. Zum einen kann auf diese Weise die Bildung von Clustern, die über van-der-Waals Kräfte nur schwach gebunden sind, erst ermöglicht werden, z.B. Dimere oder Aggregate mit Wasser, zum anderen wird durch die gerichtete Bewegung der Probenmoleküle der Dopplereffekt minimiert und die Stoßverbreiterung reduziert, so dass Spektren mit einer wesentlich höheren Auflösung aufgenommen werden können.

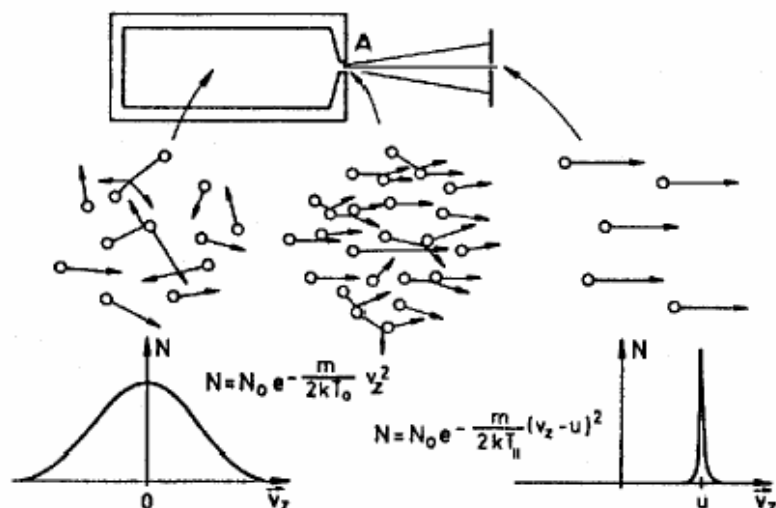


Abbildung 8: Geschwindigkeitsverteilung im Rezipienten und im Molekularstrahl. (aus W. Demtröder, Laserspektroskopie, Grundlagen und Techniken, 4. Auflage, S. 417 Springer, Berlin (1999))

3.1.2 Molekularstrahlapparatur

Zur Erzeugung der Molekularstrahlen und der Detektion der produzierten Ionen (siehe Abschnitt Spektroskopische Techniken), wurde eine spezielle Apparatur verwendet, die aus einem differentiell gepumpten Dreikammersystem besteht: Expansions-, Ionisationskammer und ein lineares Flugzeitmassenspektrometer. Die Expansionskammer wird von einer Diffusionspumpe (3000 l/h, DI 3000 Fa. Leybold) evakuiert, der eine Drehschieber- (65 m³/h, Fa. Alcatel) und eine Wälzkolbenpumpe (250 m³/h, Fa. Alcatel) als Vorpumpen vorgeschaltet sind. Dabei wird im laufenden Betrieb bei geöffneter Pulsdüse ein Druck von 1*10⁻⁵ mbar erreicht. Sowohl Ionisationskammer als auch die Flugstrecke werden je von einer Turbopumpe (Turbovac1000 und Turbovac361, Fa. Leybold) mit vorgeschalteter Drehschieberpumpe auf einen Enddruck von 1*10⁻⁶ und 1*10⁻⁷ mbar evakuiert. In der Ionisationskammer kann der Molekularstrahl je nach Experiment mit bis zu drei Lasern senkrecht zur Strahlrichtung gekreuzt werden. So ionisierte Moleküle durchlaufen eine Driftstrecke von 3 cm, an die auch eine schwache Spannung gelegt werden kann, um andere Techniken, z.B. MATI-Spektroskopie¹⁴ zu betreiben. Zusätzlich wird die Driftstrecke wie

weiter unten beschrieben dazu benutzt den spektralen Untergrund abzutrennen. Am Ende der Driftstrecke befindet sich die Abzugsvorrichtung eines Flugzeitmassenspektrometers (nach Angaben von M. Gerhards gefertigt bei Fa. Jordan) und beschleunigt eintreffende Ionen senkrecht zur Strahlrichtung in die Flugstrecke. Die Abzugsspannung ist in einer Wiley-McLaren Anordnung¹⁵ geschaltet und fokussiert so Ionen gleicher Masse örtlich und zeitlich auf den Detektor. Die erreichbare Auflösung beträgt $m/\Delta m = 1800$ bei einer Masse von 110 amu. Die Abzugsspannung wird gepulst betrieben, was zusammen mit der Driftstrecke zur Vermeidung eines kontinuierlichen Untergrundes führt, der bei konstant angelegter Spannung auftritt. Zur Kompensation einer Drift innerhalb der Flugstrecke, können sowohl in x- als auch in y-Richtung Ablenkspannungen geschaltet werden. An die microchannel plates (mcp`s) des Detektors wird eine Arbeitsspannung von -1700 V angelegt. Die auf die erste Schicht der mcp`s treffenden Ionen produzieren Photoelektronen, die durch Mikrokanäle zur nächsten Schicht geleitet werden und weitere Photoelektronen produzieren, welche wiederum durch Mikrokanäle auf die darauf folgende Schicht treffen. So erhält man eine lawinenartige Vervielfachung der Photoelektronen nach Durchlaufen der gesamten mcp`s. Dieser Elektronenstrom wird danach zusätzlich verstärkt (HVA-200M-40-B, 40 dB, Fa. Femto) und von einem digitalen Oszilloskop (TDS 520, Fa. Techtronics) visualisiert und über eine Schnittstelle von einem Messrechner aufgezeichnet. Die Apparatur wird gepulst betrieben mit einer Frequenz von 10 Hertz. Zur zeitlichen Steuerung aller hierfür erforderlichen Prozesse wird eine kommerzielle Zeitschaltuhr (DG 535, Fa. Stanford Research) sowie eine selbstkonstruierte Zeitschaltuhr verwendet. Als Ausgangspunkt und damit Mastertrigger für alle weiteren Vorgänge dient die Steuerung der Pulsdüse.

Apparativer Aufbau

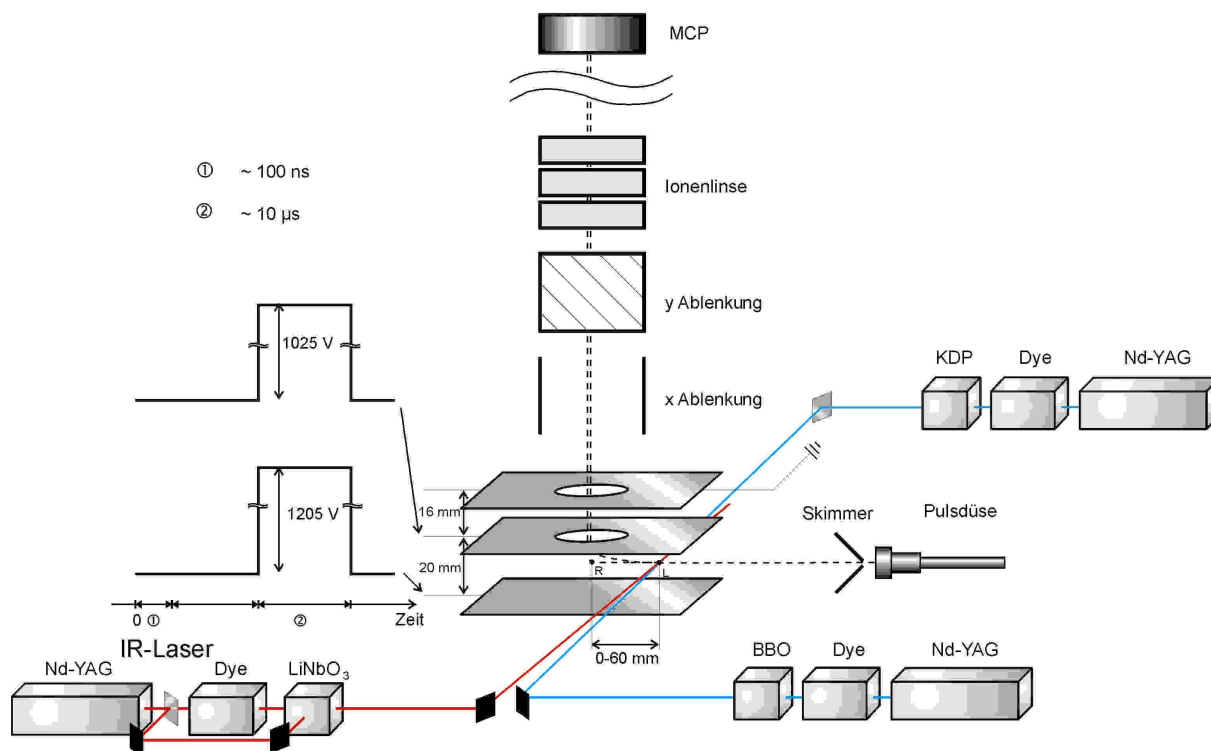


Abbildung 9: Experimenteller Aufbau der Molekularstrahlapparatur in Kombination mit zwei UV- und einem IR-Laser.

