Ferocen kao kirooptički senzor za određivenje kiralnosti aminokiselina i pepida

Šutalo, Petar

Doctoral thesis / Doktorski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:585726

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-12**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Petar Šutalo

FEROCEN KAO KIROOPTIČKI SENZOR ZA ODREĐIVANJE KIRALNOSTI AMINOKISELINA I PEPTIDA

DOKTORSKI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivan Kodrin

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Petar Šutalo

FERROCENE AS A CHIROPTICAL SENSOR FOR DETERMINING THE CHIRALITY OF AMINO ACIDS AND PEPTIDES

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Assoc. Prof. Ivan Kodrin

Zagreb, 2023

Zahvale

Zahvaljujem se mentoru izv. prof. dr. sc. Ivanu Kodrinu na pruženom povjerenju za izradu doktorske disertacije, nesebičnom prenošenju znanja, diskusijama, odnosno na svom trudu i vremenu uloženom u mentorstvo tijekom izrade ove disertacije.

Sadržaj

SAŽETAK ..... **XI**
ABSTRACT ..... **XIII**
1. UVOD **1**
2. LITERATURNI PREGLED **3**
2.1. Aminokiseline i proteini **3**
2.2. Svojstva peptidne veze i konformacija peptida **4**
2.3. Sekundarne strukture proteina **6**
2.3.1. α-uzvojnica *6*
2.3.2. β-nabrani list ili β-nabrana ploča *7*
2.3.3. Okreti *8*
2.4. Mimetici peptida **10**
2.4.1. Općenito o mimeticima *10*
2.4.2. Mimetik α-uzvojnice i heličnost *13*
2.5. Spektroskopija cirkularnog dikroizma **14**
2.6. CD senzori za određivanje helične kiralnosti peptida **16**
2.7. Ferocen **18**
2.7.1. Otkriće i struktura *18*
2.7.2. Senzorska svojstva *20*
2.7.3. Kirooptička svojstva *22*
2.7.4. Ferocen kao kalup za mimetike *26*
2.8. Konformacijska analiza **27**
2.8.1. Monte Carlo i stohastičke metode *28*
2.8.2. Molekularna mehanika *28*
2.9. Modeliranje ferocena molekularnom mehanikom **30**
2.9.1. Model krutog tijela *30*
2.9.2. Model elektrostatskih i van der Waalsovih interakcija *30*
2.9.3. Model σ-veze *31*
2.9.4. Model prividnog atoma *31*
2.10. Teorija funkcionala gustoće (DFT) **33**
2.11. Vremenski ovisna teorija funkcionala gustoće (TDDFT) **34**

2.12. Modeliranje otapala kontinuumom 36
2.13. Teorija QTAIM 39
2.13.1. Osnove teorije 39
2.13.2. Kriteriji za opis vodikove veze 43
3. EKSPERIMENTALNI DIO 45
3.1. Izbor modelnih spojeva 45
3.1.1. Aminoferocenski tripeptidi Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc 45
3.1.2. Aminoferocenski peptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline 46
3.1.3. Pentapeptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline i L-alanina izvedeni iz ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline 48
3.1.4. Aminoferocenski peptidi 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline 50
3.2. Metode korištene u istraživanju 50
3.2.1. Modeliranje ferocena i pretraga plohe konformacijske potencijalne energije 50
3.2.2. Optimizacija geometrija kvantno-mehaničkim metodama 53
3.2.3. Analiza elektronske gustoće teorijom QTAIM 53
3.2.4. Simulacija CD spektara 53
3.2.5. Sažetak metodologije 54
3.2.6. Modelni spojevi N-ferocenilacetamid i N-metilferocenamid 56
3.2.7. Računalni resursi 56
3.2.8. Eksperimentalno potvrđivanje rezultata 56
4. REZULTATI I RASPRAVA 57
4.1. Kirooptička svojstva jednostavnih monosupstituiranih ferocena 57
4.2. Aminoferocenski tripeptidi Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc 58
4.2.1. Konformacijska analiza tripeptida Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc 58
4.2.2. Usporedba s eksperimentalnim rezultatima 64
4.2.3. Izbor optimalne metode DFT 67
4.2.4. Simulacija CD spektara 70
4.2.5. Usporedba s eksperimentalnim CD spektrom čvrstog stanja 82
4.3. Aminoferocenski peptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline 84
4.3.1. Konformacijska analiza tetrapeptida Boc−L-Ala−(Aib)$_3$−NHFc 88
4.3.2. Simulacija CD spektra tetrapeptida Boc−L-Ala−(Aib)$_3$−NHFc 89
4.3.3. Konformacijska analiza peptida Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc i Boc−(Aib)$_n$−NHFc, n = 1 − 2 92
4.3.4. Simulacija CD spektara peptida Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc, n = 1 − 2 97
4.3.5. Usporedba s eksperimentalnim rezultatima 98

4.4. Pentapeptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline i L-alanina izvedeni iz ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline 100
4.4.1. Konformacijska analiza 102
4.4.2. Simulacija CD spektara 106
4.4.3. Simulacija CD spektra N-metilferocenamida 109
4.4.4. Proučavanje razlika elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja 113
4.4.5. Usporedba s literaturnim podacima 120
4.5. Aminoferocenski peptidi 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline 122
4.5.1. Konformacijska analiza 122
4.5.2. Simulacija CD spektara 125
4.5.3. Usporedba s eksperimentalnim podacima 127
5. ZAKLJUČAK 129
6. POPIS KRATICÂ 132
7. LITERATURNI IZVORI 134
8. PRILOZI XV
9. ŽIVOTOPIS LIV

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

FEROCEN KAO KIROOPTIČKI SENZOR ZA ODREĐIVANJE KIRALNOSTI AMINOKISELINA I PEPTIDA

Petar Šutalo
Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Kemijski odsjek,
Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U radu je provedena konformacijska analiza i karakterizacija obrazaca vodikovih veza na odabranim skupovima monosupstituiranih ferocenskih peptidomimetika hijerarhijskim pristupom odnosno kombinacijom molekulsko- i kvantno-mehaničkih metoda. Računalno dobiveni rezultati uspoređeni su s eksperimentalnim podacima. Računalnom kemijom utvrđeno je da središnja kiralnost aminokiseline i/ili helična kiralnost kratkog peptidnog lanca izravno ili preko kratke akiralne poveznice vezanih na ferocensku skupinu utječu na predznak apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora (oko 470 nm) u spektru cirkularnog dikroizma. Predznak i veličina Cottonovog efekta u korelaciji su s predznakom i veličinom diedarskog kuta χ kojim je opisana rotacija amidne skupine izravno vezane na ferocenski ciklopentadienilni prsten. Uvođenje akiralnih aminokiselina, poput 2-amino-2-metilpropanske kiseline (Aib) i 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline (Ac6c), stvaranjem β-okreta i 3_{10} uzvojnica vodi k većoj zastupljenosti jednog od konformera u Boltzmannovoj raspodjeli pri 298 K. Navedeno bi se moglo iskoristiti u dizajnu nove skupine selektivnih kirooptičkih senzora temeljenih na ferocenskom kromoforu za određivanje središnje kiralnosti aminokiselina i helične kiralnosti kratkih peptidnih lanaca.

(138 stranica, 90 slika, 10 tablica, 95 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: cirkularni dikroizam/ ferocenski peptidi/ kiralnost/ konformacijska analiza/ teorija funkcionala gustoće (DFT)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ivan Kodrin

Rad prihvaćen: 4. listopada 2023.

Ocjenitelji:
1. prof. dr. sc. Branimir Bertoša
2. prof. dr. sc. Lidija Barišić
3. izv. prof. dr. sc. Gordan Horvat

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

FERROCENE AS A CHIROPTICAL SENSOR FOR DETERMINING THE CHIRALITY OF AMINO ACIDS AND PEPTIDES

Petar Šutalo
University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Chemistry,
Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Croatia

In this thesis conformational analysis and characterization of hydrogen bond patterns were performed using a hierarchical approach combining molecular and quantum mechanics methods on selected groups of monosubstituted ferrocene peptidomimetics. The computational results were compared with experimental data. Computational chemistry confirmed the central chirality of the amino acid and/or the helical chirality of the short peptide chain, directly or via a short achiral linker attached to the ferrocene group, affect the sign of the absorption maximum of the ferrocene chromophore (at 470 nm) in the circular dichroism spectrum. The sign and magnitude of the Cotton effect correlates with the sign and magnitude of the dihedral angle χ describing the rotation of the amide group directly attached to the cyclopentadienyl ring of ferrocene. The introduction of achiral amino acids, such as 2-amino-2-methylpropanoic acid and 1-aminocyclohexanecarboxylic acid, through the formation of β-turns and 3_{10} helices, results in a greater prevalence of a single conformer in the Boltzmann distribution at 298 K. This information could be used in the development of a new group of selective chiroptical sensors based on ferrocene chromophores to determine the central chirality of amino acids and the helical chirality of short peptide chains.

(138 pages, 90 figures, 10 tables, 95 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: chirality/ circular dichroism (CD)/ conformatonal analysis/ density functional theory (DFT)/ ferrocene peptides

Supervisor: Dr. Ivan Kodrin, Associate Professor

Thesis accepted: October 4th, 2023

Reviewers: Dr. Branimir Bertoša, Professor
Dr. Lidija Barišić, Professor
Dr. Gordan Horvat, Associate Professor

1. UVOD

Prirodni proteini građeni iz L-aminokiselina prema svojoj biološkoj funkciji najsvestranije su biološke molekule: katalizatori su, prenose i pohranjuju molekule, osiguravaju mehaničku potporu i imunosnu zaštitu, provode gibanje, prenose živčane impulse te kontroliraju rast i diferencijaciju.[1] Dijelovi proteina najčešće su organizirani u pravilne strukture poput uzvojnica, okreta i omči koje su stabilizirane vodikovim vezama. Ovisno o tome jesu li građeni od aminokiselina relativne L- ili D-konfiguracije, njihove sekundarne strukture mogu biti zavijene u smjeru kretanja kazaljki na satu (desnozakrećući) ili u obrnutom smjeru od smjera kretanja kazaljki na satu (lijevozakrećući).[1] Helična kiralnost ima važnu ulogu u biološkoj funkciji proteina, stoga je njezino određivanje od neophodne važnosti.[2]

Cirkularni dikroizam (CD), cirkularni dvolom i optička rotacijska disperzija svojstva su molekula koja ovise o njihovoj kiralnosti i nazivaju se kirooptička svojstva. Spektroskopske metode temeljene na kirooptičkim svojstvima moćan su alat za razlučivanje enantiomernih molekula. Spektroskopija elektronskog cirkularnog dikroizma (ECD), ili skraćeno cirkularni dikroizam (CD), jedna je od temeljnih metoda za određivanje kiralnosti molekula. Temelji se na činjenici da kiralni spoj različito apsorbira lijevo i desno cirkularno polariziranu svjetlost, pri čemu u CD spektru nastaju zrcalno simetrični maksimumi (Cottonovi efekti) kromofora dvaju enantiomera.

Određivanje apsolutne konfiguracije kiralnog spoja usporedbom izmjerenog i metodama računalne kemije izračunatog CD spektra danas je osobito korišten pristup, pogotovo kada se ne mogu upotrijebiti druge metode, npr. difrakcija rendgenskog zračenja na jediničnom kristalu.[3,4] Ako molekula ne posjeduje kiralni kromofor ili se njegova apsorpcijska vrpca preklapa s apsorpcijskom vrpcom drugog kromofora u molekuli ili otapala, kiralnost promatrane molekule može se odrediti uvođenjem (dodatnog) kiralnog kromofora. Apsorpcijska vrpca novouvedenog kromofora mora biti izdvojena kako bi se lakše uočila, a budući da je u izravnoj korelaciji s kiralnosti izučavanog spoja, takve molekule postaju potencijalni kirooptički senzori.

Disupstituirani 1,n'-ferocenski peptidomimetici u kojima su peptidni lanci vezani na suprotne ferocenske ciklopentadienilne prstenove pokazuju izraziti Cottonov efekt u području ferocenskog kromofora oko 470 nm. Iako je sam ferocen akiralan spoj, vodikove veze između peptidnih lanaca u heteroanularno supstituiranom ferocenu u otopinama aprotičnih otapala (i čvrstom stanju) mogu „zaključati“ ciklopentadienilne ligande u točno određenoj konformaciji i onemogućiti njihovu rotaciju oko središnje osi, pri čemu heteroanularno supstituirani ferocen postaje aktivan u CD spektroskopiji. Dodatna prednost ferocenskog kromofora u CD spektroskopiji jest razdvojenost valne duljine njegovog maksimalnog Cottonovog efekta (oko 470 nm) od valnih duljina drugih peptidnih kromofora. Uz ostala svojstva poput dobre stabilnosti u biološkim sustavima, niske toksičnosti, relativno lake propusnosti kroz staničnu membranu, pokazao se prikladnim u sintetskim reakcijama i elektrokemijskim analizama što ga je učinilo jednim od često istraživanih sustava u organometalnoj i bioorganometalnoj kemiji.[5]

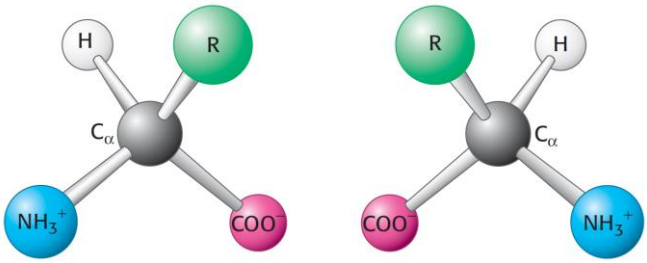
Donedavno se smatralo da je vrpca disupstituiranog ferocena u području valnih duljina apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora u CD spektru moguća posljedica isključivo zaključavanja ciklopentadienilnih prstenova u geometriju *P* ili *M*-helične kiralnosti preko vodikovih veza između (peptidnih) supstituenata. Novija istraživanja na aminoferocenu supstituiranom homokiralnim i heterokiralnim dipeptidima otkrila su da i monosupstituirani feroceni u CD spektru mogu imati vrpcu relativno velikog intenziteta u apsorpcijskom području ferocenskog kromofora[6] te da je predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora određen kiralnošću aminokiseline na *N*-kraju.[7]

U sklopu doktorskog rada postavljena je hipoteza da središnja kiralnost aminokiseline i/ili helična kiralnost kratkog peptidnog lanca vezanog na ferocensku skupinu utječe na predznak apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora u CD spektru. Cilj rada bio je metodama računalne kemije istražiti ovisnost apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora u CD spektru o središnjoj kiralnosti aminokiseline i/ili heličnoj kiralnosti peptidnog lanca izravno ili preko kratke akiralne poveznice spojenog na jedan ciklopentadienilni prsten ferocenske skupine te predložiti smjernice za pripravu novih selektivnih kirooptičkih senzora za određivanje kiralnosti aminokiselina i peptida temeljenih na monosupstituiranim ferocenskim derivatima.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Aminokiseline i proteini

Prirodni organski spojevi koji sadrže barem jednu karboksilnu i amino-skupinu zovu se aminokiseline. α-aminokiseline su one čija se karboksilna i amino-skupina nalaze na istom C-atomu. Uz karboksilnu i amino-skupinu, na njihov je α-ugljikov atom vezan i vodikov atom te bočni ogranak. Povezivanjem amino-skupine jedne aminokiseline i karboksilne skupine druge aminokiseline (pri čemu se ne radi o funkcijskim skupinama iz bočnih ogranaka) u amidnu (peptidnu) vezu nastaju polimerni spojevi pod imenom proteini. Prirodne proteine grade samo aminokiseline relativne konfiguracije L i glicina. Slika 1 prikazuje opće strukture α-aminokiseline relativne konfiguracije L i α-aminokiseline relativne konfiguracije D.

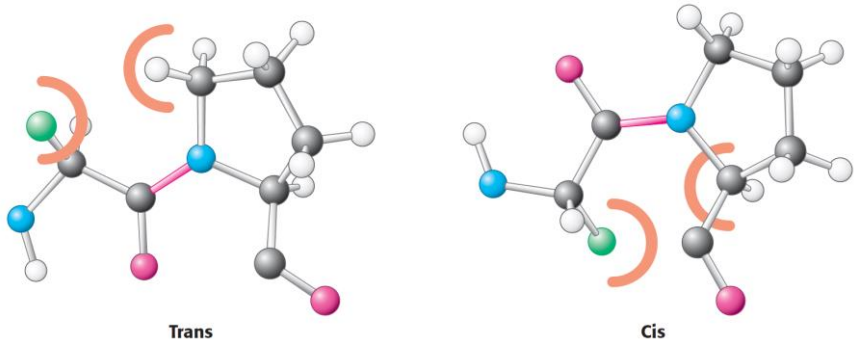


Slika 1. Prikaz opće strukture α-aminokiseline relativne konfiguracije L (lijevo) i α-aminokiseline relativne konfiguracije D (desno).[1]

Uz nekoliko iznimaka, dvadeset α-aminokiselina gradi sve bakterijske,[8] arhejske i eukariotske proteine, stoga će se u daljnjem tekstu, ako nije drukčije rečeno, smatrati da se radi o α-aminokiselinama.[1] U sastav proteina ulaze još neke dodatne aminokiseline (hidroksiprolin, γ-karboksiglutamat, O-fosfoserin, 5-hidroksilizin), ali one kao takve nisu ugrađene u proteine, nego su nastale posttranslacijskim doradama ostalih aminokiselina, stoga ih ne ubrajamo u standardne (proteinogene) aminokiseline.[9] Prema svojoj biološkoj funkciji proteini su najsvestranije biološke molekule: katalizatori su, prenose i pohranjuju molekule, osiguravaju mehaničku potporu, osiguravaju imunosnu zaštitu, provode gibanje, prenose živčane impulse te kontroliraju rast i diferencijaciju. Većina prirodnih proteina sadrži od 50 do 2000 aminokiselinskih ostataka. Proteini izgrađeni od relativno malog broja aminokiselinskih ostataka zovu se peptidi.[1]

2.2. Svojstva peptidne veze i konformacija peptida

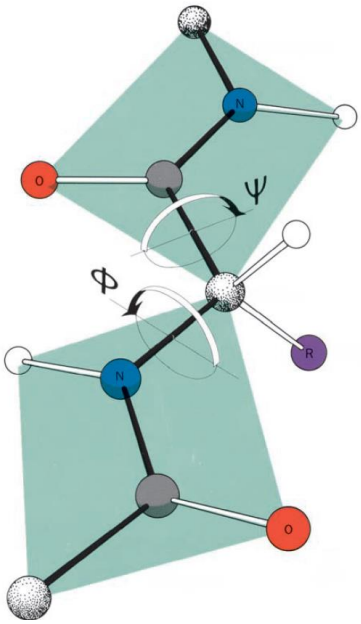
Pri biološkim uvjetima ravnoteža reakcije nastajanja dipeptida iz (dviju) aminokiselina uz izdvajanje vode jako je „pomaknuta“ prema reaktantima, odnosno reakcija „nastajanja amidne“ veze nije spontana reakcija. Iz istog razloga nastajanje peptidne veze u biološkim sustavima spregnuto je s drugim, jako egzergonim, reakcijama da bi se nastajanje peptidne veze učinilo spontanim tijekom biosinteze proteina. S druge strane, hidroliza peptidne veze toliko je spora (vrijeme polureakcije od 1000 godina) da peptidnu vezu u vodenim otopinama čini kinetički stabilnom.[1] Udio karaktera dvostruke veze u peptidnoj vezi iznosi 40 %, što atome peptidne skupine, i na nju vezane ugljikove atome, drži u istoj ravnini.[10] Nemogućnost rotacije oko veze ugljik-dušik u planarnoj peptidnoj skupini stvara mogućnost dviju konfiguracija; peptidna veza može imati α-C atome s iste ili različite strane peptidne veze. *Z*-Konfiguracija (ili *trans*-konfiguracija) jest ona s α-C atomima na različitim stranama dok je *E*-konfiguracija (ili *cis*-konfiguracija) s α-C atomima s iste strane peptidne veze. Slika 2 prikazuje *trans*- i *cis*-konfiguraciju peptidne veze. Uz par iznimaka, peptidna skupina u principu je *trans*-konfiguracije.



Slika 2. Peptidna veza *trans* (lijevo) i *cis* (desno) konfiguracije.[1]

Veza između α-C atoma i NH-skupine, kao i veza između α-C atoma i CO-skupine u peptidnoj skupini, jednostruka je veza pa oko njih postoji rotacija. Ove dvije slobodne rotacije jedan su od razloga nabiranja proteina na mnogo različitih načina.[1] Ako se promatra konformacija peptidnog lanca bez utjecaja bočnih ogranaka aminokiselina, tzv. okosnice peptidnog lanca, zbog planarnosti amidne skupine, za definiranje točne konformacije okosnice potrebno je definirati samo po dva torzijska kuta za svaki aminokiselinski ostatak u peptidnom lancu.

Torzijski kut koji opisuje rotaciju oko veze između α-C atoma i dušikovog atoma označava se sa ϕ dok se torzijski kut koji opisuje rotaciju između α-C atoma i karbonilnog ugljikovog atoma označava sa ψ. Slika 3 prikazuje rotacije oko veza opisanima ϕ i ψ kutovima.



Slika 3. Prikaz rotacija oko veza koje opisuju torzijski kutovi ϕ i ψ.[11]

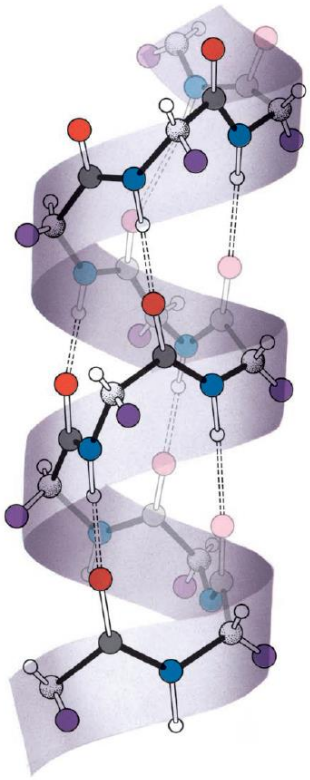
Zbog steričkih interakcija među atomima u peptidnoj skupini dopuštene su samo određene vrijednosti ϕ i ψ kutova.[11]

Struktura peptida najčešće se opisuje pojmovima primarna, sekundarna, tercijarna i kvaterna struktura. Primarnu strukturu čini redoslijed aminokiselina u peptidnom lancu. Proteini su najčešće smotani tako da im neka lokalna mjesta sadrže pravilne ponavljajuće konformacije okosnice polipeptidnog lanca stabilizirane vodikovim vezama. Takve lokalne pravilne strukture svrstane su pod sekundarne strukture proteina.[11] Tipovi pravilnih sekundarnih struktura jesu uzvojnice i ploče, a okreti i omče, iako nisu pravilni, imaju strogo definiranu strukturu i također se ubrajaju u elemente sekundarne strukture. Dok sekundarna struktura obuhvaća samo lokalnu konformaciju polipeptidnog lanca, tercijarna struktura obuhvaća prostorni raspored svih atoma polipeptidnog lanca uključujući disulfidne veze. Neki proteini nastaju udruživanjem više polipeptidnih lanaca (podjedinica). Takvi proteini opisuju se i kvaternom strukturom koja opisuje prostorni raspored pojedinih podjedinica.[1]

2.3. Sekundarne strukture proteina

2.3.1. α-uzvojnica

α-uzvojnica nastaje spiralnim namatanjem okosnice polipeptidnog lanca oko zamišljene osi i stabilizirana je vodikovim vezama između NH- i CO-skupina iz peptidnih skupina aminokiselina u lancu. Strukturu α-uzvojnice prikazuje slika 4.



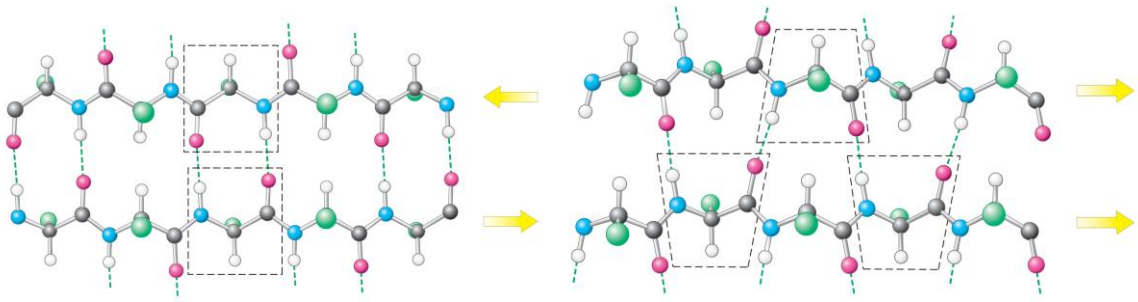
Slika 4. Struktura α-uzvojnice.[11]

Osim aminokiselinskih ostataka na krajevima uzvojnice, CO-skupina svake aminokiseline tvori vodikovu vezu s NH-skupinom aminokiseline koja je četvrta po redu od prethodno spomenute s CO-skupinom. Bočni ogranci aminokiselina u α-uzvojnici usmjereni su prema van spram uzvojnice.[1] Kao što se svaka sekundarna struktura proteina, pa tako i α-uzvojnica, može okarakterizirati φ i ψ kutovima, uzvojnice se mogu okarakterizirati i na temelju broja peptidnih jedinica po jednom okretu te visinom okreta.[11] U α-uzvojnici svaki je aminokiselinski ostatak od susjednog zakrenut za 100° iz čega proizlazi da svakom okretu pripada 3,6 aminokiselinska ostatka. Svaki aminokiselinski ostatak od susjednog duž osi uzvojnice pomaknut je za 0,15 nm pa je svaki okret visok 0,54 nm. α-uzvojnica (građena od aminokiselina relativne konfiguracije

L) spiralno je zavijena u smjeru okretanja kazaljke na satu što je pak definirano kao desna uzvojnica.[1] Opisana geometrija uzvojnice, uz notaciju α-uzvojnica, može se označiti i preko broja aminokiselinskih ostataka po okretu i broja atoma u prstenu koji zatvara vodikovu vezu tako da se broju aminokiselinskih ostataka po okretu u indeks napiše broj atoma u prstenu vodikove veze. Tako se α-uzvojnica može označiti i kao 3.6_{13} uzvojnica.[11]

2.3.2. β-nabrani list ili β-nabrana ploča

Povezivanjem vodikovom vezom pojedinih, izduženih dijelova polipeptidnog lanca nastaje β-nabrana ploča. Takvih pojedinih izduženih dijelova β-nabrana ploča sadrži barem dva, a zovu se β-niti. S obzirom na relativni smjer pružanja proteina od *N*-kraja prema *C*-kraju, β-niti mogu imati suprotne smjerove (slika 5, lijevi dio), što se naziva antiparalelna β-nabrana ploča, ili β-niti mogu imati isti smjer (slika 5, desni dio), što se naziva paralelna β-nabrana ploča. Naravno, postoje i miješane (niti i jednog i drugog *N*-kraj-*C*-kraj smjera) β-ploče.



Slika 5. Struktura antiparalelne (lijevo) i paralelne (desno) β-nabrane ploče.[1]

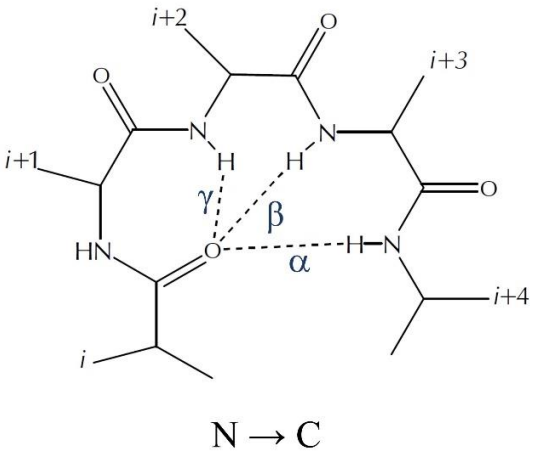
Kao što prikazuje slika 5, amino-, odnosno karbonilna, skupina svake aminokiseline određene β-niti antiparalelne β-nabrane ploče povezana je vodikovom vezom s karbonilnom, odnosno amino-skupinom, svake aminokiseline susjedne β-niti. U paralelnoj β-nabranoj ploči amino- i karbonilna skupina iste aminokiseline „prvog“ lanca povezane su s karbonilnom, odnosno amino-skupinom, koje pripadaju susjednim aminokiselinama „drugog“ lanca. Bočni ogranci (slika 5, zelene kuglice) dviju uzastopnih aminokiselina pojedine β-niti usmjereni su na suprotne strane. Općenito, niti β-nabrane ploče ne moraju biti paralelne, nego mogu biti i međusobno zarotirane. Navedena svojstva čine β-ploču puno raznovrsnijim strukturnim elementom od α-uzvojnice.

2.3.3. Okreti

Da bi se pojedini dijelovi (β-niti) nekog polipeptidnog lanca povezali u antiparalelnu β-nabranu ploču, između njih mora doći do promjene smjera pružanja polipeptidnog lanca u prostoru (slika 6, lijevi dio). Kod nastajanja paralelne β-nabrane ploče uz potrebu zakretanja polipeptidnog lanca potrebna je i promjena smjera s obzirom na smjer od *N*-kraja proteina prema *C*-kraju (slika 6, desni dio). Niti antiparalelne β-nabrane ploče imaju suprotne smjerove *N*-kraj-*C*-kraj.).

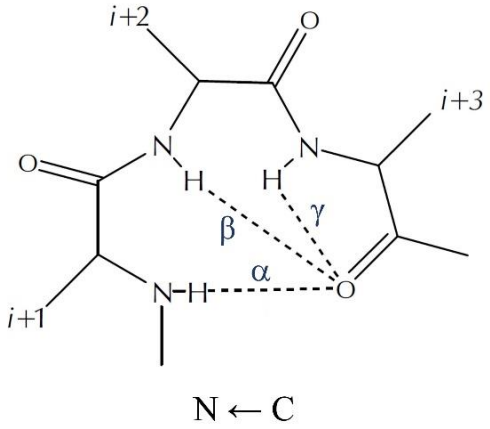
Slika 6. Shematski prikaz antiparalelne (lijevo) i paralelne (desno) β-nabrane ploče (niti su prikazane s pomoću strelica) i omči (debele krivulje) koje povezuje niti pojedinih β-nabranih ploča. Omča u antiparalelnoj β-nabranoj ploči mijenja smjer polipeptidnog lanca u prostoru dok omča u paralelnoj β-nabranoj ploči uz smjer polipeptidnog lanca u prostoru mijenja i smjer s obzirom na *N*-kraj-*C*-kraj.[11]

Strukture odgovorne za ovakve promjene smjera pružanja polipeptidnog lanca zovu se okreti. Općenito, proteini ne mijenjaju smjer pružanja u prostoru samo između lanaca β-nabrane ploče. Okreti se često nalaze na površini proteina i sudjeluju u molekulskom prepoznavanju. Slično kao i ostale vrste sekundarnih struktura stabilizirani su vodikovom/im vezom/ama. Prema broju atoma u prstenu zatvorenom vodikovom vezom (slika 7) razlikuju se α-, β- i γ-okret, pa tako u α-okretu vodikovu vezu zatvara 13 atoma, u β-okretu 10 atoma i u γ-okretu 7 atoma.