Zur Überführung der in dieser Arbeit verwendeten geschützten Aminosäuren und Peptide in die Gasphase, ist ein spezieller heizbarer Probenhalter aus V2A Stahl entwickelt worden. Er besteht aus zwei dicht hintereinander angeordneten zylinderförmigen Töpfen, die über ein Rohr verbunden sind. Am Anfang und Ende des Rohres befinden sich der Gasanschluss bzw. die ebenfalls beheizbare Pulsdüse (Öffnung 500 μm , Iota one, Fa. General Valve). Die Proben werden in Glastiegeln in die Töpfe eingelassen und befinden sich unterhalb der Durchflusshöhe des Expansionsgases. Der Einsatz von Glastiegeln soll einen direkten Kontakt der Probe mit dem Stahl verhindern und damit eventuellen katalytischen Zersetzungen entgegenwirken. Die Probentöpfe sind differentiell heizbar über zwei Heizleiter (Fa. Thermocoax). Das Probenhaltersystem und die Pulsdüse können bis 200°C betrieben werden. Der Expansionsdruck kann je nach Anforderung zwischen 100 – 2000 mbar variiert

werden. Die Öffnungszeit der Pulsdüse liegt typischerweise bei 200-300 μs . Der gesamte Probenträger wird in der Expansionskammer auf einem beweglichen Tisch ¹⁶ montiert, der es auch während des Betriebs erlaubt, Positionen zu verändern und so eine optimale Ausrichtung auf den Skimmer zu gewährleisten. Wichtig in diesem Zusammenhang ist auch die Möglichkeit, die Stellung der Pulsdüsenkappe „online“ zu regeln, da sich speziell bei höheren Temperaturen die Charakteristik der Pulsdüse verändern kann, so dass ein Nachstellen der Kappe erforderlich wird.

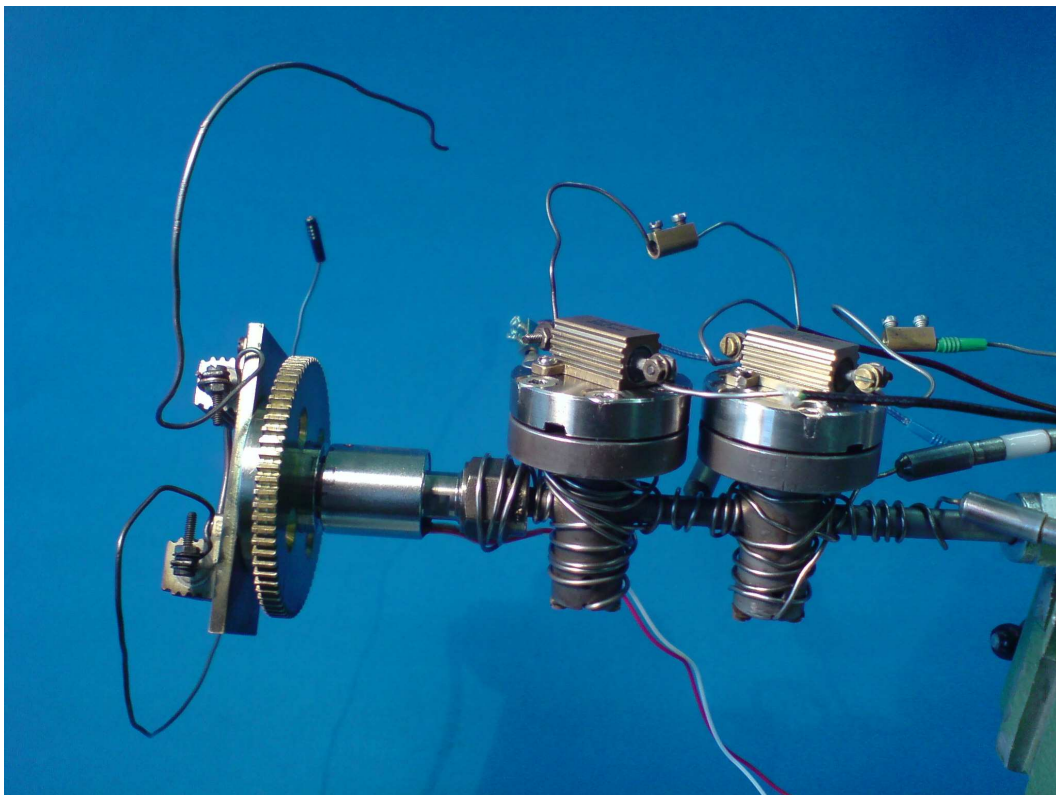


Abbildung 10: Probenhaltersystem mit aufgeschraubter Pulsdüse.

3.2 Spektroskopische Techniken und verwendete Lasersysteme

3.2.1 R2PI (Resonant-2-Photon-Ionization)

Bei dieser Technik ¹⁷⁻¹⁹ wird über einen resonanten Zwischenschritt ein Molekül ionisiert und kann dann über ein Flugzeitmassenspektrometer nachgewiesen werden, was zu einer

Massenselektivität der untersuchten Spezies führt. Zu diesem Zweck wird ein gepulster UV-Laser durchgestimmt und jedes Mal, wenn die Resonanzbedingung für einen Übergang in einen elektronisch angeregten Zustand erfüllt ist, wird dieser durch Absorption eines Photons populiert. Die Übergangswahrscheinlichkeit zu verschiedenen angeregten Zuständen findet gemäß dem Franck-Condon-Prinzip statt. Durch Absorption eines zweiten Photons kann das Molekül nun aus dem angeregten elektronischen Zustand sehr effektiv ionisiert werden. Die Zahl der Moleküle, die so ionisiert werden, ist um ein Vielfaches größer als im nichtresonanten Fall. Auf diese Weise erhält man ein schwingungsaufgelöstes Anregungsspektrum. Je nach den energetischen Abständen der elektronischen Zustände, werden Photonen der gleichen Wellenlänge oder 2 Photonen unterschiedlicher Wellenlänge benötigt, um resonant zu ionisieren. Im ersten Fall spricht man von 1-Farben (1-Colour) im zweiten von 2-Farben (2-Colour)-R2PI. Das so erhaltene R2PI-Spektrum kann entweder aus einem oder mehreren Isomeren mit ähnlichen Anregungsenergien bestehen. Weiterhin soll noch die allgemeinere Technik der resonanten Multiphotonen Ionisation erwähnt werden, die nach der Anzahl der Photonen $m+n$ benannt wird, die benötigt werden, um den elektronisch angeregten (m) und ionischen (n) Zustand zu erreichen. So unterscheidet man z.B. 1+1 und 2+1-Rempi (**R**esonance **e**nhanced **m**ultiphoton **i**onization).

In dieser Arbeit wurde UV-Licht durch die Verdopplung der Ausgangsleistung von zwei verschiedenen Farbstofflasern (HD300, Fa. Lumonics und Cobra Stretch, Fa. Sirah) erzeugt, die jeweils von einem Nd-YAG-Laser (HY400 und HY750, Fa. Lumonics) gepumpt worden sind. Je nach benötigtem Frequenzbereich wurde wahlweise ein KDP oder ein BBO-Kristall verwendet.

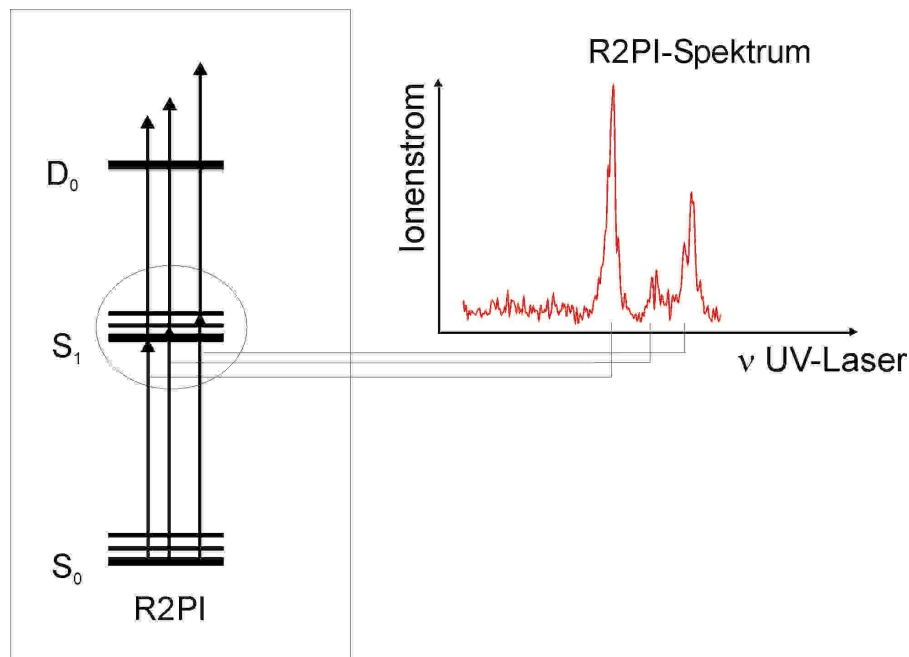


Abbildung 11: Termschema der R2PI-Spektroskopie.

3.2.2 Infrared/ Resonant-2 Photon-Ionization (IR/R2PI)

Fixiert man einen UV Laser auf einen festen Übergang aus einem R2PI-Spektrum, so wird dadurch ein konstantes Ionensignal erzeugt. Stimmt man nun einen IR-Laser durch, der zeitlich vor dem UV-Laser eingestrahlt wird (~ 100 ns), und regt eine Schwingung an, so wird der Grundzustand depopuliert und es werden weniger Moleküle vom nachfolgenden UV-Laser ionisiert. Dadurch bricht das Ionensignal an dieser Stelle ein. Mit diesem Prinzip erhält man ein IR/R2PI-Spektrum²⁰⁻²⁴ des Grundzustandes S_0 . Die Methode ist über den resonanten Zwischenschritt massen- und isomerenselektiv, da unterschiedliche Isomere verschiedene

Anregungsenergien haben. Sie kann darüber hinaus auch benutzt werden, um zu überprüfen, welche Übergänge eines R2PI-Spektrums einem bestimmten Isomer zuzuordnen sind, da in diesem Fall die IR-Spektren identisch sein müssen. Darüber hinaus erhält man durch die IR-Spektren anhand der Bandenlage eine direkte Information bezüglich der Struktur des untersuchten Moleküls. Durch die zeitliche Abfolge von IR- und UV-Laser bietet sich auch die Möglichkeit, IR/R2PI-Spektren für den angeregten und ionischen Zustand aufzunehmen. Diese Methode bietet demnach eine große Informationsvielfalt und Kontrolle, so dass sie hervorragend dazu geeignet ist zur Strukturanalyse in der Gasphase eingesetzt zu werden.

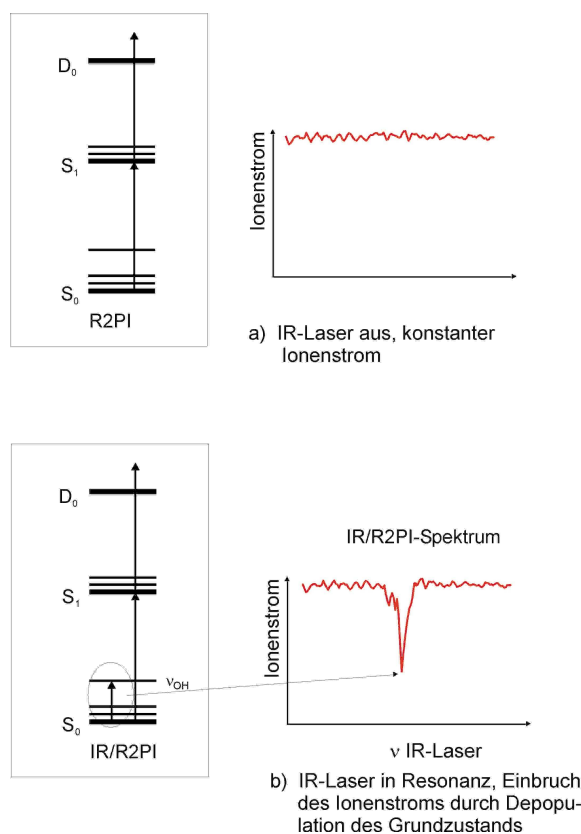


Abbildung 12: Schematische Darstellung IR-R2PI-Spektroskopie

Die Erzeugung von IR-Licht erfolgte in mehreren hintereinander geschalteten nichtlinearen optischen Prozessen. Für den IR-Bereich von $2600\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ wird die Ausgangsleistung eines Farbstofflasers (Prescion Scan, Fa. Sirah) mit der Fundamentalen (1064 nm) eines Nd-

YAG-Lasers (Pro230, Fa. SpectraPhysics), der gleichzeitig auch als Pumplaser für den Farbstofflaser eingesetzt wird, in einem ersten Differenzfrequenzprozess (Difference frequency mixing = DFM1) abgemischt. Der durch die zweite Harmonische (532 nm) des Nd-YAG-Lasers gepumpte Farbstofflaser wird im Bereich von 746-833 nm (Farbstoffe Styryl 8 und 9) betrieben und man erhält durch einen nichtlinearen optischen Prozess mit der Fundamentalen des Pumplasers in einem 30 mm langen LiNbO₃-Kristall, der zusätzlich mit MgO dotiert worden ist (zur Erhöhung der Zerstörschwelle), als Differenzfrequenz IR-Licht im Bereich von 2600-4000 cm⁻¹. Nach dem Abtrennen der restlichen Anteile an Fundamentale und Dye-Strahlung wird das IR-Licht wiederum mit der Fundamentalen des Nd-YAG-Lasers abgemischt und dadurch verstärkt. In diesem sogenannten OPA-Prozess (optical parametrical amplification), der in einem 50 mm langen LiNbO₃-Kristall stattfindet, teilt sich ein Photon der Fundamentalen in eine Hilfswelle (Differenz aus Fundamentaler und einfallender IR-Strahlung, genannt Idler) und die Ausgangswelle (Signal) der IR-Strahlung auf, die so verstärkt wird. Hierbei wird zunächst wiederum eine Differenz zwischen Fundamental- und Pumpstrahlung erzeugt: $\nu_{\text{Idler}} = \nu_{1064} - \nu_{\text{Signal}}$. Die so erzeugte Strahlung ν_{Idler} kann wiederum eine Differenz mit der Fundamentalen bilden $\nu_{\text{Signal}} = \nu_{1064} - \nu_{\text{Idler}}$. Durch diesen Verstärkungsprozess kann die Signalstrahlung aus der DFM1-Stufe um den Faktor 10 verstärkt werden, so dass Leistungen der Signalstrahlung von 10-20 mJ erreicht werden können. Die Gesamtleistung von Signal+Idler beträgt bis zu 45 mJ. Im Bereich der Eigenabsorption des LiNbO₃-Kristalls der DFM1-Stufe, die zwischen 3460-3520 cm⁻¹ liegt, wird ein hoch MgO dotierter LiNbO₃-Kristall verwendet, der eine Eigenabsorption im Bereich von 3520-3550 cm⁻¹ hat. Für diesen Bereich ist nicht der passende OPA-Kristall vorhanden, so dass mit der Leistung aus dem ersten Abmischprozess gearbeitet werden muss. Diese Leistung beträgt 2 – 3,5 mJ.

Eine Besonderheit stellt die Erzeugung des mittleren IR-Lichts im Bereich von 1000 – 1800 cm⁻¹ dar²⁵. Hierzu werden in einem weiteren Differenzfrequenzmischprozess Signal und

Idler aus der OPA-Stufe in einem 18 mm langen AgGaSe₂-Kristall abgemischt. Bei einer Eingangsleistung von 15 mJ Signal+Idler erhält man bei optimalen Strahlprofilen bei 1645 cm⁻¹ ca. 440 μJ Leistung. Für den Bereich von 1450 – 1000 cm⁻¹ steht ein weiterer AgGaSe₂-Kristall zur Verfügung, der einen auf diesen Bereich angepassten Schnittwinkel hat. Die Leistung bei 1200 cm⁻¹ und einer Eingangsleistung von ebenfalls 15 mJ für Signal+Idler liegt bei 380 μJ. Dies ist in der Regel ausreichend, da die in diesem Bereich absorbierenden Schwingungen eine wesentlich stärkere Intensität als im Bereich der OH- und NH-Streckschwingungen haben. Größere Leistungen sind möglich, da in der jetzt gewählten moderaten Arbeitsweise die Zerstörschwelle des AgGaSe₂-Kristalls (50 mJ Signal+Idler /cm²) noch weit unterschritten wird.

Somit steht für einen großen Bereich, in dem sehr viele strukturelevante Schwingungen zu beobachten sind, ein leistungsstarkes IR-Lasersystem mit sehr guter Auflösung (0.1 cm⁻¹ bei 2600-4000 cm⁻¹ und 0.3 cm⁻¹ im Bereich <1800 cm⁻¹) zur Verfügung.

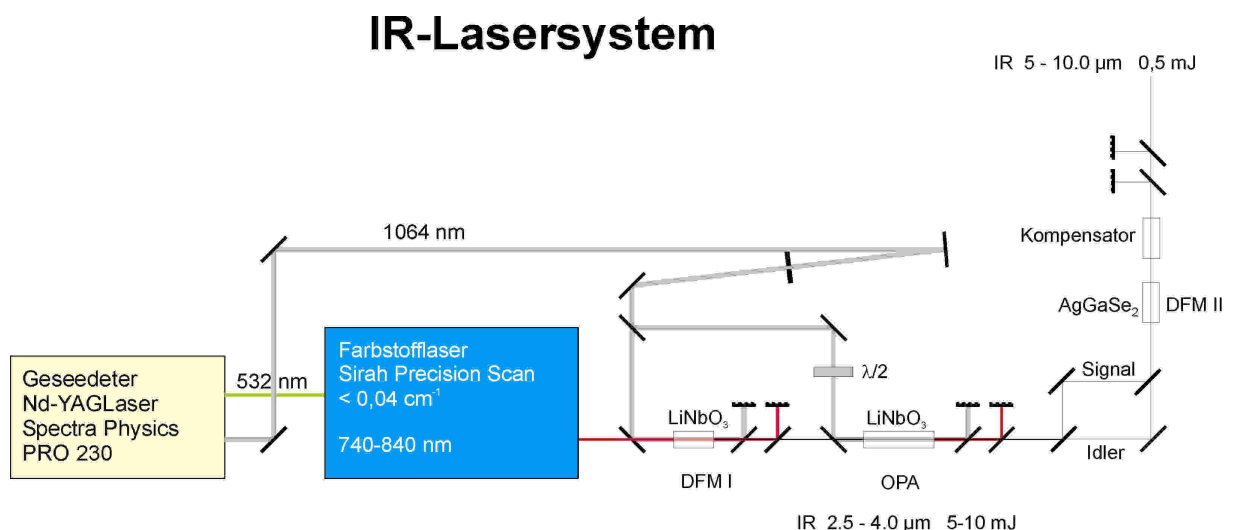


Abbildung 13: Schematischer Aufbau des IR-Lasersystems.

4. Theoretische Methoden

Um die experimentellen Daten zu interpretieren, werden sie mit den Ergebnissen von theoretischen Modellen verglichen. Hierbei sind neben den relativen Stabilitäten natürlich die berechneten Schwingungsfrequenzen von besonderem Interesse, da sie einen direkten Vergleich zum Experiment bieten. Die angewandten Methoden sind Moleküldynamik/Kraftfeld, ab initio - und Dichtefunktionalrechnungen und sollen im Folgenden kurz beschrieben werden. Ausführliche Betrachtungen befinden sich in den angegebenen Literaturquellen. Des Weiteren soll aufgrund der Bedeutung in dieser Arbeit eine kurze Einführung zur Normalkoordinatenanalyse gegeben werden.