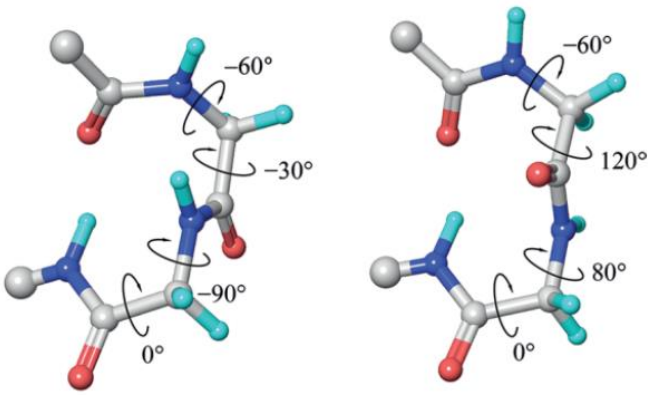
Slika 7. Podjela okreta (α-, β- i γ-) prema veličini prstena zatvorenog vodikovom vezom.[12]

Za primjer, α-uzvojnicu zapravo čini niz uzastopnih α-okreta. Navedena podjela na α-, β- i γ -okret vrijedi za okrete stvorene na polipeptidnom lancu usmjerenom od *N*- prema *C*-kraju. Okreti mogu nastati i na polipeptidnom lancu usmjerenom od *C*- prema *N*-kraju te se takvi zovu „obrnuti“ okreti (slika 8).



Slika 8. Podjela obrnutih okreta (rvs-α-, rvs-β- i rvs-γ-) prema veličini prstena zatvorenog vodikovom vezom.[12]

Obrnuti α-okret, rvs-α, stabilizira vodikova veza s 11-eročlanim prstenom, rvs-β okret s 8-eročlanim prstenom i rvs-γ s 5-eročlanim prstenom. Najčešći okreti u proteinima su β-okreti. Uzrokuju promjenu smjera polipeptidnog lanca u suprotni smjer. Postoji više vrsta β-okreta, a pojedine vrste definirane su torzijskim kutovima ϕ i ψ kao što prikazuje tablica 1. Najčešći tipovi β-okreta su tip I i tip II i njihovi analozi obrnutog smjera (od *C*-kraja prema *N*-kraju) tip I' i tip II' (slika 9).



Slika 9. Tip I (lijevo) i tip II (desno) β-okreta.[11]

Tablica 1. Torzijsku kutovi ψ i ϕ za pojedine vrste β-okreta.

tip β-okreta	torzijski kut / ^{o}			
	ϕ_{i+1}	ψ_{i+1}	ϕ_{i+2}	ψ_{i+2}
I	−60	−30	−90	0
I'	60	30	90	0
II	−60	120	80	0
II'	60	−120	−80	0
IV	−61	10	−53	17
VIa1	−60	120	−90	0
VIa2	−120	120	−60	0
VIb	−135	135	−75	160
VIII	−60	−30	−120	120

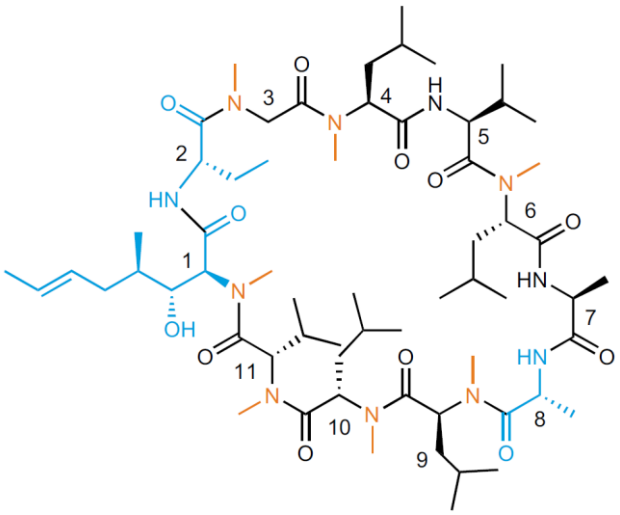
2.4. Mimetici peptida

2.4.1. Općenito o mimeticima

U otopinama proteini i peptidi najčešće zauzimaju mnoštvo konformacija bliskih Gibbsovih energija tako da postoji i puno podjednako zastupljenih konformacija. Aktivna funkcija peptida vezanjem na određeni receptor najčešće obuhvaća samo jednu, točno određenu konformaciju peptida.[13] Uređivanjem strukture peptida uslijed vezanja na receptor smanjuje se entropija. Vezanje proteina na receptor često uređuje strukturu proteina (entropija se smanjuje) pa ako otopljeni peptid ima konformaciju što sličniju onoj u kompleksu s receptorom, i ako je to njegova jedina konformacija u otopini, promjena entropije za vezanje peptida na receptor povećava se jer se gubi efekt njezinog smanjenja zbog uređenja, odnosno vezanje proteina postaje jače.[14] Prvi je to od razloga zašto je za terapijske svrhe od proteina bolje upotrebljavati njihove analoge koji će u biološkom sustavu biti prisutni u samo jednoj konformaciji, što sličnijoj onoj peptida u kompleksu peptida i njegovog receptora. Analognost tih spojeva očituje se u oponašanju svojstava i funkcije peptida, a takvi spojevi zovu se peptidomimetici ili mimetici peptida. Općenito se spojevi sa svojstvom oponašanja strukture nekog od bioloških spojeva neovisno o vrsti spoja nazivaju samo mimetici. Proteini su često polarne molekule, a kako polarnost sprječava njihov prolazak kroz nepolarnu staničnu membranu, oralna primjena

proteinskih lijekova jako je ograničena. Također, proteini su i jako podložni enzimskoj razgradnji (proteolitički enzimi) što je uzrok njihove stabilnosti u krvnoj plazmi. Peptidomimetici se koriste kako bi se riješila i prethodna dva navedena problema terapeutske primjene proteina. Niska oralna bioraspoloživost i niska stabilnost u krvnoj plazmi, u odnosu na dobrobit povećanja afiniteta proteina prema meti djelovanja, primarni su razlozi dizajniranja peptidomimetika.[15] Povećanje vremena (polu)života proteina u organizmu najčešće se postiže upotrebom aminokiseline relativne konfiguracije D, metilacijom aminokiselina α-ugljikovog atoma ili amidnog dušikovog atoma, ciklizacijom *C*- i *N*-terminalnog kraja i upotrebom β-aminokiselina.[16,17,18,19]

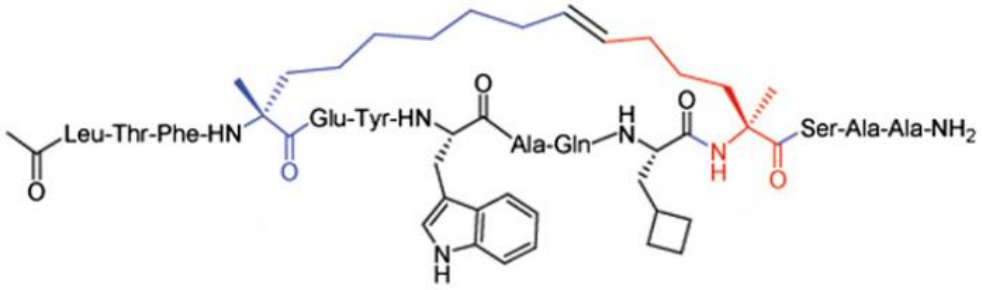
Ciklosporin je ciklički peptid (amidnom vezom povezani *N*- i *C*-kraj) jedanaest aminokiselinskih ostataka izoliran iz gljive *Tolypocladium inflatum*.[20] Strukturu ciklosporina prikazuje slika 10.



Slika 10. Strukturna formula (vezna crtica) ciklosporina.[15]

Taj spoj smanjuje imunosne reakcije tijela (imunosupresiv), hidrofoban je što omogućava oralnu primjenu, a ciklička struktura jedan je od dva razloga otpornosti na proteolitičku degradaciju.[21] Iako prirodna struktura ciklosporina nije kemijski modificirana, sadrži sedam metiliranih amidnih skupina (slika 10, narančasto označeni atomi), dvije netipične aminokiseline, prva je 3-hidroksi-4-metil-2-(metilamino)okt-6-enska kiselina na položaju 1 i aminomaslačna kiselina na položaju 2 (slika 10, plavo označeni atomi) te aminokiselina (Ala) relativne konfiguracije D na položaju 8 (slika 10, plavo označeni atomi) zbog čega se može klasificirati kako peptidni mimetik. Metilirane amidne skupine drugi su razlog otpornosti na proteolitičku degradaciju. Ciklosporin je odobreni imunosupresivni lijek od strane Američke agencije za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*).[15]

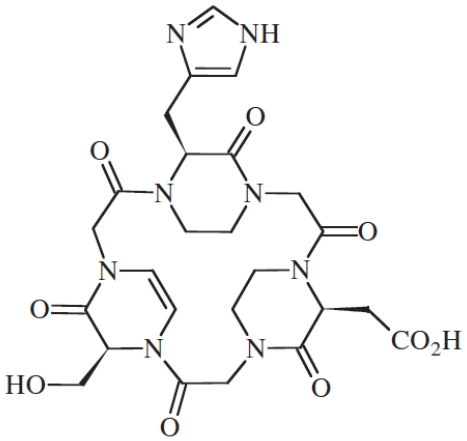
Uvođenje „mostova“ (molekulskih poveznica) između bočnih ogranaka peptidnog lanca jedan je od načina stabiliziranja α-uzvojice.[19] Jedan takav peptidomimetik je i spoj ATSP-7041, a prikazuje ga slika 11.



Slika 11. Struktura (vezna crtica) spoja ATSP-7041.[19]

ATSP-7041 ima strukturu α-uzvojnice stabiliziranu olefinskom poveznicom. Sa strukturom α-uzvojnice i velikim afinitetom veže se i na protein MDM2 i na protein MDMX. U stanicama raka različitih tkiva pronađeno je da se proteini MDM2 i MDMX vežu α-uzvojičnu domenu transkripcijskog faktora p53 (protein). Transkripcijski faktor p53 u stanicama s oštećenom DNA pokreće apoptozu. Osim što se ATSP-7041 veže istom sekundarnom strukturom, kao transkripcijski faktor, na proteine MDM2 i MDMX, također efikasno ulazi u stanice te pokazuje odličnu stabilnost *in vitro*. što ga čini potencijalnim dvostrukim inhibitorom u p-53 ovisnoj terapiji za rak.[19]

Zadnji izabrani primjer peptidnog mimetika jest spoj sa svojstvom oponašanja aktivnog mjesta lipaza, a prikazuje ga slika 12.



Slika 12. Primjer mimetika aktivnog mjesta lipaza građenog od serina, histidina i asparaginske kiseline povezanih preko (tri) glicina u ciklički protein s premoštenim susjednim dušikovim atomima amidne skupine.[13]

Prikazani mimetik aktivnog mjesta lipaza sadrži serin, histidin i arsparaginsku kiselinu povezane preko (tri) glicina u ciklički protein (heksapeptid). Po dva susjedna dušikova atoma amidne skupine premoštena su etilnom skupinom ili dvostrukom vezom. Serin, histidin i asparaginska kiselina tipične su katalitičke aminokiseline u aktivnom mjestu hidrolaza (katalitička trijada). Ciklizirani protein i povezivanje amidnih dušikovih atoma u tri šesteročlana prstena pozicionira aminokiseline katalitičke trijade u položaje pogodne za kataliziranje reakcije. Ovaj peptidni mimetik katalizira transesterifikaciju 4-nitrofenil-acetat.[22]

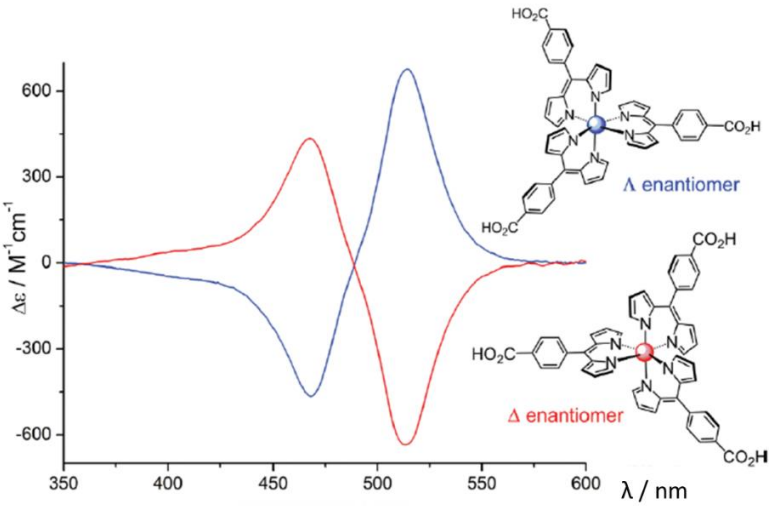
2.4.2. Mimetik α-uzvojnice i heličnost

α-uzvojnica građena od L-aminokiselina uobičajeno je desno zavijena. Zamjena samo relativne konfiguracije svake aminokiseline nekog peptidnog lanca iz L u D relativnu konfiguraciju rezultirat će nastankom uzvojnice lijeve zavijenosti. Lijevo i desno zavijena uzvojnica dvaju peptidnih lanaca istog redoslijeda aminokiselina (suprotnih relativnih konfiguracija) jedna su drugoj zrcalne slike. Pojava da dvije molekule istog sastava mogu imati dva različita rasporeda atoma u prostoru koji se međusobno odnose kao zrcalne slike zove se kiralnost, a molekule zrcalno simetričnih rasporeda atoma enantiomeri.

2-Amino-2-metilpropanska kiselina (2-aminoizomaslačna kiselina, kratica: Aib) akiralni je spoj. Upotrijebi li se Aib kao monomerna jedinica za izgradnju peptida, prisutnost dviju metilnih skupina u Aib-u na α-C atomu dovodi do dodatnih strukturnih ograničenja pri čemu će nastali peptid specifično biti prisutan u samo „jednoj“ konformaciji, 3_{10} uzvojnici. Budući da je Aib akiralan spoj, peptid izgrađen od njega u akiralnoj sredini bit će prisutan i u desnoj i u lijevoj 3_{10} uzvojnici u jednakim udjelima.[23] Uvođenje aminokiseline određene kiralnosti na *N*-kraj peptidnog lanca Aib-a povećava udio jednog enantiomernog oblika uzvojnice ili čak dovodi do preferiranog nastajanja jednog enantiomera.[24] Vezanjem kiralne aminokiseline na peptidni lanac zabilježeno je preferirano smatanje uzvojnice u jedan enantiomer kod peptidnih lanaca dugih do 20 aminokiselina.[25] Iako L-aminokiseline tipično tvore desno zavijenu uzvojnicu, uvođenje nekih L-aminokiselina na *N*-kraj Aib peptidnog lanca može uzrokovati preferirano smatanje peptidnog lanca u lijevo zavijenu 3_{10} uzvojnicu. Sa samo 0,4 % zastupljenosti u bazi podataka PDB lijevo zavijene uzvojnice vrlo su rijedak motiv u proteinskim strukturama i relativno su jako kratke.[26]

2.5. Spektroskopija cirkularnog dikroizma

Kada enantiomerni par sadrži skupinu koja je kiralni kromofor, jedan od enantiomera apsorbirat će samo lijevo, dok će drugi enantiomer apsorbirati samo desno cirkularno polariziranu svjetlost. Navedeno svojstvo temelj je najčešće korištene metode određivanja konfiguracijskih i konformacijskih izomera nazvane spektroskopija cirkularnog dikroizma (CD).[27] Cirkularni dikroizam jest razlika molarnog apsorpcijskog koeficijenata lijevo i desno cirkularno polarizirane svijetlosti. Praćenjem ovisnosti razlike molarnog apsorpcijskog koeficijenta lijevo i desno cirkularno polarizirane svjetlosti o frekvenciji svjetlosti dobiva se spektar cirkularnog dikroizma.[3] Ovisno o frekvencijskom području upotrijebljenog zračenja cirkularni dikroizam može biti vibracijski i elektronski, a potonji je češće korišten.[27,28] Uz spektroskopiju cirkularnog dikroizma (vibracijski i elektronski CD), spektroskopija optičke rotacijske disperzije (ORD) druga je glavna metoda određivanja apsolutne konfiguracije. Obje metode daju analogne rezultate (jednoznačno se mogu prevesti jedni u druge), ali CD spektroskopija ima manji šum – pozadinsku apsorpciju ugljikovodičnog kostura, i bolju rezoluciju.[29] Općenito je CD spektroskopija jako osjetljiva metoda; može detektirati tvari do mikrogramske skale.[28] Pojava da CD spektar sadrži maksimum ili minimum naziva se Cottonov efekt. Ukoliko, smanjenjem valne duljine, prvo dolazi do povećanja apsorbancije, a zatim do njezinog smanjenja, što drugim riječima odgovara maksimumu, radi se o pozitivnom Cottonovom efektu. Negativni Cottonov efekt odgovara minimumima u CD spektru. Ako enantiomeri posjeduju kiralni kromofor, jedan od njih će pokazivati maksimum u CD spektru, a drugi minimum jednakog intenziteta. Slika 13 prikazuje primjer zrcalno simetričnih CD spektara izabranog para enantiomera.