4.1 Moleküldynamik/Kraftfeld

In der Moleküldynamik werden die Trajektorien berechnet, die Moleküle zeigen, wenn durch eine kurze (~ 1 fs) Krafteinwirkung eine zeitliche Änderung der Geschwindigkeiten und Positionen der Atome des Moleküls erfolgt. Zur Berechnung der Trajektorien muss die 2. Newtonsche Bewegungsgleichung für alle Atome des Moleküls durch Integration gelöst werden.

$$F = m \left(\frac{\partial^2 r}{\partial t^2} \right) \quad (4.1)$$

Dies geschieht in der Regel durch die Anwendung verschiedener Algorithmen, z.B. Leap-Frog. Man erhält damit nach erfolgter Krafteinwirkung eine veränderte Geometrie. Es ist somit möglich einen Konformationsraum zu durchschreiten, indem man eine ausgewählte Startgeometrie verwendet und eine ausreichende Anzahl von Zeitschritten festlegt.

Zur Lösung der Bewegungsgleichungen muss ein Potential entsprechend dem Molekülmodell (quantenmechanisch oder klassische Betrachtungsweise) festgelegt werden. In unserem Fall

wird dieses Potential durch ein so genanntes Kraftfeld definiert. Das Kraftfeld stellt die potentielle Energie als Summe von Einzelenergiebeiträgen dar. Dabei werden Geometrieänderungen, z.B. Schwingung, Rotation, durch Ansätze aus der klassischen Mechanik beschrieben. Die interatomaren Wechselwirkungen aufgrund elektrostatischer und dipolarer Natur, werden durch die Verwendung von Termen für Coulomb- und van-der-Waals Kräfte (Lennard-Jones-Potential) berücksichtigt. Die in diesen Ausdrücken vorkommenden Parameter für Bindungslängen, Kraftkonstanten, Ladungen usw. werden über verschiedene Parametrisierungsverfahren aus ab initio und experimentellen Daten abgeleitet. Mit dem Kraftfeld werden Strukturen für jeden Punkt der Trajektorie minimiert und man erhält nach und nach die Einzelpunkte einer Hyperpotentialfläche. Durch die Verwendung eines Klasse II Kraftfeldes²⁶ ist es auch möglich, berechnete Schwingungsfrequenzen zur Strukturanalyse zu benutzen. Die Potentialfunktionen der Klasse II Kraftfelder zeichnen sich durch eine hohe Anzahl an Kreuztermen aus, die gekoppelte Geometrieänderungen beschreiben. Dadurch sind die berechneten Frequenzen wesentlich genauer als bei herkömmlichen einfachen Kraftfeldern. Diese sehr schnelle Rechenmethode bietet damit die Möglichkeit eine Vorauswahl an geeigneten Startgeometrien für höherwertige Rechnungen zu generieren und ist darüber hinaus auch für kleine Moleküle geeignet qualitativ gute Schwingungsanalysen durchzuführen. Bei der Untersuchung von flexiblen Molekülen wie den Peptiden gibt es eine sehr große Zahl an möglichen Konformeren, so dass eine gute Vorauswahl der in Frage kommenden Strukturen durch eine schnelle Methode zu einer weitaus effizienteren Interpretation der experimentellen Ergebnisse führt. In dieser Arbeit ist das Klasse II Kraftfeld CFF der Firma accelrys verwendet worden²⁶⁻³⁰.

4.2 ab initio Rechnungen

Bei der Lösung der zeitunabhängigen Schrödingergleichung tritt bei Mehrelektronensystem das Problem der Elektronenkorrelation auf. Die zeitunabhängige Schrödingergleichung lautet mit R und r als Koordinaten der Kerne und Elektronen:

$$H\Psi(R, r) = E\Psi(R, r) \quad (4.2)$$

$$\text{Der exakte Hamiltonoperator lautet } H = T_E + T_K + V_{EE} + V_{EK} + V_{KK} \quad (4.3)$$

Die Elektronen bewegen sich nicht unabhängig voneinander. Die Schrödingergleichung ist deshalb nicht mehr separierbar und kann nicht exakt gelöst werden. In der Hartree-Fock^{31, 32} Näherung wird die Bewegung eines Elektrons im gemittelten Potential aller anderen Elektronen und der Kerne betrachtet (mean field theory).

Als Lösungsansatz wird für die Wellenfunktion deshalb eine Slater-Determinante³³ aus Spinorbitalen konstruiert.

$$\Psi^{HF} = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \psi_1(1) & \dots & \psi_1(N) \\ \vdots & & \vdots \\ \psi_N(1) & \dots & \psi_N(N) \end{vmatrix} \quad (4.4)$$

Die Spinorbitale selbst sind das Produkt aus Orbital und Spinfunktion. Wendet man nun den elektronischen Hamilton-Operator auf die Slater-Determinante an, kommt man zu folgendem Ausdruck für den Erwartungswert der Energie:

$$E_{HF} = \sum_i h_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1} \sum_{j=1} (J_{ij} - K_{ij}) \quad (4.5)$$

Mit $h_i = \langle \psi_i(1) | \hat{h} | \psi_i(1) \rangle$ core-Integral

$$J_{ij} = \langle \psi_i(1)\psi_j(2) | \frac{1}{r_{12}} | \psi_i(1)\psi_j(2) \rangle \quad \text{Coulomb-Integral}$$

$$K_{ij} = \langle \psi_i(1)\psi_j(2) | \frac{1}{r_{12}} | \psi_j(1)\psi_i(2) \rangle \quad \text{Austausch-Integral}$$

Über diesen Ansatz gelangt man durch Anwendung der unbestimmten Multiplikatorenmethode nach Lagrange zur Minimierung des Energieausdrucks zur Hartree-Fock-Gleichung:

$$\hat{f} \psi_i(x_1) = \sum_j \theta_{ji} \psi_j(x_1) \quad (4.6)$$

Der Fock-Operator \hat{f} wird durch Diagonalisierung der Lagrangematrix θ nicht verändert, man erhält jedoch transformierte Orbitale ψ'_i und gelangt so zu der kanonischen Hartree-Fock-Gleichung. Dieses (Pseudo)Eigenwertproblem kann nun iterativ gelöst werden. Dabei geht man so vor, dass man zunächst aus genährten Eigenfunktionen einen Fock-Operator konstruiert und das Eigenwertproblem löst. Mit den daraus erhaltenen Eigenfunktionen wird ein neuer Fock-Operator konstruiert usw. Dies wird solange gemacht bis die Eigenfunktionen sich nicht mehr verändern und selbstkonsistent werden. Durch das Ansetzen der verwendeten Orbitale aus Basisfunktionen befindet sich in den Rechnungen eine zusätzliche Näherung. Eine Verbesserung kann hierbei durch Verwendung größerer Basissätze erzielt werden. Dennoch erreicht man selbst bei einem unendlich großen Basissatz nur das Hartree-Fock-Limit, da der Beitrag der Elektronenkorrelation durch die gemittelten Potentiale nicht wirklich erfasst wird.

In dieser Arbeit sind Optimierungen und Normalkoordinatenanalysen mit dem Hartree-Fock-Verfahren unter Verwendung der Programme Gaussian98 und Gaussian03^{33,34} durchgeführt worden. Dabei wurden die Pople-Basissätze 3-21G* und 6-31G**^{35, 36} verwendet. Die Verwendung des kleineren Basissatzes 3-21G* ermöglicht eine hohe Anzahl von Einzelrechnungen, die als Vorauswahl für höherwertige Rechnungen benutzt werden können. Aufgrund der unzureichenden Größe eignet sich der Basissatz zwar nicht dazu verlässliche Energiewerte zu berechnen, jedoch liefert er durch eine gute Fehlerkompensation brauchbare Frequenzen für nicht wasserstoffbrückengebundene Schwingungen. Dieser Schwingungstyp

lässt sich über den größeren Basissatz 6-31G** besser berechnen. Zudem liefert der größere Basissatz eine höhere Genauigkeit der berechneten relativen Energien.

4.3 Dichtefunktionaltheorie

Nach Hohenberg und Kohn wird der Grundzustand eines wechselwirkenden, inhomogenen Elektronengases in einem vorgegebenen externen Potential eindeutig durch die Elektronendichte ρ beschrieben. Ein Vielteilchensystem ist demnach ein Funktional der Elektronendichte. Das bedeutet, dass man bei einem festgelegten Potential durch Variation der Energie nach der Elektronendichte die Grundzustandsenergie erhält.

$$E_{KS}(\rho) = \sum_i \int \psi_i^*(x) \left(-\frac{1}{2} \nabla^2 \right) \psi_i(x) dx + \int \rho(r) V(r) dr + \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' + E_{XC}(\rho) \quad (4.7)$$

Allerdings ist in dem Erwartungswert E_{KS} für die Energie das so genannte Austausch-Korrelationsfunktional $E_{XC}(\rho)$ unbekannt und kann nur mit Näherungen beschrieben werden. Es gibt eine Vielzahl an Funktionalen, die aus unterschiedlichsten Ansätzen generiert worden sind. Die Elektronendichte ergibt sich zu:

$$\rho(r) = \sum_i \int \psi_i^*(r, \omega) \psi_i(r, \omega) d\omega \quad (4.8)$$

Dabei sind r und ω die Orts- und Spinkoordinaten. Zur Konstruktion der Wellenfunktion wird wiederum eine Slater-Determinante verwendet.

Ähnlich wie beim Hartree-Fock-Verfahren gelangt man durch die Anwendung der Methode der unbestimmten Multiplikatoren zu den Kohn-Sham-Gleichungen:

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + V_{eff} \right] \psi_i(x) = \varepsilon_i \psi_i(x) \quad (4.9)$$

Dieses Eigenwertproblem kann wiederum iterativ bis zur Selbstkonsistenz gelöst werden. DFT Rechnungen wurden mit den Programmen Gaussian98 und Gaussian03^{33, 34} sowie Turbomole³⁷ durchgeführt. Um die Rechnungen mit den Ergebnissen anderer Gruppen zu

vergleichen wurde als Funktional in dieser Arbeit ausschließlich B3LYP^{38,39} verwendet. Je nach Größe der zu berechnenden Moleküle sind unterschiedlich große Basissätze verwendet worden. Für die Rechnungen unter Gaussian waren das die Pople-Basissätze 6-31+G* und 6-311++G**^{36,40} und für die Rechnungen mit Turbomole der Dunning-Basissatz cc-pVDZ⁴¹.

4.4 Normalkoordinatenanalyse

In der klassischen Betrachtungsweise wird die kinetische Energie eines Moleküls, das eine geringfügige Auslenkung x aus seinem Gleichgewichtszustand erfährt, durch folgenden Ausdruck beschrieben:

$$T = \frac{1}{2} \sum_i^{3N} m_i \dot{x}_i^2 \quad (4.10)$$

Durch die Einführung von massengewichteten kartesischen Verrückungskoodinaten,

$$q_i = \sqrt{m_i} x_i \quad (4.11)$$

erhält man aus (4.10):

$$T = \frac{1}{2} \sum_i^{3N} \dot{q}_i^2 \quad (4.12)$$

Die potentielle Energie wird durch Taylorreihenentwicklung um den Gleichgewichtszustand ausgedrückt. Hierbei wird $V_0 = 0$ gesetzt und die Entwicklung nach dem quadratischen Glied abgebrochen. Daraus erhält man:

$$V = \frac{1}{2} \sum_i^{3N} \left(\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j} \right) m_i x_i^2 \quad (4.13)$$

Mit (4.11) und $f_{i,j} = \left(\frac{\partial V^2}{\partial x_i \partial x_j} \right)$ ergibt sich folgender Ausdruck für die potentielle Energie:

$$V = \frac{1}{2} \sum_{i,j}^{3N} f_{ij} q_i q_j \quad (4.14)$$

Wenn man die so gewonnenen Ausdrücke für die kinetische und potentielle Energie in die Newtonsche Bewegungsgleichung in der Euler-Lagrange-Notation einsetzt, erhält man zunächst ein System gekoppelter linearer Differentialgleichungen:

$$\frac{d}{dt} \frac{\partial T}{\partial \dot{q}_j} + \frac{\partial V}{\partial q_j} = 0 \quad (4.15)$$

$$\ddot{q}_j + \sum_{i=1}^{3N} f_{ij} q_i = 0 \quad (4.16)$$

Eine mögliche Lösung für (4.16) ist:

$$q_i = A_i \cos(\lambda^{\frac{1}{2}} t + \varepsilon) \quad (4.17)$$

Setzt man diesen Ausdruck in (4.16) ein, so erhält man:

$$\sum_{i=1}^{3N} (f_{ij} - \delta_{ij} \lambda) A_i = 0 \quad \text{mit dem Kronecker Delta } \delta_{ij} \quad (4.18)$$

Schließt man die triviale Lösung $A_i = 0$ aus, so muss es spezielle Werte λ_i geben, für die (4.18) erfüllt ist, d.h. der Klammerausdruck muss den Wert 0 annehmen. So erhält man in Determinantenschreibweise die so genannte Säkulargleichung:

$$\det | \mathbf{F} - \lambda \mathbf{E} | = 0 \quad (4.19)$$

Durch Diagonalisierung der Kraftkonstantenmatrix \mathbf{F} erhält man die Eigenfrequenzen λ .

Die Normalkoordinaten \mathbf{Q} können durch eine lineare Transformation aus \mathbf{q} erhalten werden. Für jede Normalmode erhält man eine Normalkoordinate. Die Transformation von kartesischen Verrückungskoordinaten zu den Normalkoordinaten hat einen weiteren wichtigen Effekt und zwar sind die erhaltenen Normalkoordinaten orthogonal zueinander.

Das wiederum bedeutet, dass die gesamte Schwingungsenergie als Summe aller Einzelschwingungen ausgedrückt werden kann. Jede Schwingung ist separiert von dem Rest und kann nun einzeln behandelt werden. Unter Verwendung der Normalkoordinaten lautet die Schrödingergleichung für das Schwingungsproblem:

$$\sum_{i=1}^{3N-6} \left(\frac{-\hbar}{2} \frac{\partial^2}{\partial Q_i^2} + \omega_i^2 Q_i^2 \right) \chi = E_s \chi \quad (4.20)$$

Aufgrund der Orthogonalität der Normalkoordinaten, kann (4.20) durch einen Produktansatz gelöst werden:

$$\chi(Q_1 \dots Q_{3N-6}) = \prod_{i=1}^{3N-6} \chi_{vi}(Q_i) \quad (4.21)$$

In dem hauptsächlich verwendeten Rechenprogrammen Gaussian 98 und Gaussian 03^{33,34} werden zur Aufstellung der Kraftkonstantenmatrix **F** die zweiten Ableitungen der potentiellen Energie **V** analytisch gelöst. Es werden massengewichtete kartesische Koordinaten verwendet. Die Diagonalisierung liefert 3N Eigenvektoren, die den Normalmoden inclusive Translation und Rotation entsprechen. Danach wird das Hauptträgheitsachsensystem bestimmt und daraus eine Matrix **D** aufgestellt, die die massengewichteten kartesischen Koordinaten in innere Koordinaten transformiert. Die daraus aufgestellte Kraftkonstantenmatrix wird wiederum diagonalisiert und man erhält 3N-6 Eigenvektoren λ_i , die den Molekülschwingungen entsprechen:

$$\tilde{\nu} = \sqrt{\frac{\lambda_i}{4\pi^2 c^2}} \quad (4.22)$$

Eine wichtige Voraussetzung für eine Normalkoordinatenanalyse ist, dass die erste Ableitung von **V** gleich Null ist. Dies bedeutet, dass eine Struktur vorliegen muss, die ein Minimum auf der Hyperfläche darstellt.

In der Regel sind die von quantenchemischen Rechenmethoden berechneten Schwingungsfrequenzen zu hoch, da die Verfahren in aller Regel keine Anharmonizitäten berücksichtigen und Elektronenkorrelation meist gar nicht und oft nur näherungsweise erfassen. Eine wesentliche Verbesserung kann hierbei durch Verwendung höherwertiger Methoden und sehr großer Basissätze erzielt werden. Allerdings steigt die dabei benötigte Rechenzeit sehr stark an, so dass eine komplette Analyse eines Konformationsraums eines flexiblen Moleküls wie der eines Dipeptids innerhalb einer überschaubaren Zeit unmöglich wird. Aus diesem Grund kann bei den gegebenen Rechnerkapazitäten und der sehr großen Anzahl an benötigten Rechnungen nur auf schnellere Methoden zurückgegriffen werden. In dieser Arbeit sind dies wie bereits erwähnt HF und DFT unter Verwendung der Basissätze 3-21G(d), 6-31+G(d), 6-31G(d,p), 6-311++G(d,p). Durch Einführung von Skalierungsfaktoren, die sich aus dem Vergleich von experimentellen Daten mit Rechnungen bereits bekannter Systeme ergeben, erhält man im Bereich der freien NH, OH und C=O Streckschwingungen akkurate Schwingungsfrequenzen, so dass eine qualitativ gute Spektralanalyse durchgeführt werden kann. Die Anpassung ist umso besser desto geringer der anharmonische Anteil der Schwingung ist. In diesem Zusammenhang ist zum einen die gewählte Methode, zum anderen der verwendete Basissatz von großer Bedeutung. Besonders deutlich wurde dies für die berechneten Frequenzen für das Monomer des Ac-Phe-OMe, die mit DFT/B3LYP und einem großen Basissatz, 6-311++G(d,p) eine nahezu perfekte Anpassung der Bandenlagen und –intensitäten hatten. Die Qualität ist für die niedrigeren Basissätze etwas schlechter, dennoch lassen sich auch z.B. mit HF/3-21G(d) durch eine sehr gute Fehlerkompensation aussagekräftige Frequenzvorsagen erhalten. Eine systematische Analyse des Ac-Phe-OMe mit mehreren Methoden (HF, DFT, Störungstheorie) von kleinen zu großen Basissätzen hat ergeben, dass bereits mit den kleineren Basisätzen eine gute Aussage bezüglich der skalierten Frequenzen getroffen werden kann. Ein weiterer wichtiger Aspekt liegt in der

Vergleichbarkeit der berechneten Daten mit denen anderer Arbeitsgruppen, die dieselben Methoden verwendet haben.

Im Bereich der Schwingungen, an denen wasserstoffbrückengebundenen Gruppen beteiligt sind, ist die Güte je nach Grad der Anharmonizität sehr unterschiedlich, so dass z.B. für gebundene Schwingungen von Wasser extra Skalierungsfaktoren eingeführt werden müssen. Auch führt hier die Verwendung eines größeren Basissatzes zu einer klaren Verbesserung. Die auftretenden Abweichungen zum Experiment sind für die anharmonischen Schwingungen zwar größer als für die harmonischen Schwingungen, dennoch beschreiben sie die relativen Verhältnisse richtig und können zur Spektrenanalyse benutzt werden.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden Strukturanalysen von geschützten Aminosäuren, Peptiden und Peptid-Clustern in der Gasphase durchgeführt. Durch die Aufnahme von R2PI- und IR/R2PI-Spektren im Molekularstrahl konnten im Vergleich mit theoretischen Ergebnissen strukturelle Zuordnungen gemacht werden. Dabei wurden die auf unterschiedlichen theoretischen Niveaus berechneten Schwingungsfrequenzen mit den experimentellen Werten verglichen und zusätzlich die berechneten relativen Stabilitäten berücksichtigt. Darüber hinaus konnten im Fall der Dimere und gefalteten Konformere Aussagen über die Bindungsstärken von Wasserstoffbrückenbindungen gemacht werden. Der Schwerpunkt wurde auf die Untersuchung von Molekülen gelegt, die als Modellsysteme für ausgedehnte β -Faltblätter dienen. Die Untersuchungen stellen eine Fortsetzung der bereits in der Gruppe Gerhards begonnenen Forschung hin zu größeren Systemen dar. Durch eine systematische Vorgehensweise von kleineren zu größeren Molekülen konnten so wertvolle Ergebnisse zur Strukturaufklärung geliefert werden. Die dazugehörigen Veröffentlichungen sind im Anhang A beigefügt und werden im Folgenden einzeln zusammengefasst.