Slika 13. Zrcalno simetrični CD spektri enantiomernog para: Δ-[Co(CO_2H-dp)$_3$] i Λ-[Co(CO_2H-dp)$_3$].[30]

Ne postoji jednostavna relacija između apsolutne konfiguracije i predznaka Cottonovog efekta.[3] Nekad se spektri mogu interpretirati s pomoću semiempirijskih pravila kakva su oktantno, kvadrantno ili sektorsko pravilo.[28] Spektrometri cirkularnog dikroizma kao rezultat mjerenja daju tzv. (molekulsku) eliptičnost. Eliptičnost uostalom ovisi o koncentraciji uzorka u otopini (c) i duljini puta što ga je zračenje prošlo kroz uzorak (l) pa se veličina neovisna o koncentraciji uzorka i duljini puta, molarna eliptičnost, dobiva dijeljenjem eliptičnosti s umnoškom množinske koncentracije i duljine puta.[31]

$$\theta_{\mathrm{m}} = \frac{\theta}{c\, l}$$

Promjenom duljine puta od 0,1 cm do 10 cm moguće je postići promjenu eliptičnosti za tri reda veličine.[28] Molarna eliptičnost veličina je proporcionalna razlici molarnih apsorpcijskih koeficijenata ($\Delta\varepsilon$) lijevo i desno cirkularno polarizirane svjetlosti.

$$\theta_{\mathrm{m}} = \frac{4500}{\pi \log e}\Delta\varepsilon$$

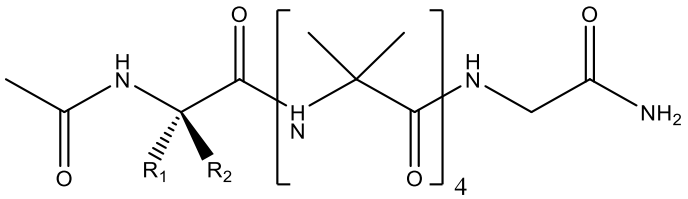
Metodama računalne kemije moguće je izračunati CD spektar molekule. Uspoređivanjem eksperimentalno izmjerenog CD spektra s teoretski izračunatim CD spektrima oba enantiomera dolazi se do informacije o konfiguraciji izučavanog spoja. Određivanje apsolutne konfiguracije usporedbom izmjerenog i izračunatog CD spektra jeftinija je i brža metoda od difrakcije rendgenskih zraka u kristalu.[3] Vrijeme odvijanja elektronskog prijelaza puno je kraće od gornje granice vremena potrebnog za odvijanje konformacijskih promjena, što CD spektroskopiju čini pogodnom metodom za proučavanje konformacijskih promjena.[28]

Cirkularni dikroizam proizlazi iz interakcija električnih i magnetskih dipolnih momenata sa zračenjem.[3] Apsolutnu konfiguraciju molekula koje nemaju kiralni kromofor moguće je odrediti vezanjem, kovalentnim ili međumolekulskim interakcijama, na molekulu s kiralnim kromoforom.

2.6. CD senzori za određivanje helične kiralnosti peptida

Vezanje *p*-brombenzamidne zaštitne skupine na *N*-kraj heličnih peptida bio je jedan od prvih primjera upotrebe CD senzora za određivanje helične kiralnosti (Toniolo i suradnici). *p*-Brombenzamidnim senzorom proučavana je helična kiralnost peptida sastavljenih od 2-amino-2-metilpropanske kiseline (α-metiliranog glicina; Aib), leucina, izoleucina, valina, fenilalanina. Peptidi, izgrađeni od ukupno do osam α-metiliranih aminokiselina preferiraju stvaranje 3_{10} uzvojnice. *p*-Brombenzamidna zaštitna skupina pokazala je senzorska svojstva za određivanje helične kiralnosti jer su lijeve i desne 3_{10} uzvojnice u apsorpcijskom području *p*-brombenzamidne zaštitne skupine (210 – 300 nm) pokazale suprotne CD spektre. Peptidi desne uzvojnice: *p*BrBz−(Aib)$_2$−L-(α-Me)Val−(Aib)$_2$−O*t*Bu, *p*BrBz−(Aib)$_2$−D-(α-Me)Leu−(Aib)$_2$−O*t*Bu, *p*BrBz−(Aib)$_5$−L-Leu−(Aib)$_2$−OMeu, *p*BrBz−(Aib−L-Ala)$_3$−OMe, *p*BrBz−Aib−(L-Pro−Aib)$_3$−OMe, *p*BrBz−[D-(α-Me)Leu]$_4$−O*t*Bu i *p*BrBz−[D-(α-Me)Phe]$_4$−O*t*Bu pokazali su minimum pri valnoj duljini od otprilike 226 nm i maksimum pri valnoj duljini od otprilike 250 nm. Peptidi lijevih uzvojnica: *p*BrBz−(Aib)$_2$−L-(α-Me)Phe−(Aib)$_2$−O*t*Bu i *p*BrBz−(D-Iva)$_n$−O*t*Bu (n = 3 − 6), u odnosu na desne uzvojnice, pokazali su suprotne odnose Cottonovih efekata i valnih duljina; imale su minimum u CD spektru pri $\lambda \approx 250$ nm i maksimum pri $\lambda \approx 226$ nm.[32]

Kasnije, u drugom istraživanju (Clayden i suradnici), proučavani su spojevi koje prikazuju slike 14 i 15. CD spektroskopijom za spojeve **A** i **B** (slika 14) određen je maksimum/minimum pri 208 nm karakterističan za 3_{10} uzvojnicu.



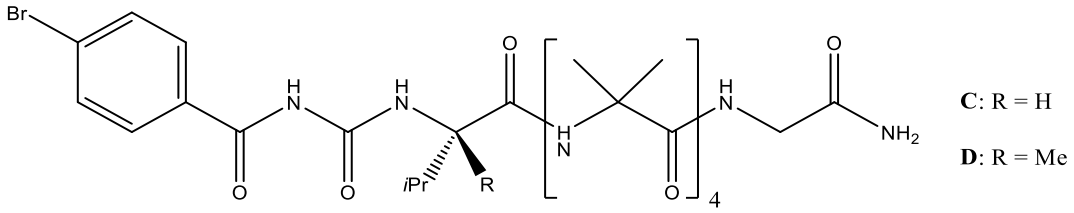
A: R = H

B: R = Me

Slika 14. Strukture spojeva **A** i **B**.

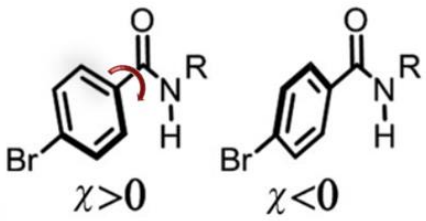
Također, CD spektroskopija pokazala je i suprotnu heličnost peptida **A** i **B**. Peptidi **C** i **D** (slika 15), analogni peptidima **A** i **B**, a za razliku od njih umjesto metilne skupine na *N*-kraju imaju *p*-brombenzamidnu zaštitnu skupinu imaju, iste predznake Cottonovog efekta u apsorpcijskom području zaštitne skupine, prema čemu bi se moglo zaključiti da imaju istu heličnu kiralnost,

što je netočno jer je CD spektroskopijom pokazano da uzvojnice peptida **A** i **B** imaju suprotne heličnosti.



Slika 15. Strukture spojeva **C** i **D**.

Proizlazi da se u ovom slučaju *p*-brombenzamidna zaštitna skupina ne može koristiti kao senzor za heličnu kiralnost. Razlika ovog i Toniolovog istraživanja jest u tome što je u ovom istraživanju kiralna aminokiselina bila vezana izravno na *p*-brombenzamidnu zaštitnu skupinu dok se u Toniolovom istraživanju između *p*-brombenzamidne zaštitne skupine i kiralne aminokiseline uvijek nalazila barem jedna molekula Aib-a. Dakle, *p*-brombenzamidna zaštitna skupina nije senzor helične kiralnost kada je na nju direktno vezana kiralna aminokiselina. U istraživanju je uočena i povezanost torzijskog kuta (χ, slika 16) između fenilnog prstena i karbonilne skupine u *p*-brombenzamidnoj zaštitnoj skupini.



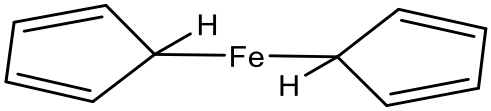
Slika 16. Shematski prikaz rotacije koju opisuje torzijski kut (χ) između fenilnog prstena i karbonilne skupine u *p*-brombenzamidnoj zaštitnoj skupini.[26]

Peptidi u kojima je torzijski kut χ pozitivan pokazuju pozitivan Cottonov efekt i obrnuto, peptidi s negativnim χ pokazuju negativan Cottonov efekt.[26]

2.7. Ferocen

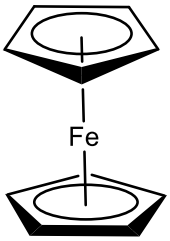
2.7.1. Otkriće i struktura

Godine 1951. Pauson i Kealy pokušali su pripraviti fulvalen reakcijom ciklopentadienilnog bromida i željezova(II) klorida u dietil-eteru. Prisustvo željeza u strukturi spoja dobivenog sintezom odavalo je da nisu dobili željeni produkt. Pretpostavili su takvu strukturu spoja (slika 17) u kojoj dva ciklopentadienilna aniona koordiniraju željezo, svaki preko jednog od ugljikovih atoma.[33,8]



Slika 17. Struktura ferocena pretpostavljena od strane Pausona i Kealya.

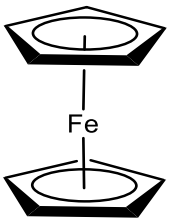
Godinu dana kasnije Wilkinson, Rosenblum, Whiting i Woodward u Harvardu kao i Fischer i Pfab u Münchenu otkrili su pravu strukturu ferocena.[34,35] Željezov(II) ion nalazi se između dvaju paralelnih planarnih ciklopentadienilnih anionskih prstenova (Cp^-) na osi koja prolazi njihovim središtima pri čemu svaki od prstenova koordinira centralni ion sa šest π-elektrona (slika 18). Struktura ferocena zove se sendvič kompleks.



Slika 18. Struktura ferocena.

Kratica za ciklopentadienilni anion jest Cp^- prema čemu se ferocen zapisuje kao $(\eta^5\text{-Cp})_2Fe$. Zapravo, ciklopentadienilni anionski ligand nije samo donor već je i akceptor elektrona. Ciklopentadienilni ligand donira elektronsku gustoću iz π-orbitale (vezna orbitala) koja opisuje elektronsku gustoću između ugljikovih atoma, u d-orbitalu metala, ali i metal donira elektronsku gustoću iz popunjene (različita od prethodne) d-orbitale u praznu π*-orbitalu (protuvezna orbitala) liganda.[36] Opisani model vezanja alkena i metala u kompleknsi spoj naziva se Dewar–Chatt–Duncansonov model. Budući da su ravnine u kojima leže

ciklopentadienilni anionski ligandi paralelne, kut između njih, a označava se sa Θ, iznosi 0. U supstituiranim pak ferocenima kut Θ uopće ne mora biti jednak nuli. Udaljenost ravnina ciklopentadienilnih anionskih liganada približno iznosi 0,33 nm. Ciklopentadienilni anionski ligandi u ferocenu ponašaju se kao da su zadržali aromatičnu (6π) strukturu pa se i time tumači aromatičnost ferocena. S obzirom na vrste reakcija u koje stupa, ferocen je slične reaktivnosti kao benzenski prsten zbog čega je ime dobio po uzoru na benzen. Uspoređujući reaktivnost samu po sebi, a ne prema vrstama reakcija, reaktivnost ferocena veća je u odnosu na benzen. Ferocen ima dva različita tipa konformera, konformer zasjenjene konformacije (prikazuje ga slika 19), simetrije D_{5h} i nezasjenjene konformacije (slika 18), simetrije D_{5d}.



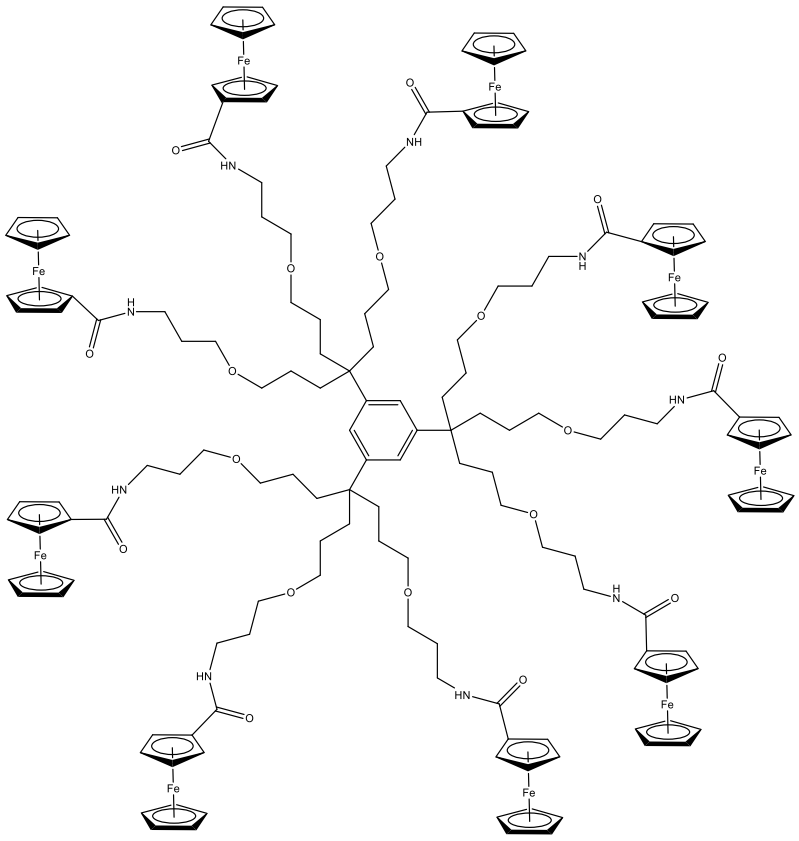
Slika 19. Konformer ferocena zasjenjene konformacije.