5.1 Ac-Phe-OMe

Das erste untersuchte System stellt die geschützte Aminosäure N-Acetylphenylalaninmethylester, Ac-Phe-OMe, dar (Anhang A [I]). Die frühen spektroskopischen Arbeiten im Molekularstrahl zu freiem Phenylalanin gehen auf die wegweisenden Untersuchungen der Gruppe Levy zurück, die als erste damit begonnen hatte, freie Aminosäuren und später größere Systeme bis hin zu Tripeptiden⁴²⁻⁴⁵ zu erforschen. In diesen Untersuchungen wurden R2PI- und laserinduzierte Fluoreszenzspektren aufgenommen und damit Informationen über die Anzahl von Konformeren und niederfrequenten Schwingungen im elektronisch angeregten Zustand S_1 erhalten. Es wurden dabei 6 Konformere für das Phenylalanin

gefunden. Diese konnten erstmalig genauer von Snoek et. al.⁴⁶ 2001 durch die Aufnahme von IR/R2PI-Spektren charakterisiert werden. Von den geschützten Derivaten Ac-Phe-OMe, Ac-Phe-NHMe und Ac-Phe-NH₂⁴⁷⁻⁵⁰ wurden für Ac-Phe-OMe und Ac-Phe-NHMe sowohl für Monomere als auch Dimere von der Gruppe Gerhards IR/R2PI-Spektren im Bereich der Amid A, II und III Schwingungen aufgenommen. Hierbei wurde für Monomer und Dimer von Ac-Phe-OMe jeweils nur ein β -Faltblattanaloges Konformer gefunden. Dieses Ergebnis konnte in der vorliegenden Arbeit (siehe Anhang A I) durch die Aufnahme von IR-R2PI-Spektren im Fingerprintbereich bis 1000 cm⁻¹ dahingehend erweitert werden, dass auch die Position der Seitenkette bestimmt werden konnte. Dabei wurde die Stärke des erweiterten IR-Lasersystems demonstriert, da man mit einem schmalbandigen, leistungsstarken Laser nun einen Zugang zu einem sehr struktursensitiven Bereich hat, der wichtige Ergebnisse zur Strukturanalyse liefert. Hier zeigte sich besonders für das Monomer eine nahezu perfekte Anpassung des Spektrums zu den hochwertigen Rechnungen.

Die Untersuchung der Mikrosolvatation von Ac-Phe-OMe mit Wasser zeigte eine Reihe von interessanten Ergebnissen (Anhang A [II]). Zum einen wurde festgestellt, dass sowohl für den mono- als auch für den dihydratisierten Cluster jeweils zwei Isomere beobachtet werden konnten, während für den nächst größeren Cluster mit drei Molekülen Wasser nur ein Isomer gefunden wurde. Zum anderen konnten starke Hinweise dafür gefunden werden, dass sich die Orientierung des Rückgrats des Ac-Phe-OMe bei der Anlagerung von bis zu zwei Wassermolekülen nicht grundsätzlich ändert, sondern in der Struktur des Monomers bleibt. Dies ist konsistent zu den Untersuchungen der Wassercluster des freien Phenylalanins^{51,52}, bei denen für den monohydratisierten Cluster zwei Konformere gefunden wurden, die sich den entsprechenden Monomerstrukturen zuordnen ließ. Das Wassermolekül war jeweils an der Säuregruppe inseriert. Im Unterschied dazu erfolgt bei Ac-Phe-OMe die Anlagerung der Wassermoleküle an das Peptidrückgrat und man kann den direkten Einfluss auf die Sekundärstruktur untersuchen. Einen weiteren interessanten Vergleich liefert das von der

Gruppe Simons untersuchte System Tryptophan/Wasser^{53,54}. Bei diesen Untersuchungen konnten im Molekularstrahl keine einzelnen Cluster verschiedener Größe isoliert werden, sondern es wurde nur eine Überlagerung von zwei dreifach hydratisierten Clustern gefunden, die zudem noch Beiträge von einfach und zweifach hydratisierten Clustern aufwies.

In den Untersuchungen dieser Arbeit konnte eine eindeutige Bevorzugung der Wasseranlagerung an der Donor- (NH) oder Acceptorseite (C=O) der Peptidbindung des Ac-Phe-OMe nicht festgestellt werden. Wobei ab dem Cluster mit zwei Wassern in jedem Isomer die Acceptorseite gebunden vorlag. Ab dem Cluster mit drei Wassern tritt eine Abweichung der Monomerstruktur auf, welche damit zu begründen ist, dass die Wassermoleküle ein Netzwerk von Wasserstoffbrücken ausbilden und so eine erste Solvathülle formen. Die Bildung dieses Netzwerks ist allerdings nur bei einer Veränderung des Rückgrats möglich, das sich leicht aus seiner gestreckten Struktur herausdreht.

5.2 Ac-Trp-OMe

Für das Monomer des Ac-Trp-OMe wurde in dieser Arbeit (Anhang A [III]) experimentell nur ein Konformer mit einer gestreckten Form gefunden. Aufgrund der Methylestergruppe kann im Gegensatz zu den von der Gruppe Zwier untersuchten Derivaten Ac-Trp-NH₂ und Ac-Trp-NHMe⁵⁵ kein γ -turn gebildet werden. Die Untersuchung des Dimers zeigte, dass kein β -Faltblattmodell mehr vorlag. Hierbei machte sich der Einfluss der polaren Seitenkette der Tryptophaneinheit bemerkbar. Anders als bei den Dimeren des Ac-Phe-OMe und Ac-Phe-NHMe findet beim Dimer des Ac-Trp-OMe die intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung über die polaren NH-Gruppen der Indolringe der Seitenketten statt. Dies konnte eindeutig durch das IR-R2PI Spektrum nachgewiesen werden, da die sehr lokale NH Streckschwingung des Indolrings um 3520 cm⁻¹ nicht mehr auftrat. Weiterhin konnte aus den Spektren gezeigt werden, dass keine symmetrische Struktur vorlag, sondern jeweils Paare von freien und

gebundenen Acetyl- und Estergruppen auftraten. Zur Bildung eines solchen Dimers, muss sich mindestens eines der beiden beteiligten Monomere in einer verdrehten Struktur befinden. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass Aminosäuren mit polaren Seitenketten einen erheblichen Einfluss auf die Struktur und das Clusterungsverhalten ausüben können.

5.3 Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe

Um den Einfluss einer zusätzlichen polaren Gruppe wie im Ac-Trp-OMe zu unterdrücken, ist bei dem nächst größeren untersuchten System, Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe (Anhang A [IV]), die OH-Gruppe in der Seitenkette der Tyrosineinheit methyliert worden. Bei diesem Modellsystem für ein Tripeptid ist es möglich, dass eine polare Seitenkette bereits im Monomer zur intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung führen kann und eventuell auch wie im Ac-Trp-OMe die Dimerisierung beeinflusst. Durch das Schützen dieser Gruppe wird eine mögliche Donorposition blockiert. Nachdem erstmalig von unserer Gruppe das IR-R2PI Spektrum eines geschützten Dipeptids, Ac-Val-Phe-OMe, im Bereich der Amid A, I und II Moden veröffentlicht wurde⁵⁶, gibt es heutzutage eine ganze Reihe IR-UV spektroskopischer Untersuchungen von freien und geschützten Peptiden bestehend aus zwei Aminosäuren⁵⁷⁻⁶⁴. Diese Arbeiten, von denen die meisten nur im Bereich der Amid A Moden durchgeführt wurden, beschäftigten sich mit den reinen Monomeren und die Sekundärstrukturmotive γ -turn⁵⁸⁻⁶⁰ und β -turn^{58,59,61,62} konnten dabei charakterisiert werden. Bei all diesen Untersuchungen wurde jedoch niemals Tyrosin als Chromophor verwendet.

Die experimentellen und theoretischen Ergebnisse in dieser Arbeit zeigten, dass für das Monomer des Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe zwei unterschiedliche Sekundärstrukturmotive zur Diskussion stehen, eine β -faltblattanalogue Struktur und ein β -turn. Die auf DFT-Niveau

berechneten IR-Spektren dieser sehr verschiedenen Strukturen ähneln sich in diesem Ausnahmefall stark bis hin zum Fingerprintbereich (bis 1000 cm^{-1})⁶⁵, so dass eine Zuordnung zu einer β -faltblattanalogen Struktur zwar wahrscheinlicher ist, ein β -turn aber nicht ausgeschlossen werden kann.

Im Falle des Dimers, das ein weitaus besseres Modellsystem für ein Faltblatt darstellt als die Dimere der geschützten Aminosäuren Ac-Phe-OMe und Ac-Phe-NHMe, konnte ein antiparalleles β -Faltblatt aufgrund der IR/R2PI Spektren im Bereich der Amid A und I Moden im Vergleich mit ab initio und DFT Rechnungen zugeordnet werden (Anhang A V). Die Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, dass eine eindeutige Interpretation nur bei Kenntnis sowohl des Bereichs der Amid A und I Moden wesentlich vereinfacht wird und so wichtige charakteristische Merkmale zur Strukturzuordnung zugänglich sind. Dies ist das bis dahin größte im Molekularstrahl mittels umfangreicher IR-R2PI Spektroskopie untersuchte Modellsystem für ein β -Faltblatt, das durch spontane Dimerisierung aus zwei Einzelsträngen besteht. Gasphasenuntersuchungen von GramicidinS im Bereich der Amid A Moden ergaben ebenfalls Hinweise auf das Vorliegen eines β -Faltblattes⁶⁶.

5.4 Pyrazolderivate-Dipeptid/Tripeptid

Die Untersuchungen der Cluster der Pyrazolderivate mit Ac-Val-Phe-OMe und Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe sind eine konsequente Fortsetzung der bisherigen Arbeiten an den kleineren Systemen Ac-Phe-OMe/Pyrazol und Ac-Phe-OMe/5-Amino-3-methylpyrazol⁶⁷. Diese Untersuchungen sind dahingehend von großem Interesse, da sie in den Bereich der molekularen Erkennung fallen. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, können Faltungen von Proteinen auch zu pathogenen Erscheinungsformen führen. Bei den sogenannten Prionenkrankheiten (BSE, Creutzfeld-Jakob) wird eine katalytische Umformung von α -helicalen zu β -Faltblattstrukturen, die sich immer weiter vergrößern und schließlich als

Aggregate ausfallen, als Ursache beschrieben. Im Falle der Alzheimerkrankheit konnte eine von Beginn an vorliegende β -Faltblattstruktur mit einer speziellen Sequenz (KLVFF = Lysin-Leucin-Valin-Phenylalanin-Phenylalanin) ausgemacht werden, die durch Wasserstoffbrückenbindungen andere Proteine bindet. Es kommt so zu einer starken Aggregation und Fibrillenbildung. Eine Strategie diesen Vorgang zu stoppen, könnte das Blockieren von wirksamen Zentren des Proteins mit geeigneten Templaten sein, so dass eine weitere Ausdehnung über Wasserstoffbrückenbindungen verhindert wird. Einige dieser Template, Derivate des Pyrazols, wurden in der Arbeitsgruppe Schrader synthetisiert und hinsichtlich ihres Clusterungsverhaltens mit Peptiden in Chloroform mittels $^1\text{H-NMR}$ untersucht^{68,69}.

In den vorigen Arbeiten zu dem kleineren System mit der geschützten Aminosäure Ac-Phe-OMe im Molekularstrahl konnten Cluster mit der maximalen Anzahl von zwei intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen identifiziert werden.

In der vorliegenden Arbeit (Anhang A [VI]) sollte durch die Verwendung von Di- und Tripeptiden eine maximale Anzahl von drei intermolekularen Wasserstoffbrücken möglich sein. Beim zuerst untersuchten System wird der Cluster von 5-Amino-3-methylpyrazol mit Ac-Val-Phe-OMe über drei intermolekulare Wasserstoffbrücken gebildet. Die Stärke der Wasserstoffbrücken ist sehr unterschiedlich. Während die mittlere Bindung sehr stark ist, sind die beiden äußeren Bindungen wesentlich schwächer. Die Struktur des isolierten Dipeptids wird auch im Cluster wieder gefunden. Im Gegensatz dazu verändert sich die Peptidstruktur im Cluster mit Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe. Die Bildung dieses Heterodimers erfolgt nur über zwei starke intermolekulare Wasserstoffbrücken. Zusätzlich faltet sich das Peptid zurück und formt eine weitere intramolekulare Wasserstoffbrücke. Der Cluster von 5-methyl-3-trifluoracetylpyrazol mit Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe wird über drei sehr starke intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen gebildet. In diesem Pyrazolderivat ist die Amidbindung durch die Einführung einer Trifluoracetylgruppe sehr stark polarisiert und damit ein wesentlich stärkerer Donor als die Aminogruppe in 5-Amino-3-methylpyrazol. Dennoch wurde auch hier

eine Rückfaltung des Peptidrückgrats festgestellt, die zu einer weiteren intramolekularen Wasserstoffbrücke führt. Im Vergleich zum Cluster des Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe mit 5-Amino-3-methylpyrazol ist diese Wasserstoffbrücke allerdings schwächer und um 20 cm^{-1} geringer rot verschoben. Mit den hoch selektiven (massen- und isomerenselektiven) Methoden konnte an isolierten Modellen systematisch gezeigt werden, dass 5-Amino-3-methylpyrazol eine geringe Effizienz aufweist und 5-Amino-3-methylpyrazol sehr effizient, aber wenig selektiv ist. Die Untersuchungen zum molekularen Verständnis der Aggregation leisten einen Beitrag zur Entwicklung optimaler Template und werden auf andere und größere Systeme ausgedehnt.

5.5 Ac-Leu-Val-Tyr(Me)-NHMe

Das größte untersuchte Einzelsystem ist das Tetrapeptidmodell Ac-Leu-Val-Tyr(Me)-NHMe (Anhang A [VII]). Die Anzahl der bisher untersuchten Peptide mit drei Aminosäureeinheiten anderer Arbeitsgruppen ist wesentlich geringer als im Falle der Peptide bestehend aus zwei Aminosäureeinheiten^{57,70-73}. Insbesondere wurden keine Peptide aus drei verschiedenen Aminosäureeinheiten untersucht. Bei diesen Untersuchungen konnten auch erstmals helicale Struktur motive zugeordnet werden^{70,71}.

In der vorliegenden Arbeit konnte festgestellt werden, dass die Verlängerung des kürzeren Systems Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe um die Einheit Leucin zu einer starken Faltung des Moleküls führt. Zwei Isomere wurden gefunden, die zwei bzw. drei intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen enthalten. Die entsprechenden IR/R2PI-Spektren unterscheiden sich hierbei deutlich im Bereich der Amid A Moden unterhalb 3400 cm^{-1} . Dabei konnte erstmals auch ein Isomer mit drei aufeinanderfolgenden γ -turns beobachtet werden, was dem sogenannten 2₇-ribbon, einer speziellen Helix-Struktur, entspricht. Dem

zweiten Isomer konnte eine kombinierte γ -turn/ β -turn Struktur zugeordnet werden. In diesem Zusammenhang wird es sehr interessant sein zu erfahren, ob das Dimer dieser Verbindung wieder eine Faltblattstruktur bilden kann oder ob es als ungeordnete Struktur, dem sogenannten random coil, vorliegt. Zusätzlich stellt sich die Frage inwiefern sich bei einer erneuten Kettenverlängerung um eine weitere Aminosäure strukturelle Änderungen ergeben und ob sich wiederum mehrere Isomere bilden.

Literaturverzeichnis

- [1] P. J. Fassman, G. D. Fasman , *Annual Review Biochemistry*, 47, 251 (1978)
- [2] D.C. Bolton, M.P. McKinley, S.B. Prusiner, *Science* **218**, 1309 (1982)
- [3] L. O. Tjernberg, J. Naslund, F. Lindqvist, J. Johansson, A. R. Karlstrom, J. Thyberg, L. Terenius, C. Nordstedt, *J. Biol. Chem.* **271**, 8545 (1996)
- [4] *Biochemical Nomenclature and Related Documents*, 2nd edition, Portland Press, 1992, pages 39-69; Copyright IUBMB and IUPAC
- [5] R.S. Cahn, C.K. Ingold, V. Prelog, *Angew. Chem.* **78**, 413 (1966)
- [6] V. Prelog & G. Helmchen , *Angew. Chem.* **94**, 614 (1982)
- [7] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **85**(14); 2149 (1963)
- [8] Ramachandran G. N. Ramachandran, V. Sasisekharan, C. Ramakrishnan, *Biochim. Biophys. Acta* **112**, 168 (1966)
- [9] A. Perczel, J. G. Àngyàn, M. Kajtár, W. Viviani, J. L. Rivail, J. F. Marcoccia, I. G. Csizmadia, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 6256 (1991)
- [10] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **37** , 282 (1951)
- [11] Kendrew JC, Bodo G, Dintzis HM, Parrish RG, Wyckoff H, Phillips DC, *Nature* **181**(4610) 662 (1958)
- [12] A. Perczel, Z. Gáspári, I. G. Csizmadia, *J. Com Chem.* **26**, 1155, (2005)
- [13] A.Kantrowitz, J.Grey, *Rev.Sci.Instrum.*, **22**, 328 (1951)
- [14] L. Zhu, P. Johnson, *J. Chem. Phys.*, **94**, 5769 (1991)
- [15] W. C Wiley, I.H. McLaren; *Rev. Sci Instrum.*, **26**, 1150 (1995)
- [16] A. Gerlach, Dissertation, Düsseldorf 2004
- [17] P.M. Johnson, *J. Chem. Phys.* **64** (10), 4143 (1976)
- [18] V.S. Antonov, I.N. Knyazev, V.S. Letokhov, V.M. Matiuk, V.G. Movshev and V.K. Potapov, *Opt. Let.*, **3**, 37 (1978)