Kombinacija mjerenja vibracijskih spektra i računanja istih kvantno-mehaničkom metodom DFT (engl. *Density-functional theory*) pokazala je kako je u otopinama relativno nepolarnih organskih otapala (acetonitril i otapala manje dielektrične konstante) na sobnoj temperaturi zasjenjena konformacija stabilnija od nezasjenjene.[37] U plinskoj fazi također je zasjenjena konformacija stabilnija što je utvrđeno difrakcijom elektrona i optimizacijama geometrije ferocena Møller–Plesset teorijom drugog reda (engl. *Second-order Møller–Plesset*, MP2) i teorijom spregnutih grozdova (engl. *Coupled-Cluster Theory*).[38,39]

Glavna svojstva ferocena jesu: dobra topljivost u svim uobičajenim organskim otapalima, stabilnost do 400 °C, reaktivnost poput sličnih aromatskih spojeva, relativno blaga i reverzibilna oksidacija elektrokemijskog potencijala oko +0,4 V s obzirom na zasićenu kalomelovu elektrodu. Uz komercijalnu dostupnost, redoks aktivnost i brojne reakcije u kojima može sudjelovati, ferocen je privukao pažnju u područjima medicinske organometalne kemije i bioorganometalne kemije zbog svojstava poput lake propusnosti kroz staničnu membranu, stabilnost u biološkim sustavima i nisku toksičnost.

2.7.2. Senzorska svojstva

Prvi izabrani primjer upotrebe ferocenske jedinice kao senzora jest određivanje malih anorganskih aniona s pomoću ferocenskih dendrimera. Poliamidni ferocenski dendrimeri s 9 ferocenskih jedinica (slika 20) i njemu strukturno analogni ferocenski dendrimer s 18 ferocenskih jedinica (18 ferocenskih jedinica dobiveno je vezanjem po dvije ferocenske jedinice na svaki dušikov atom, a ne vezanjem po jedne kao što prikazuje slika 20) upotrijebljeni su za određivanje dihidrogenfostatnog, hidrogensulfatnog i kloridnog iona cikličkom voltametrijom, što je prvi primjer upotrebe dendrimera u molekularnom prepoznavanju.



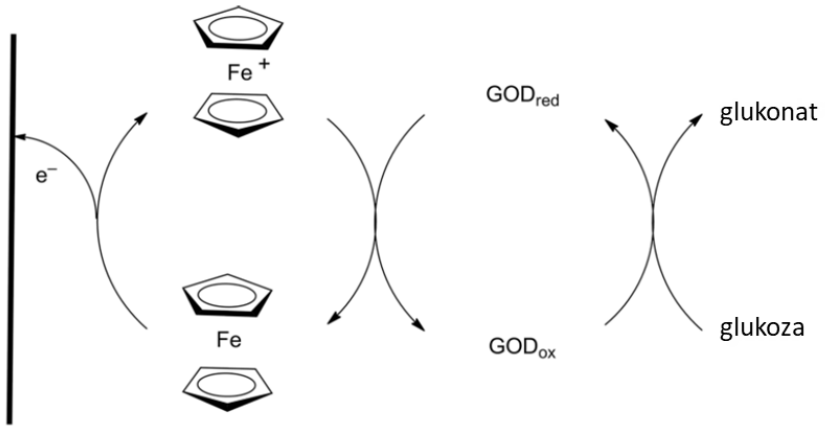
Slika 20. Poliamidni ferocenski dendrimer s devet ferocenskih jedinica.

Oba ferocenska dendrimera pokazala su jedan reverzibilni anodni val, što upućuje na to da su svi ferocenski redoks-centri neovisni i ekvivalentni. Razlika maksimalnog i minimalnog potencijala katodnog i anodnog vala značajno raste povećanjem broja ferocenskih jedinica u dendrimeru. Titracijom ferocenskih dendrimera s hidrogensulfatnim i kloridnim ionom došlo je do katodnog pomaka početnog (voltametrijskog) vala dok je titracijom s dihidrogenfosfatnim ionom došlo do postupnog mijenjanja početnog vala u novi val uzrokovanim interakcijom

dihidrogenfosfatnog iona i oksidiranog ferocena. Voltametrijski valovi tijekom titracije ostali su elektrokemijski reverzibilni.[40]

Sljedeći primjer upotrebe ferocenske jezgre kao senzora jest razlikovanje točkaste mutacije u oligonukleotidnim lanacima. Potrebna su dva ferocenska senzora razdvojenih poluvalnih potencijala da bi se voltamerijom alternirajuće struje u dva oligonukleotidna lanca razlikovala točkasta mutacija. Svaki od senzora napravljen je od oligonukleotidnog lanca tako da se preferentno veže na jedan od proučavanih oligonukleotida te da na kraju ima vezan oligonukleotid modificiran ferocenom. Poluvalni potencijal ferocena može se promijeniti uvođenjem elektron donirajućih ili odvlačećih skupina pa je ferocenski senzor različitog poluvalnog potencijala dobiven uvođenjem dimetilkarbamoilne skupine na ferocen vezan na nukleotid. Određene su približno jednake temperature mekšanja dvostruke zavojnice oligonukleotida sa i bez ugrađene ferocenske jedinice, stoga je utvrđeno kako uvedeni ferocen ne destabilizira dvostruku uzvojnicu. Uspoređivanjem ovisnosti izmjenične struje o potencijalu određene u otopinama obaju senzora koja u prvom slučaju sadrži jedan analizirani nukleotid, u drugom slučaju drugi analizirani nukleotid te trećem slučaju oba analizirana nukleotida, dolazi se do zaključka sadrže li analizirani nukleotidi točkastu mutaciju.[41]

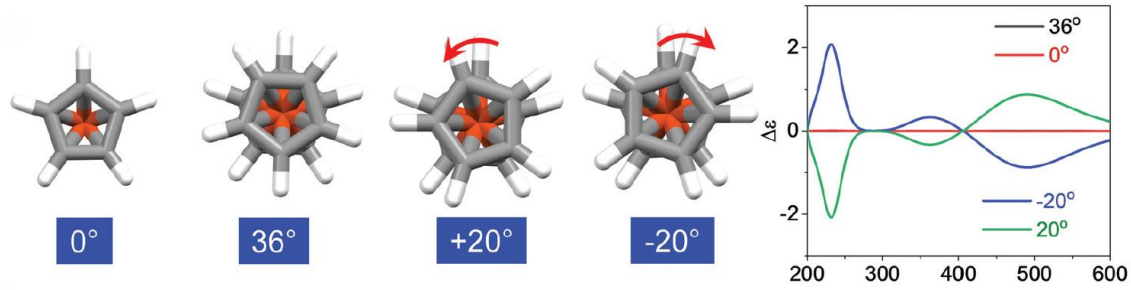
Zadnji ovdje prikazani primjer upotrebe senzorskih svojstava ferocena jest njegova upotreba u komercijalnom amperometrijskom određivanju razine glukoze u krvi. Rutinsko određivanje glukoze u fiziološkim tekućinama jedna je od najčešćih analiza u kliničkim laboratorijima.[42] Metoda amperometrijskog određivanja razine glukoze u krvi temelji se na oksidaciji glukoze u glukolakton kataliziranoj enzimom glukoza-oksidaza. Enzim uobičajeno katalizira oksidaciju glukoze kisikom pri čemu nastaje vodikov peroksid pa je koncentraciju glukoze moguće određivati preko mjerenja vodikovog peroksida. Određivanje glukoze preko vodikovog peroksida ima nedostatak jer varijacije količine kisika u uzorcima mogu utjecati na rezultat analize. Kisik kao medijator elektrona zaobiđen je u komercijalnoj upotrebi ferocena u određivanju razine glukoze u krvi enzimskom oksidacijom glukoze s pomoću 1,1´-dimetilferocenijevog kationa. Oksidacijom 1,1´-dimetilferocena na grafitnoj elektrodi dobiva se 1,1´-dimetilferocenijev kation. Jakost struje između elektroda proporcionalna je koncentraciji glukoze. Slika 21 prikazuje shemu određivanja koncentracije glukoze s pomoću enzima i generiranja njegovog kofaktora iz ferocena na elektrodi.



Slika 21. Shematski prikaz enzimskog (glukoza-oksidaza) oksidiranja glukoze uz ferocenijev kation kao kofaktor i njegovu regeneraciju s pomoću elektrode.[5]

2.7.3. Kirooptička svojstva

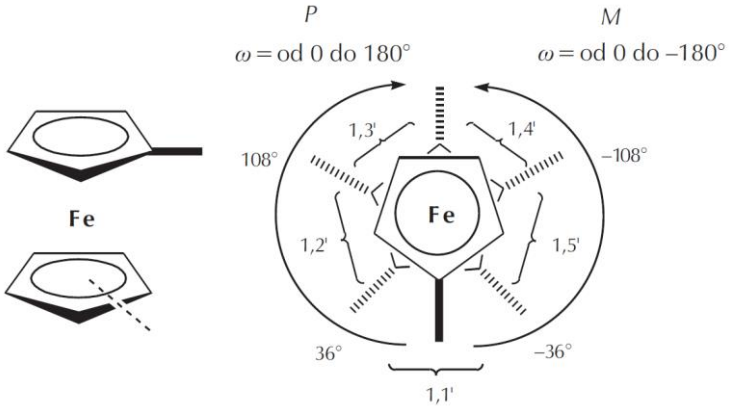
Aktivacijska Gibbsova energija za rotaciju ciklopentadienilnih liganada ferocena oko osi (Cp−Fc−Cp) koja prolazi kroz njihova središta (4 kJ mol^{-1}) relativno je mala u usporedbi s vrijednosti *kT* za sobnu temperaturu pa se prelazak ferocena iz jednog u drugi rotamer slobodno odvija na sobnoj temperaturi. Među ferocenskim konformerima dva su različita tipa konformera, onaj zasjenjene (D_{5h}) i nezasjenjene (D_{5d}) konformacije.[5] Zasjenjena konformacija ferocena i njezina zrcalna slika identični su spojevi, iz čega se može zaključiti da zasjenjena konformacija ferocena daje CD spektar jednak nuli (slika 22, konformer s diedarskim kutom 0º), točnije rečeno CD spektar je nulfunkcija. Nezasjenjene konformacije ferocena s ciklopentadienilnim ligandima zarotiranim (s obzirom na Cp−Fc−Cp os) za 36º, ili za višekratnik tog diedarskog kuta, također su jednake svojim zrcalnim slikama te isto ne pokazuju CD spektar (slika 22, konformer s diedarskim kutom 36º). Međutim, nezasjenjene konformacije kod koji su ciklopentadienilni ligandi zarotirani za bilo koji diedarski kut između 0º i 36º ili njegovog višekratnika, a suprotnog predznaka, nisu identični spojevi svojim zrcalnim slikama, nego su u enantiomernom odnosu zbog čega su im CD zrcalno simetrični (slika 22, konformacije s diedarskim kutovima –20º i 20º).[43]



Slika 22. Spektri cirkularnog dikroizma (CD) konformera zasjenjenje (0º) i nezasjenjene (36º) konformacije ferocena te CD spektri konformacija ferocena prstenova zarotiranih za 20º i −20º.[43]

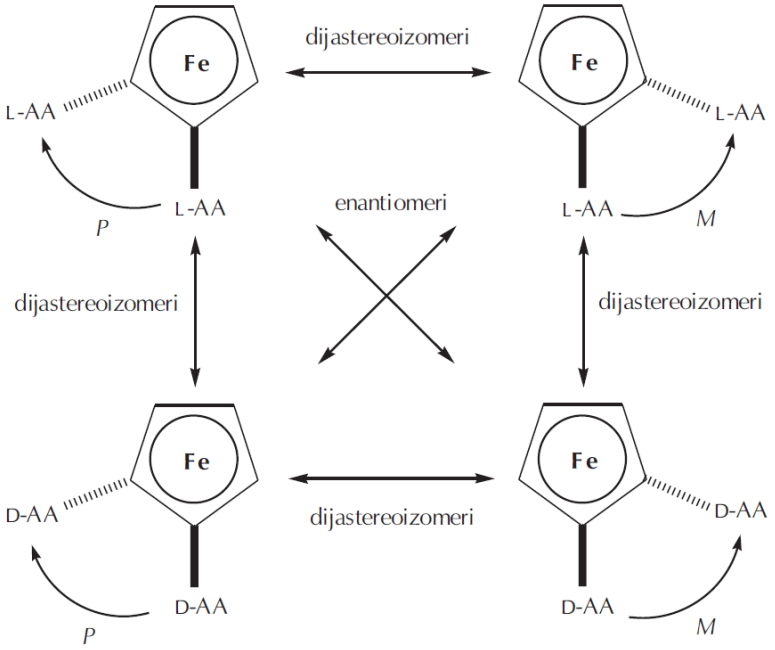
CD spektar ferocena jednak je zbroju CD spektara pojedinih konformera pomnoženih udjelima. Iako neke konformacije ferocena imaju CD spektar različit od nule, za svaku takvu konformaciju postoji enantiomer jednakog udjela zrcalno simetričnog CD spektra pa zbog toga ferocen ukupno (gledajući raspodjelu svih konformera) ne pokazuje CD spektar.

Vodikove veze među supstituentima u ferocenu pogodno supstituiranom na oba ciklopentadienilna liganda (heteroanularno supstituirani ferocen) u otopinama aprotičnih otapala (i čvrstom stanju) mogu fiksirati ciklopentadienilne ligande u točno određenoj konformaciji tako da sprječavaju rotaciju prstenova oko Cp−Fe−Cp osi.[12] Time heteroanularno supstituirani ferocen postaje aktivan u CD spektroskopiji s apsorpcijskim maksimumom ferocenskog kromofora oko 470 nm. Ferocenska jezgra heteroanularno supstituiranog ferocena vodikovim vezama fiksirana u različitim položajima odgovara različitim rotacijskim izomerima ferocena. S obzirom na veličinu diedarskog kuta (ω) između veza supstituenata heteroanularno supstituiranog ferocena, gledajući u smjeru osi koja prolazi kroz centroide ciklopentadienilnih liganada sa strane većeg prioriteta, rotacijski izomeri ferocena klasificiraju se prema geometriji kao: izomer 1,1′ (ω između –36º i 36º), 1,2′ (ω između 36º i 108º), 1,3′ (ω između 108º i 180º), 1,4′ (ω između 180º i –108º) i 1,5′ (ω između –108º i –36º).[44] 1,n′ općenita je oznaka heteroanularno supstituiranog ferocena dok se oznaka 1,n odnosi na disupstituirani ferocen s oba supstituenta na istom ciklopentadienilnom prstenu. Podjelu rotacijskih izomera ferocena prikazuje slika 23. Od dviju mogućih strana gledanja kroz os Cp−Fc−Cp „uzima“ se strana većeg prioriteta; prioritet svake strane određuje se Cahn-Ingold-Prelogovim (CIP) pravilom.



Slika 23. Klasificiranje rotacijskih izomera ferocena.[12]

Pozitivni diedarski kutovi definirani su u smjeru kazaljke na satu, a negativni diedarski kutovi u smjeru suprotnom od smjera kazaljke na satu. Dijeljenjem punog kuta (ω) na pozitivne i negativne vrijednosti dobiva se da enantiomeri imaju suprotnu vrijednost tog diedarskog kuta. Prema heličnoj kiralnost rotameri ferocena s diedarskim kutom od 0 do 180º su *P*-izomeri, a rotameri ferocena s diedarskim kutom od 0 do –180º su *M*-izomeri. Rotameri 1,1´ mogu imati *P* ili *M* heličnu kiralnost, pa je 1,1´ rotamer određenog kuta ω jednoznačno definiran tek uz dodavanje oznake heličnosti ispred oznake 1,1´. Strukture *P*-heličnosti pokazuju pozitivan Cottonov efekt pri apsorpcijskom maksimumu ferocenskog kromofora dok *M*-helične strukture pokazuju negativan Cottonov efekt. Nakon što je konformacija ferocenske jezgre heteroanularno disupstituiranog ferocena okarakterizirana oznakom rotamera i heličnom kiralnošću, potpuna stereokemijska karakterizacija navedenog spoja, naravno zahtijeva i definiranje konfiguracije (centralna kiralnost) aminokiselina peptidnih lanaca. Za primjer, slika 24 prikazuje stereokemijske odnose ferocena heteroanularno supstituiranog istom aminokiselinom različitih kombinacija relativnih konfiguracija. Stereoizomeri koje prikazuje slika 24 imaju istu apsolutnu vrijednost kuta ω. Dijastereoizomeri koje prikazuje slika 24 razlikuju se ili prema apsolutnoj konfiguraciji aminokiselina ili prema vrijednosti diedarskog kuta. Enantiomeri (uvijek) imaju i suprotan diedarski kut i suprotnu relativnu konfiguraciju aminokiselina.[12]



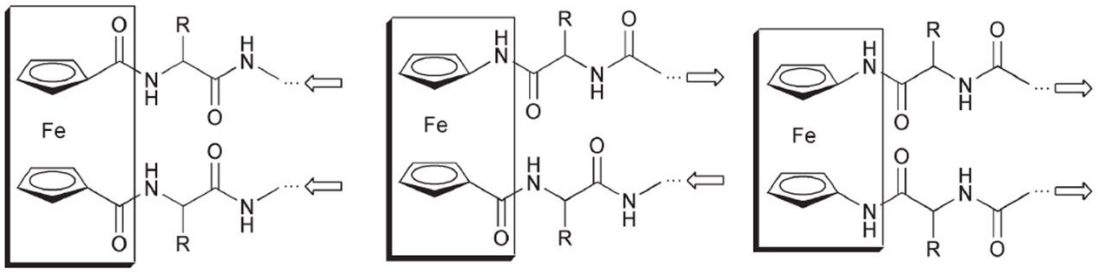
Slika 24. Stereokemijski odnosi ferocena helične kiralnosti *P*-1,2′, heteroanularno supstituiranog istom aminokiselinom različitih relativnih konfiguracija.[12]

Međutim, različiti rotameri ferocenske jedinice i različite konfiguracije aminokiselina nisu jedine stereokemijske varijacije u peptidnim lancima heteroanularno supstituiranog ferocena. Rotacija oko veze između ferocena i peptidnog lanca omogućava da amidne skupine direktno vezane na ferocen nakon povezivanje peptidnih lanaca vodikovom vezom mogu imati jednu od dvije različite orijentacije. Mogućnost postojanja izomera s obzirom na prostorni raspored supstituenata veze između peptidnog lanca i ferocena analogna je geometrijskih izomerima dvostruke veze. Tako CO ili NH (ovisno preko kojeg atoma je amidna skupina vezana na ferocen) veze amidnih skupina mogu biti usmjerene u istim ili suprotnim smjerovima. Konfiguracija svake od amidnih veza direktno vezanih na ferocen određuje se modificiranim CIP pravilom, prilikom određivanja konfiguracije jedne od veza promatra se i druga veza. Supstituentima na svakom kraju veze odredi se koji od njih ima prioritet 1, a koji prioritet 2, pri čemu se kod određivanja prioriteta ugljikovih atoma ferocena, prioritet 1 pripisuje ugljikovom atomu bližem supstituentu na donjem (drugom) prstenu. Stereokemijska oznaka konfiguracije amidne veze na gornjem prstenu navodi se ispred oznake helične kiralnosti i oznake rotamera ferocena, dok se stereokemijska oznaka donjeg prstena navodi iza te oznake, npr. *E*,*P*-1,2′,*E*. Za određenu heličnu kiralnost ferocenske jedinice i različite supstituente na ferocenu postoje

četiri različita geometrijska izomera (svaka veza može biti *Z* ili *E*). U slučaju kada su supstituenti na ferocenu jednaki *Z*,*E*- i *E*,*Z*-izomer su identični.[44]

2.7.4. Ferocen kao kalup za mimetike

Udaljenost ravnina u kojima leže ciklopentadienilni ligandi ferocena (0,33 nm) približno je jednaka udaljenosti donora i akceptora vodikovog atoma u vodikovoj vezi β-nabrane ploče, što ferocen čini pogodnim kalupom za izradu peptidnih mimetika β-nabrane ploče. Da bi se dobio peptidnim lancima heteroanularno supstituirani ferocen, ferocen je amino- i karboksilnom skupinom moguće funkcionalizirati na tri načina pa postoje i tri osnovna tipa ferocenskih peptidnih mimetika: ferocenski peptidni mimetici izvedeni iz ferocen-1,1'-dikarboksilnih kiselina, 1'-aminoferocen-1-karboksilnih kiselina i ferocen-1-1'-diamina, a prikazuje ih slika 25.



Slika 25. Peptidnim lancima heteroanularno supstituirana ferocen-1,1'-dikarboksilnih kiselina (lijevo), 1'-aminoferocen-1-karboksilnih kiselina (sredina) i ferocen-1-1'-diamina (desno).

U većini ferocena heteroanularno supstituiranih peptidnim lancima dviju aminokiselina, između peptidnih lanaca stvaraju se dvije vodikove veze, a one u slučaju derivata ferocen-1,1'-dikarboksilne kiseline zatvaraju deseteročlani prsten atoma, u slučaju derivata 1'-aminoferocen-1-karboksilne kiseline 12-eročlani prsten atoma i 14-eročlani prsten atoma u slučaju derivata ferocen-1-1'-diamina.

Peptidima heteroanularno supstituirani feroceni izvedeni iz 1'-aminoferocen-1-karboksilnih kiselina s na *C*- i *N*-kraju vezanom peptidima L-aminokiselina, ferocenska jezgra poprima *P*-heličnu kiralnost i pokazuju relativno jak ($\theta \approx 10000$ deg cm^2 dmol^{-1}) pozitivan Cottonov efekt ferocenskog kromofora. Zamjenom L-aminokiselina aminokiselinama relativne konfiguracije D u prethodno opisanim spojevima uzrokuje negativan Cottonov efekt. Vežu li se na 1'-aminoferocen-1-karboksilnu kiselinu peptidni lanci i L i D-aminokiselina, helična kiralnost ferocenske jezgre bit će određena apsolutnom konfiguracijom (prve) aminokiseline vezane na

amino-skupinu ferocena. L-aminokiselina vodi k *P*-heličnoj kiralnosti ferocena i pozitivnom Cottonovom efektu ferocenskog kromofora.[45,46]

Vodikove veze peptida L-aminokiselina heteroanularno supstituirane ferocen-1,1'-dikarboksilna kiseline fiksira ferocensku jedinicu u konformeru *P*-helične kiralnosti. Intenzitet Cottonovog ovih spojeva poprilično je jak ($\theta \approx 5000$ deg cm^2 dmol^{-1}) i negativnog je predznaka.[47,48]

Heteroanularna supstitucija ferocen-1-1'-diamin homokiralnim peptidima L-aminokiselina uzrokuje *P*-heličnu kiralnost s iznimno jakim ($\theta = 10000 – 60000$ deg cm^2 dmol^{-1}) pozitivnim Cottonovim efektom ferocenskog kromofora. U slučaju hetroanualarne susptitucije ferocen-1-1'-diamin heterokiralnim peptidima, heličnost ferocenske jedinice, a time i predznak Cottonovog efekta ferocena određen je kiralnošću aminokiseline direktno vezane na ferocen. Ponovno se događa da aminokiseline relativne konfiguracije L uzrokuju *P*-heličnu kiralnost ferocenske jezgre (pozitivan Cottonov efekt ferocenske jezgre).[49,50]

Ferocenski peptidni mimetici s fiksiranim ciklopentadienilnim ligandima i posljedično iz toga pojavom helične kiralnosti pogodni su za proučavanje pojedinih vrsta okreta u prirodnim proteinima.

2.8. Konformacijska analiza

Stereoizomeri (među njima i konformeri) jedni su od mogućih minimuma na plohi potencijalne energije, stoga se određivanje konformera svodi na pretraživanje minimuma plohe potencijalne energije uz zadržavanje iste konektivnosti molekule. Određivanje globalnog minimuma (najstabilniji konformer) preko gradijenta i Hesseove matrice funkcije nije moguće bez poznavanja analitičkog izraza funkcije što je upravo slučaj kod ovisnosti energije molekule o njezinoj geometriji – položaju atomskih jezgara (zbog toga se koriste numeričke metode). Optimizacijske metode odvest će početnu geometriju u najbliži lokalni minimum. Čak i određivanje konformera (stereoizomeri koji rotacijom oko jedne ili više formalno jednostrukih veza mogu prijeći jedni u druge) spoja s npr. tri minimuma za rotaciju oko svake jednostruke veze, uzastopnim rotacijama tri puta za 120° redom po vezama, već za spojeve s 15−20 jednostrukih veza postaje vremenski toliko dugo da takvo pretraživanje nije praktično, a za veće spojeve čak ni izvedivo.

2.8.1. Monte Carlo i stohastičke metode

U metodi Monte Carlo iz početno zadane geometrije (obično lokalni minimum) slučajnim se pomakom koordinata jednog atoma (ili grupe atoma – npr. metilna skupina) generiraju nove geometrije.[51] Odabir atoma za slučajno pomicanje također je nasumičan. Zbog pomicanja samo jednog atoma molekularnom mehanikom nije potrebno računati potencijalnu energiju cijele molekule nego samo energiju povezanu s dotičnim pomakom. Ako je energija novogenerirane geometrije manja od energije geometrije iz koje je dobivena, novogenerirana geometrija uzima se kao početna točka za sljedeću perturbaciju (nasumični pomak). Obrnuto, kada novodobivena geometrija ima veću energiju od energije geometrije iz koje je generirana, može se ili ne mora zadržati za sljedeći perturbacijski korak, što se određuje računanjem Boltzmannovog faktora ($e^{-\Delta E/kT}$) i njegovim uspoređivanjem sa slučajnim brojem između 0 i 1. Ako je Boltzmannov faktor veći od slučajnog broja, novodobivena geometrija uzima se za početnu u sljedećem perturbacijskom koraku, a ako je manji, novodobivena geometrija se odbacuje. Upotrebom Boltzmannovog faktora dozvoljava se „kretanje“ po plohi potencijalne energije u smjeru veće energije te će dobiveni skup geometrija slijediti Boltzmannovu raspodjelu. Zadržane nasumično generirane geometrije naknadno se optimiziraju.

Za razliku od metode Monte Carlo stohastičke metode provode slučajni pomak svih atoma s većim slučajnim pomakom nego u metodi Monte Carlo. Novodobivena geometrija odmah se optimizira. Za generiranje novih struktura moguće je varirati veličinu slučajnog pomaka. Sljedeći perturbacijski korak kreće od zadnjeg pronađenog minimuma ili nekog minimuma iz skupa svih do tada pronađenih minimuma, pri čemu se pojedini minimumi „važu“ faktorom vjerojatnosti.

2.8.2. Molekularna mehanika

Optimizacija geometrije kvantno-mehaničkim metodama kod relativno velikih molekula postaje računalno jako zahtjevna. Da bi se, uz „limitirane“ računalne resurse, optimizacija velikih molekula ubrzala, potrebno je promijeniti način računanja energije dane geometrije (velike) molekule, s time da optimizacija geometrija tim načinom računanja mora dati takve minimume iz kojih je moguće dobro razlikovanje pojedinih konformera neke molekule. Jedan od drukčijih, a puno bržih, postupaka (u odnosu na kvantnu mehaniku) računanja energije molekule jest molekularna mehanika. U molekularnoj mehanici elektroni, odnosno elektronski

oblaci atoma, ne uzimaju se direktno u obzir. Tako su atomi opisani „kuglicama“, a različitost elektronskih oblaka (posredni opis elektrona) uzima se u obzir indirektno putem konstanti koje opisuju ovisnost interakcija atoma o njihovim udaljenostima preko energijskih doprinosa kojima su opisane vezne i nevezne interakcije. Veze između atoma opisuju se elastičnim oprugama; veze se razlikuju po duljinama i konstantama elastičnosti opruga. Energija određene geometrije molekule računa se preko opisa interakcija u molekuli jednostavnim modelima (npr. opis istezanja veze istezanjem opruge) kao odstupanje od „ravnotežno“ definiranih geometrijskih parametara (npr. duljina veze, vezni kutovi, torzijski kutovi, …). Ravnotežni geometrijski parametri definiraju se na osnovi eksperimentalnih podataka ili računalnih dobivenih kvantno-mehaničkim računima na višoj razini teorije. Ravnotežni geometrijski parametri i jednadžbe kojima se iz položaja jezgara atoma računa energija molekula zovu se polje sila. Pretpostavlja se sličnost ravnotežnih geometrijskih parametara u različitim, a opet sličnim molekulama. Ipak, kada različitost među određenim skupinama spojeva poraste iznad neke granice, pojavljuju se značajnija odstupanja u geometrijskim parametrima, zbog čega univerzalnost polja sila nije potpuna nego pojedino polje sila dobro opisuje određenu skupinu spojeva. Svojstva pojedinih veza u polju sila nisu samo definirana u ovisnosti o vrsti atoma koji tvore vezu, već postoje i različiti parametri za određenu vezu ovisno koji su susjedni atomi toj vezi (različite kemijske okoline). Analogno vrijedi i za svojstva samih atoma. Ukupna energija molekule u molekularnoj mehanici jednaka je zbroju energija modela za opise interakcija u molekuli te su najčešće pojedini članovi: energija istezanja veze, energija savijanja kuta, energija torzije, energija neveznih interakcija (van der Waalsova i elektrostatska energija). Energija istezanja veze opisuje se harmoničkim potencijalom (najčešće), Morseovim potencijalom ili razvojem u Taylorov red pri čemu se zadržavaju viši članovi reda. Izrazom analognim Hookeovom zakonu za oprugu opisuje se energija istezanja kuta. Moguću je i opis istezanja kuta razvojem u red. Prva tri člana Fourierovog reda dovoljna su za opis energija torzija. Van der Waalsove interakcije najčešće se opisuju Lennard-Jonesovim potencijalom. Coulombovim zakonom opisuje se elektrostatska interakcija.

2.9. Modeliranje ferocena molekularnom mehanikom

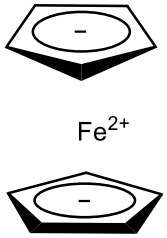
Specifičnosti građe ferocena da sadrži željezov kation na koji su vezana dva ciklopentadienilna aniona preko elektrona iz π-veza (bis(η^5-ciklopentadienil)željezo(II)), uzrokuju puno teže modeliranje ferocena (metaloorganski spoj) s obzirom na modeliranje organskih molekula. Razvijeno je nekoliko različitih pristupa modeliranja ferocena. Izbor najboljeg pristupa ovisi o proučavanom problemu. Jednostavniji modeli dovoljni su za opis uklapanja ferocena u neku drugu molekulu. Detaljno određivanje konformacijskog prostora molekule koja sadrži ferocensku jedinicu zahtijeva složenije metode modeliranja ferocena.