- [19] U. Boesl, H.J Neusser and E.W. Schlag, *Z. Naturforsch. Teil A*, **33**, 1546 (1978)
- [20] R. H. Page, Y. R. Shen, Y. T. Lee, *J. Chem. Phys.* **88**, 4621 (1988)
- [21] C. Riehn, C. Lahmann, B. Wassermann, B. Brutschy, *Chem. Phys. Lett.* **197**, 3197 (1992)
- [22] S. Tanabe, T. Ebata, M. Fujii, N. Mikami, *Chem. Phys. Lett.* **215**, 347(1993)
- [23] T. S. Zwier, *Anal. Chem.* **47**, 205 (1996) and references therein
- [24] M. Gerhards, C. Unterberg, K. Kleinermanns, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2**, 5538 (2000)
- [25] M. Gerhards, *Opt Commun* **241**,493-497 (2004)
- [26] J. R. Maple, M. - J. Hwang, T. P. Stockfisch, U. Dinur, M. Waldman, C. S. Ewig, und T. Hagler, *J. Comput. Chem.* **15**, 162 (1994)
- [27] CFF Consistent Force Field and DISCOVER Molecular Simulation Program, Version 2000. Accelrys Inc., San Diego 2000
- [28] M. J. Hwang, T. P. Stockfisch, A. T. Hagler, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 2515 (1994)
- [29] J. R. Maple, M.-J. Hwang, K. J. Jalkanen, T. P. Stockfisch, A. T. Hagler, *J. Comput. Chem.* **19**, 430 (1998)
- [30] C.S. Ewig, R. Berry, U. Dinur, J.R. Hill, M.J. Hwang, H. Li, C. Liang, J. Maple, Z. Peng, T.P. Stockfisch, T.S. Thacher, L. Yan, X. Ni, A.T. Hagler, *J. Comp. Chem.* **22**, 1782 (2001)
- [31] D.R. Hartree, *Proc. Cambridge Phil. Soc.* **24**, 89 (1928)
- [32] V. Fock, *Z Phys.* **61**, 126 (1930)
- [33] J.C. Slater, *Phys. Rev.* **35**, 210 (1930)
- [34] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zarkrzewski, J. A. Montgomery Jr., R.E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J.M. Millam, A. D. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Peterrson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D.

- Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Ciosloski, J. V. Ortiz, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzales, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, C. Gonzales, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, Gaussian 98, revision A.6, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, 1998
- [35] Gaussian03 Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- [36] J. S. Binkley, J. A. Pople, and W. J. Hehre, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 939 (1980)
- [37] R. Ditchfield, W. J. Hehre, and J. A. Pople, *J. Chem. Phys.* **54**, 724 (1971)
- [38] R. Ahlrichs, M. Bär, M. Bär, M. Häser, H. Horn, C. Kölmel, *Chem. Phys. Lett.* **162**, 165 (1989)
- [39] A.D. Becke, *Phys. Rev. A* **38**, 3098 (1988)

- [40] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B.* **37**, 785 (1988)
- [41] A. D. McLean and G. S. Chandler, *J. Chem. Phys.* **72**, 5639 (1980)
- [42] D. E. Woon and T. H. Dunning Jr., *J. Chem. Phys.* **98**, 1358 (1993)
- [43] T. R. Rizzo, Y. D. Park, L. A. Peteanu, D. H. Levy, *J. Chem. Phys.* **84**, 2534 (1986)
- [44] S. J. Martinez III, J. C. Alfano, D. H. Levy, *J. Mol. Spectrosc.* **156**, 421 (1992)
- [45] R. Cable, M. J. Tubergen, D. H. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 7349 (1988)
- [46] J. R. Cable, M. J. Tubergen, D. H. Levy, *Faraday Discuss Chem Soc* **86**,143 (1988)
- [47] L.C. Snoek, R.T. Kroemer, M. R. Hockridge, J.P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**, 1819 (2001)
- [48] M. Gerhards, C. Unterberg, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 1760 (2002)
- [49] M. Gerhards, C. Unterberg, A. Gerlach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 5563 (2002)
- [50] M. Gerhards, C. Unterberg, A. Gerlach, A. Jansen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 2682 (2004)
- [51] W. Chin, M. Mons, J.-P. Dognon, R. Mirasol, G. Chass, I. Dimicoli, F. Piuze, P. Butz, B. Tardivel, I. Compagnon, G. von Helden, G. Meijer *J. Phys. Chem A* **109**, 5281 (2005)
- [52] K.T. Lee, J. Sung, K.J. Lee, S.K. Kim, Y.D. Park, *J. Chem. Phys.* **116**(19), 8251 (2002)
- [53] T. Ebata, T. Hashimoto, T. Ito, Y. Inokuchi, F. Altunsu, B. Brutschy, P. Tarakeshwar, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**, 4783 (2006)
- [54] L.C. Snoek, R.T. Kroemer, J.P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 2130 (2002)
- [55] J.M. Bakker, L.M. Aleese, G. Meijer, G.v. Helden, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 4546 (2004)

- [56] B. C. Dian, A. Longarte, S. Mercier, D. A. Evans, D. J. Wales, T. S. Zwier, *J. Chem. Phys.* **117**, 10688 (2002)
- [57] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards, *J. Chem. Phys.* **118** (18), 8296 (2003)
- [58] I. Hünig, K. Kleinermanns, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 2650 (2004)
- [59] W. Chin, M. Mons, J. P. Dognon, C. Canuel, F. Piuzzi, I. Dimicoli, M. Mons, I. Compagnon, G. von Helden, G. Meijer, *J. Chem. Phys.* , 2005, 122, 054317
- [60] W. Chin, F. Piuzzi, J. P. Dognon, I. Dimicoli and M. Mons, *J. Chem. Phys.*, 2005, 123, 084301
- [61] I. Compagnon, J. Oomens, G. Meijer, G. von Helden, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3592 (2006)
- [62] W. Chin, M. Mons, J. P. Dognon, F. Piuzzi, B. Tardivel, I. Dimicoli, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 2700 (2004)
- [63] W. Chin, J. P. Dognon, F. Piuzzi, B. Tardivel, I. Dimicoli, M. Mons, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 707 (2005)
- [64] A. G. Abo-Riziq, J. E. Bushnell, B. Crews, M. P. Callahan, L. Grace, M. S. de Vries, *Int. J. Quant. Chem.* **105**, 437 (2005)
- [65] A. G. Abo-Riziq, B. Crews, J. E. Bushnell, M. P. Callahan, M. S. de Vries, *Mol Phys* **103**, 1491 (2005)
- [66] M. Gerhards: "Spectroscopy of neutral peptides in the gas phase – structure, reactivity, microsolvation, molecular recognition" p. 3-61 in "Spectrometry Applied to Biomolecules" edited by J. Laskin and C. Lifshitz , Wiley (2006)

- [67] A. G. Abo-Riziq, B. Crews, M. P. Callahan, L. Grace, M. S. de Vries, *Angew. Chem. Int. Ed.* **45**, 5166 (2006)
- [68] C. Unterberg, A. Gerlach, T. Schrader, M. Gerhards; *Eur. Phys. J. D* **20**, 543 (2002)
- [69] Schrader T. Schrader, C. Kirsten, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **17**, 2089 (1996)
- [70] Schrader C. Kirsten, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 12061 (1997)
- [71] W. Chin, F. PiuZZi, J.-P. Dognon, I. Dimicoli, B. Tardivel, M. Mons, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 11900 (2005)
- [72] W. Chin, I. Compagnon, J.-P. Dognon, C. Canuel, F. PiuZZi, I. Dimicoli, G. von Helden, G. Meijer, M. Mons, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 1388 (2005)
- [73] D. Řeha, H. Valdés, J. Vondrášek, P. Hobza, A. Abo-Riziq, B. Crews, M. S. de Vries, *Chem. Eur. J.* **11**, 6803 (2005)
- [74] J. M. Bakker, C. Plützer, I. Hünig, T. Häber, I. Compagnon, G. von Helden, G. Meijer, K. Kleinermanns, *Chem. Phys. Chem.* **6**, 120 (2005)

Zugehörige Publikationen dieser Arbeit:

- [I] Fricke H, Gerlach A, Gerhards M, Structure of a beta-sheet model system in the gas phase: Analysis of the fingerprint region up to 10 μm , *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**(14), 1660-1662 (2006)
<http://www.rsc.org/Publishing/Journals/CP/article.asp?doi=b600154h>
- [II] Fricke H, Gerlach A, Unterberg C, Gerhards M, Investigations on the water cluster of the protected amino acid Ac-Phe-OMe by applying IR/UV double resonance spectroscopy: microsolvation of the backbone, In Vorbereitung zur Veröffentlichung in *Chem. Phys. Chem.*
- [III] Gerlach A, Unterberg C, Fricke H, Gerhards M, Structures of Ac-Trp-OMe and its dimer (Ac-Trp-OMe)₂ in the gas phase: influence of a polar group in the side-chain, *Mol. Phys.* **103** (11-12), 1521-1529 (2005)
<http://www.informaworld.com/smpp/content~content=a714031713~db=all~order=page>
- [IV] Fricke H, Gerlach A, Unterberg C, Rzepecki P, Schrader T, Gerhards M, Structure of the tripeptide model Ac-Val-Tyr(Me)-NHMe and its cluster with water investigated by IR/UV double resonance spectroscopy, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**(19), 4636-4641 (2004)
<http://www.rsc.org/Publishing/Journals/CP/article.asp?doi=b407174c>
- [V] Fricke H, Funk A, Schrader T, Gerhards M, Investigation of secondary structure elements by IR/UV double resonance spectroscopy: Analysis of an isolated β -sheet model system, *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 4692-4698 (2008)
<http://pubs.acs.org/cgi-bin/abstract.cgi/jacsat/2008/130/i14/abs/ja076031c.html>
- [VI] Fricke H, Gerlach A, Unterberg C, Wehner M, Schrader T, Gerhards M, Interactions of small protected peptides with aminopyrazole derivatives: The efficiency of capping a β -sheet model in the gas phase, Eingereicht zur Veröffentlichung an *Angew. Chem. Int. Ed*

- [VII] Fricke H, Schäfer G, Schrader T, Gerhards M, Secondary structure binding motifs of the jet cooled tetrapeptide model Ac-Leu-Val-Tyr(Me)-NHMe, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9**(32), 4592-4597 (2007)

<http://www.rsc.org/Publishing/Journals/CP/article.asp?doi=b706519a>