2.9.1. Model krutog tijela

U modelu krutog tijela ferocen se opisuje nepromjenjivom geometrijom, pri čemu se tijekom optimizacije zadržavaju sve duljine veza i vezni kutovi konstantnima. Sve duljine, kako veza međusobno tako i kutova međusobno, u pojedinom ciklopentadienilnom prstenu jednakih su vrijednosti što znači da jezgre ugljikovih atoma ciklopentadinelinog liganda leže u vrhovima pravilnog peterokuta. Budući da su duljine veza i iznosi kutova fiksirani, ne postoji parametrizacija modela. Ovako definiran model ferocena onemogućuje interakciju između željezova(II) iona i ciklopentadienilnih liganada, zbog čega model ne može dobro opisati dinamičke efekte i rotaciju (jer je fiksiran kut) prstenova oko osi koja prolazi kroz njihova središta.[52, 53]

2.9.2. Model elektrostatskih i van der Waalsovih interakcija

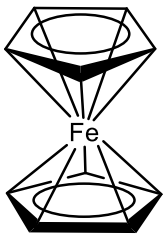
U ovom modelu povezanost željezovog iona i ciklopentadienilnih liganada ostvarena je „samo“ putem neveznih interakcija, elektrostatskih i van der Waalsovih.[54] Model zahtijeva parametrizaciju naboja. Elektrostatske i van der Waalsove interakcije ne opisuju u potpunosti sile koje drže dijelove ferocena na okupu jer koordinativno kovalentna veza ima i kovalentni karakter. Slika 26 prikazuje strukturu ferocena modeliranog putem elektrostatskih i van der Waalsovih interakcija. Model je pogodan u slučajevima kada je za proučavanje presudan volumen molekule, a ne konformacija molekule.[55] Općenito, za ostale spojeve, pristup je prikladniji za metale čije su veze većinski ionskog karaktera (alkalijski i zemnoalkalijski metali).



Slika 26. Strukturna formula ferocena modeliranog putem elektrostatskih i van der Waalsovih interakcija.

2.9.3. Model σ-veze

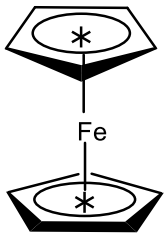
Struktura ferocena modelira se povezivanjem željezova(II) iona i ciklopentadienilnog liganda *σ*-vezama. Svakom ugljikovom atomu ciklopentadienilnih liganada doda se valencija više kako bi se svih deset ugljikovih atoma dvaju ciklopentadienilnih liganda *σ*-vezama povezalo s željezovim(II) ionom. Slika 27 prikazuje strukturu ferocena opisanog modelom σ-veze. Svi parametri zadani su implicitno osim kutova definiranih željezovim i ugljikovim atomima (eksplicitno zadanim parametrima onemogućava se savijanje prstenova). Iako model *σ*-veze za opis ferocena sliči stvarnom povezivanju željeza i ciklopentadienilnih liganada, njegova implementacija u molekularnu mehaniku predstavlja ogromne probleme za izračunavanje, npr. povezivanje *σ*-vezama definirani su tročlani (susjedni) prstenovi čije su promjene kutova/duljina veza, za međusobno pomaknute ciklopentadienilne prstenove međusobno zavisne.[56]



Slika 27. Struktura ferocena opisanog modelom σ -veze.

2.9.4. Model prividnog atoma

Kao i u modelu *σ*-veze povezanost željezovog iona i ciklopentadienilnih liganada definira se *σ*-vezama, ali ne između željeza i ugljikovih atoma ciklopentadienilnih liganada nego željezovog iona i prividnog atoma. Slika 28 prikazuje strukturu ferocena opisanog modelom prividnog atoma. Postoje dvije različite verzije modela.



Slika 28. Struktura ferocena opisanog modelom prividnog atoma.

U prvoj verziji prividni atom nalazi se u centroidu ciklopentadienilnog liganda te je jednom kovalentnom vezom povezan sa željezovim ionom, i s pet veza s ugljikovim atomima unutar određenog ciklopentadienilnog liganda.[57] Veze koje uključuju prividne atome opisane su vlastitim konstantama sila. Ovakav model jednostavno je implementirati u molekularnu mehaniku. Nepostojanje prividnog atoma odnosno veza koje su mu pripisane ne može se u potpunosti ignorirati jer vezani prividni atom uzrokuje neke artefakte. Potrebne su velike konstante sila da bi se prividni atom zadržao na mjestu centroida. Također, uvođenjem nepostojećih veza posljedično se uvode i nepostojeći vibracijski modovi istih, zbog čega metoda ne opisuje realistično konstante sila koje djeluju na atome u molekuli

Sa svrhom realističnog opisa konstanti sila izvedena je druga verzija metode. U njoj prividni atom nema masu nego samo položaj određen s pet ugljikovih atoma ciklopentadienilnog liganda i naziva se centroid.[58,59] Prednost ovakvog pristupa jest ta što se prividni atom može pozicionirati i izvan središta ravnine ciklopentadienilnog liganda, npr. u slučajevima kada je ciklopentadienilni ligand asimetrično supstituiran. Istezanje veza željezo-prividni atom i savijanje kutova željezo-prividni atom-ugljik opisani su zasebnim skupom parametara. Položaj prividnog atoma kontinuirano se izračunava za vrijeme optimizacije. Iako veze i kutovi definirani uostalom preko prividnih atoma imaju pripisane konstante sila, algoritam metode funkcionira tako da se sve sile povezane s prividnim atomom preraspodjeljuju na (stvarne) atome u molekuli, pa tako na prividnom atomu više nema sile (različite od nule).

2.10. Teorija funkcionala gustoće (DFT)

Valna funkcija sustava s N elektrona ovisi o $3N$ prostornih i N spinskih koordinata. Elektronska gustoća povezana je s kvadratom valne funkcije integriranom preko $(N - 1)$ prostornih elektronskih koordinata i N spinskih koordinata pa ovisi samo o tri prostorne koordinate. Proizlazi da dok kompleksnost valne funkcije raste eksponencijalno (u smislu rješavanja matematičkog problema) s brojem elektrona, elektronska gustoća ima isti broj varijabli (tri) neovisan o kompleksnosti sustava (broju elektrona). Nadalje, elektronska energija osnovnog stanja u potpunosti je određena elektronskom gustoćom (Hohenberg–Kohnov teorem) i svaka kvantno-mehanička veličina može se dobiti iz elektronske gustoće. Za jednoelektronski sustav može se inverznim postupkom od uobičajenog rješavanja Schrödingerove jednadžbe iz poznate elektronske gustoće izračunati elektronska energija, ali za višeelektronske sustave ne postoji eksplicitna formula koja povezuje elektronsku gustoću i energiju. Zato je cilj metode teorije funkcionala gustoće (engl. *Density functional theory*, DFT) dizajnirati funkcional koji povezuje elektronsku gustoću i energiju.[60] Strogo matematički definirano funkcional je operator čija je domena vektorski prostor, a kodomena skup realnih brojeva. U kontekstu metode DFT funkcional je operator (funkcija) koja funkciji (elektronska gustoća) pridružuje skalar (elektronska gustoća). „Pravi“ DFT, odnosno DFT ustrojen na prethodno opisanima postavkam, uz dobivanje zadovoljavajućih rezultata, moguće je primijeniti na jednolični elektronski plin, modelom kojim je moguće opisati valentne elektrone metala. Dodavanjem članova ovisnih o derivacijama elektronske gustoće, što odgovara opisu nejednoličnog elektronskog plina, ne postižu se zadovoljavajući opis strukture molekula. Glavni je nedostatak loša reprezentacija kinetičke energije. Uspješnu primjenu metode DFT u računalnoj kemiji uvođenjem orbitala omogućili su Kohn i Sham. Njihova osnovna ideja bila je zamijeniti višečestični sustav interagirajućih elektrona sa sustavom neinteragirajućih elektrona takvim da daje istu elektronsku gustoću. Ovakav DFT pristup konceptualno je sličan Hartree-Fockovoj teoriji (HF) jer se i u teoriji Hartree-Fockovoj kinetička energija elektrona računa uz pretpostavku neinterakcije s drugim elektronima (odnosno uzeta je kao uprosječena vrijednost).[61] Za razliku od metode HF, metoda DFT sadržavat će opis elektronske korelacije kao zasebni član te zbog toga daje bolje rezultate od metode HF. Međutim, uvođenje orbitala ponovno je povećalo kompleksnost sustava na $3N$ varijabli (kompleksnost u teoriji HF). Druga temeljna ideja Kohna i Shama bila je zapisati potencijal (funkcional elektronske gustoće) na određeni način, čime se dobije da se funkcional kinetičke energije razdvoji u dva člana od čega se jedan može egzaktno

izračunati i energija koju daje jednaka je HF kinetičkoj energiji te korekcijskog člana (izmjensko-korelacijski funkcional). Razlika u kinetičkoj energiji dobivenoj uz pretpostavku da nema interakcija između elektrona i „točne“ kinetičke energije sadržana je u izmjensko-korelacijskom članu jedinim nepoznatim funkcionalom (ovisi o elektronskoj gustoći) u ovoj teoriji. Relativno grube aproksimacije posljednje spomenutog člana vode ka poprilično točnim računalnim modelima. U velikoj mjeri izmjensko-korelacijski članovi ugođeni su empirijski. Prema obliku funkcionala za izmjensko-korelacijsku energiju razlikuju se metode DFT. Prikladnost funkcionala često ovisi o vrsti sustava i analiziranim svojstvima. Elektronska korelacija u DFT-u jednostavnija je od ostalih metoda kojima se opisuje korelacija. Problemi teorije DFT jesu ovisnost rezultata o odabiru izmjensko-korelacijskog funkcionala, odnosno nemogućnost sustavnog poboljšanja rezultata i slabi opis van der Waalsovih interakcija kod starijih funkcionala.

2.11. Vremenski ovisna teorija funkcionala gustoće (TDDFT)

Koncept vremenski ovisne teorije funkcionala gustoće (engl. *Time-dependent density functional theory*, TDDFT) sličan je konceptu DFT-a.[62] Vremenski ovisan Hamiltonijan sadrži iste operatore kinetičke energije elektrona i potencijalne energije interakcije elektrona kao statički Hamiltonijan. Međutim, za razliku od operatora potencijala elektrona u polju jezgara statičkog Hamiltonijana, ovdje se koristi vremenski ovisan operator vanjskog potencijala (uključuje utjecaj električnog polja svih jezgara na elektron pri primjeni vanjskog električnog polja). Vremenski ovisna Schrödingerova jednadžba ovisi o početnoj višečestičnoj valnoj funkciji koja opisuje stanje sustava u početnom trenutku (često $t = 0$). Ovisno u kojem se stanju u početnom trenutku sustav nalazi, ona može i ne mora biti jednaka valnoj funkciji osnovnog stanja. U praktičnoj primjeni početno stanje sustava obično je osnovno stanje. Pod utjecajem vremenski ovisnog potencijala dolazi do promjene valne funkcije sustava. Postoji puno različitih vrsta vremenskih evolucija sustava. Mnoge od njih pripadaju jednom od dvaju sljedećih slučajeva. Prvi, kratkom intenzivnom pobudom sustav se prevodi u neravnotežno stanje nakon čega pod utjecajem statičkog potencijala evoluira u vremenu. Drugi, sustav se nalazi u ravnotežnom stanju te u nekom trenutku na njega počinje djelovati vremenski ovisan potencijal. TDDFT omogućava opis oba ova dinamička slučaja. U svrhu toga izvedena je

dinamička verzija Kohn-Shamovih jednadžbi koje omogućavaju provođenje propagacije kvantnog sustava u vremenu pod utjecajem vremenski ovisnog potencijala počevši od arbitrarnog početnog stanja.[63] Praktična primjena TDDFT-a zahtijeva: pogodnu aproksimaciju vremenski ovisnog izmjensko-korelacijskog potencijala, numeričko rješavanje Kohn-Shamovih jednadžbi te izračunavanje fizikalnih veličina (opservabli) iz vremenski ovisne elektronske gustoće.[64]

Vremenski ovisan efektivni potencijal u vremenski ovisnoj Kohn-Shamovoj jednadžbi jednak je zbroju vanjskog potencijala, Hartreejevog potencijala i izmjensko-korelacijskog potencijala. Za vremenski ovisan vanjski potencijal u mnogim se slučajevima može uzeti:

$$v(\mathbf{r},t) = v_0(r) + \theta(t-t_0)v_1(\mathbf{r},t) \quad (1)$$

Vremenski ovisan izmjensko-korelacijski potencijal funkcional je vremenski ovisne elektronske gustoće, valne funkcije početnog stanja i početnog stanja Kohn-Shamovog „sustava“. Budući da je u praktičnoj primjeni početno stanje sustava obično osnovno stanje, u tom slučaju, zahvaljujući Hohenberg-Kohnovom teoremu, početno stanje postaje funkcija elektronske gustoće (osnovnog stanja) pa izmjensko-korelacijski funkcional postaje funkcional ovisan samo o elektronskoj gustoći. Ovisnost izmjensko-korelacijskog potencijala o elektronskoj gustoći nije trivijalna. Naime, izmjensko-korelacijski potencijal u nekoj točki prostora i vremena ovisi o elektronskim gustoćama u svim ostalim točkama prostora u svakoj prethodnoj točki vremena. Najčešće korištena aproksimacija za izmjensko-korelacijski potencijal jest adijabatska aproksimacija.[63] Prema njoj, izmjensko-korelacijski potencijal u bilo kojem trenutku jednak je izmjensko-korelacijskom potencijalu osnovnog stanja. Adijabatska aproksimacija točna je za beskonačno sporu evoluciju sustava koji je u osnovnom stanju u bilo kojem trenutku, što se naravno u praksi ne događa. Zato je jedno od najbitnijih pitanja u TDDFT-u unutar kojih okolnosti vrijedi adijabatska aproksimacija. Numerička istraživanja pokazala su da adijabatska aproksimacija ne vrijedi u slučaju kada se sustav jako brzo mijenja, no to i dalje podrazumijeva mnoge slučajeve kada daje dobre rezultate.[65,66] Uslijed njezine jednostavnosti, velika većina vremenski ovisnih Kohn-Shamovih računa koristi adijabatsku aproksimaciju ili njoj sličnu dobivenu zamjenom elektronske gustoće osnovnog stanja s trenutnom vremenski ovisnom elektronskom gustoćom. Izvedeno je samo nekoliko primjena TDDFT-a s neadijabatskom aproksimacijom.

Kod većine slučajeva primjene spektroskopije sustavi su podvrgnuti malim perturbacijama tako da ne odstupaju puno od početnog stanja. U tim slučajevima nije nužno odrediti potpuno

rješenje vremenski ovisne Schrödingerove jednadžbe ili vremenski ovisnih Kohn-Shamovih jednadžbi nego se za određivanje spektralnih svojstava sustava može koristiti perturbacijska teorija. Primjena potencijala (jednadžba 1) koji se može tretirati kao mala perturbacija na sustav u osnovnom stanju, uzrokovat će (malu) promjenu u sustavu te će elektronska gustoća postati vremenski ovisna. Elektronska gustoća u nekom trenutku može se razviti u red takav da je prvi član elektronska gustoća osnovnog stanja, drugi je linearni odziv elektronske gustoće (promjena prvog reda), treći je promjena drugog reda (kvadratni odgovor elektronske gustoće) i tako dalje. S obzirom na to da je perturbacija (primijenjeni potencijal) mala, promjena elektronske gustoće prvog reda dominira nad promjenama višeg reda. Od tuda potječe naziv teorije – teorija linearnog odziva. U slučaju jake perturbacije moguće je da razvoj u red ne konvergira. Tada više smisla ima riješiti vremenski ovisnu Schrödingerovu jednadžbu ili Kohn-Shamove jednadžbe.[63]

2.12. Modeliranje otapala kontinuumom

Modeliranje otapala izuzetno je važan dio računalne kemije jer se energija (i struktura) molekule u otopini može drastično razlikovati od njezine energije/strukture u vakuumu. Modeliranje utjecaja otapala okruživanjem (otopljene) molekule molekulama otapala, da bi se dobio realističan opis utjecaja (eksplicitnog) otapala na strukturu otopljene tvari, zahtijeva uključivanje stotina ili tisuća molekula otapala u sustav. Naravno, takvi su računi vremenski i računalno izuzetno zahtjevni, što vodi k tome da je za modeliranje otapala (eksplicitnim) molekulama otapala molekularna dinamika metoda računanja primarnog izbora.[67] Aproksimiranjem otapala kontinuumom (implicitno otapalo) problem određivanja elektronske strukture molekule u tekućini svodi se na veličinu molekule.[68]

Dakle, najopćenitije se pristup modeliranju otapala može podijeliti na: modeliranje otapala eksplicitnim molekulama otapala, metode koje otapalo tretiraju kao kontinuum (homogeni dielektrični medij) i metode koje kombiniraju oba prethodna pristupa. Metode koje kombiniraju eksplicitni i implicitni pristup modeliranja otapala, npr. mogu biti takve da prvu solvatacijsku ljusku modeliraju eksplicitnim molekulama otapala, a nakon čega slijedi opis otapala kontinuumom. Unutar pojedine dvije, odnosno tri, metode modeliranja otapala koristi se klasični i/ili kvantno-mehanički računi.

Efekti solvatacije mogu se podijeliti na nespecifične, njihov je utjecaj dugog dosega, i na specifične utjecaje kratkog dosega. Nespecifični su polarizacija otapala i orijentacija električnih multipola molekula otapala prema otopljenoj tvari (obično su dipol interakcije najznačajnije), dok su specifični: vodikove veze, van der Waalsove interakcije, struktura hidratacijskih ljuski, prijenos naboja i hidrofobni efekt. Za određivanje svih navedenih solvatacijskih efekata potreban je molekularni (eksplicitni) opis otapala, pri čemu kvaliteta rezultata ovisi o realističnosti opisa interakcija otapalo-otopljena tvar i otapalo-otapalo.

Nespecifični solvatacijski efekti mogu se odrediti modeliranjem otapala kao kontinuuma.[67] Model kontinuuma otapalo opisuje kao homogeni dielektrični medij karakteriziran (relativnom) permitivnošću (ε odnosno ε_r) otapala, još zvanom dielektrična konstanta. Kod nehomogenih medija permitivnost je funkcija pozicije u materijalu.[68] Iako su strukture molekula različitih jednokomponentnih otapala drukčije, različita jednokomponentna otapala mogu imati jednaku (ili približno jednaku) dielektričnu konstantu. Model opisa otapala homogenim dielektričnim medijem, različita otapala jednakih dielektričnih konstanti opisivat će jednako. Tako će aceton (ε_r = 20,7) i propan-1-ol (ε_r = 20,1), približno istih dielektričnih konstanti, model kontinuuma jednako opisivati iako ta dva otapala imaju različitu sposobnost tvorbe vodikovih veza. Različit (specifičniji) opis dvaju otapala približno jednakih dielektričnih konstanti postiže se uključivanjem drugih fizikalnih veličina otapala u model.

Otapanje molekule implicitnim otapalom modelira se „stavljanjem“ molekule u šupljinu odgovarajućeg oblika napravljenu u otapalu kontinuumu. Kreiranjem šupljine, odnosno brisanjem dijela kontinuuma u prostoru definiranom šupljinom, otapalo na granici šupljina-otapalo gubi dio okruženja drugim otapalom (više nije potpuno okruženo samo otapalom kao izabrani djelić otapala negdje u kontinuumu; pojavljuje se površinska napetost) iz čega proizlazi da je tvorba šupljine nepovoljan proces – pozitivna vrijednost Gibbsove energije. Entalpijski i entropijski doprinos Gibssovoj energiji za tvorbu šupljine posljedica su toga da otapalo na granici otopljena tvar-kontinuum nije okruženo samo otapalom, nego i šupljinom.[67] Šupljini s umetnutom molekulom definira se manja permitivnost u odnosu na okolni dielektrični medij, a često se postavlja da je jednaka permitivnosti vakuuma ($\varepsilon_{r,vakuum}$ = 1), što je zadovoljavajuće ako se otopljena tvar tretira polarizabilnom.[68]

Oblik šupljine najjednostavnije je modelirati sferom ili elipsoidom. Prednost aproksimacije šupljine pravilnim geometrijskom tijelom (npr. sfera) jest mogućnost analitičkog računanja elektrostatskih interakcija između otopljene tvari i dielektričnog medija. Realističniji opis

površine dobiva se preklapanjem sfera svih atoma čija su središta u jezgrama atoma, a radijusi jednaki van der Waalsovim radijusima, pa se zbog toga tako dobivena površina naziva van der Waalsovom površinom. Površina molekule može imati male šupljine u koje otapalo zbog svoje veličine ne može ući. Otapalu dostupna površina aproksimira se površinom dobivenom „kotrljanjem“ sfere, radijusa određenog s veličinom molekule otapala, po površini molekule otopljene tvari. Slika 29, na prikazu presjeka hipotetske molekule, prikazuje van der Waalsovu površinu molekule i otapalu dostupne površine molekule.

Slika 29. Shematski prikaz (razlike) van der Waals-ove površine (tamnoplava krivulja) i otapalu dostupne površine (narančasta krivulja) na presjeku hipotetske molekule.[69]

Razlika van der Walsove površine i otapalu dostupne površine često je mala pa se zbog veće računalne kompleksnosti otapalu dostupne površine više koristi van der Waalsova površina. Volumen molekule, odnosno oblik šupljine moguće je računati i iz elektronske gustoće tako da se odabere konturna razina do koje se određuje volumen molekule.

U molekuli postoji nejednolika raspodjela naboja i u takvim je točkama elektrostatski potencijal različit od nule. Stavljanjem molekule u dielektričan medij mijenja se raspodjela naboja u molekuli pod utjecajem medija. Tretira li se medij polarizabilnim kontinuumom, što je puno realniji od opisa samo kontinuumom, ne samo da medij utječe na raspodjelu naboja u molekuli nego i molekula polarizira medij. Elektrostatski utjecaj otapala na otopljenu tvar i otopljene tvari na otapalo međusobno ovise jedan o drugome. Elektrostatski potencijal nastao uslijed polarizacije dielektričnog kontinuuma i polarizacije otopljene tvari naziva se reakcijsko polje. Samousklađeno reakcijsko polje (konačni potencijal) izračunava se rješavanjem nehomogene elektrostatske Poissonove jednadžbe numeričkom integracijom, tzv. algoritam IEF-PCM (engl. *Integral Equation Formalism of Polarizable Continuum Model*).[70] Razlika nehomogene i homogene Poissonove jednadžbe jest u poziciji ovisnoj/neovisnoj permitivnosti. Samousklađeno reakcijsko polje zapravo je jednako elektrostatskom doprinosu solvatacijskoj

Gibbsovoj energiji. U rješavanju nehomogene elektrostatske Poissonove jednadžbe koristi se elektronska gustoća. PCM (engl. *Polarizable Continuum Model*) i SMD (engl. *Solvation Model Based on Density*) solvatacijski su modeli bazirani na elektronskoj gustoći.[71,68] Postoji i drugi način prema kojem se ne rješava nehomogena Poissonova jednadžba već se određuje reakcijsko polje u okviru Bornove aproksimacije.[72] Ona polazi od Coloumbovog zakona i otopljenu tvar tretira putem točkastih naboja (atomskih) smještenih u položajima jezgri atoma. Uz standardnu promjenu Gibbsove energije za stvaranje šupljine (pozitivnog predznaka) i standardnu promjenu Gibbsove energije elektrostatskih interakcija, standardna solvatacijska Gibbsova energija sadrži i treći član, standardnu promjenu Gibbsove energije disperznih interakcija.

Princip modeliranja kemijskog okruženja molekula kontinuumom ne samo da se može primijeniti na modeliranje otapala nego je njime moguće i modeliranje supramolekulskih sustava.[71]

Pretpostavka da su interakcije otopljene tvari i otapala neovisne o strukturi otapala (model kontinuuma) nije zadovoljavajuća kada postoje jake interakcije između otopljene tvari i jedne ili više molekula otapala iz prve solvatacijske ljuske (npr. vodikova veza, jednoatomski ioni, π-π interakcije slaganja).[68]

2.13. Teorija QTAIM

2.13.1. Osnove teorije

Korištenje kriterija za postojanje vezne interakcije između dvaju atoma samo u slučaju kada je udaljenost jezgara dvaju atoma manja od sume van der Waalsovih radijusa nije apsolutan kriterij jer su mogući i slučajevi postojanja vezne interakcije u slučajevima udaljenosti jezgara veće sume van der Waalsovih radijusa. Također, iako nisu u veznoj interakciji, dva atoma mogu biti prostorno bliska samo zato što su putem, jačih, stabilizirajućih, interakcija iz drugih dijelova molekule dovedeni u takav (blizak) položaj.

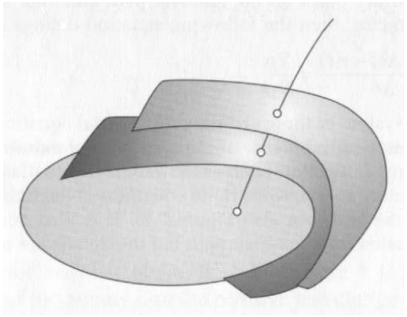
Egzaktnije je postojanje vezne interakcije moguće odrediti analizom elektronske gustoće dobivene kvantno-mehaničkim računima ili difrakcijom rendgenskih zraka u kristalu. Interpretativna metoda analize elektronske gustoće zove se kvantna teorija atoma u molekulama

(*Quantum Theory of Atoms in Molecules*, QTAIM) teorija. Njome je, osim veznih interakcija, moguće odrediti i druga svojstva atoma u molekuli.

Prvi od matematičkih alata za analizu elektronske gustoće jest gradijent elektronske gustoće. Gradijent neke skalarne funkcije vektorska je funkcija čije su pojedine koordinatne funkcije parcijalne derivacije (ukoliko ih funkcija posjeduje) te skalarne funkcije redom po varijablama. Za *f* skalarnu funkciju n varijabli (x_1, x_2, …, x_n) gradijent je jednak

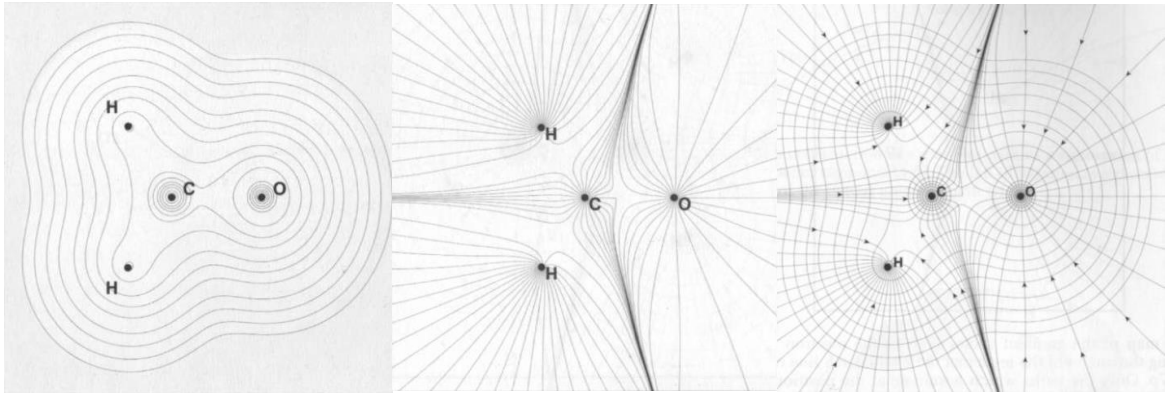
$$\nabla f(x_1, x_2, \ldots, x_n) = \left(\frac{\partial f}{\partial x_1}, \frac{\partial f}{\partial x_2}, \ldots, \frac{\partial f}{\partial x_n}\right)$$

Uređenoj n-torci gradijent pridružuje uređenu n-torku i takve vektorske funkcije imaju posebno ime – vektorsko polje. Gradijent skalarne funkcije dviju varijabli izračunat u nekoj točki određuje vektor normale na tangencijalnu ravninu (ravninu koja se najbolje priljubljuje uz plohu) u toj točki plohe (graf skalarne funkcije više varijabli). Tako je gradijent na plohu konstantne elektronske gustoće (skalarna funkcija dviju varijabli) u nekoj točki okomit na tangencijalnu ravninu na plohu konstantne elektronske gustoće u toj točki. Krivulja takva da je u bilo kojoj njezinoj točki vektor određen gradijentom elektronske gustoće u toj točki tangencijalan na krivulju zove se staza gradijenta ili trajektorija. Slika 30 prikazuje dio staze gradijenta.



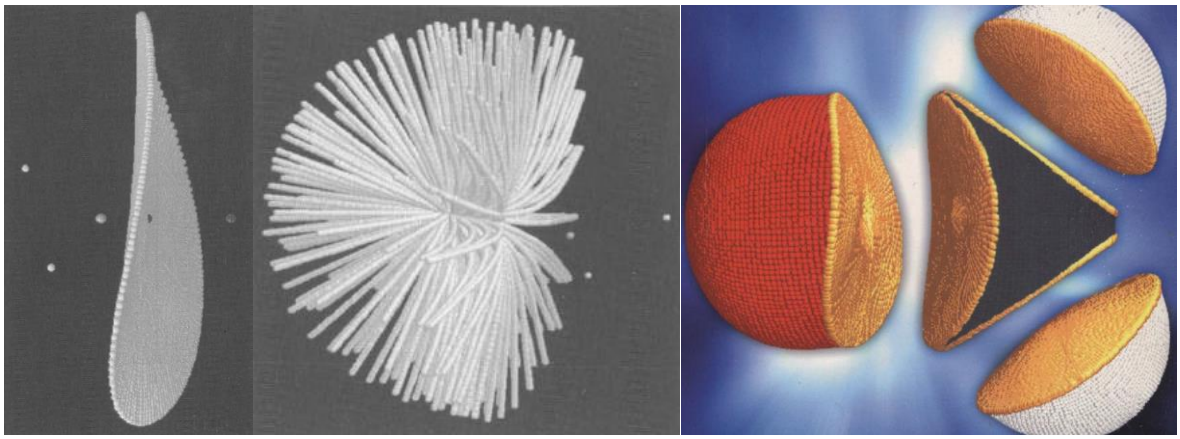
Slika 30. Grafički prikaz dijela određene staze gradijenta i tri plohe konstantne elektronske gustoće.[73]

Trajektorije započinju ili završavaju u točkama u kojima je gradijent jednak nulvektoru (kritične točke elektronske gustoće). Trajektorije se ne presijecaju. U dvodimenzijskom prikazu molekula obično se prikazuje konačan broj konturnih razina konstantnih elektronskih gustoća i konačni broj staza gradijenata. Slika 31 na linearnom presjeku molekule metanala prikazuje odabrani broj konturnih razina i staza vektora.



Slika 31. Linearni presjek odabranih konturnih razina konstantne elektronske gustoće molekule metanala (lijevo). Grafički prikaz odabranih staza vektora na linearnom presjeku molekule metanala (sredina). Preklopljene lijeva i srednja slika (desno).[73]

Većina prikazanih trajektorija završava u nekoj od jezgara (maksimumi elektronske gustoće), tzv. nuklearnim atraktorima. Svaka jezgra dominira određenim dijelom prostora. Međutim, postoje trajektorije koje počinju u beskonačnosti i ne završavaju u nekom od nuklearnih atraktora nego u nekoj točki između nuklearnih atraktora koja se naziva kritična točka veze. Dakle, kritična točka veze ne sadrži nijednu trajektoriju koja pripada nekoj od jezgara. Trajektorije koje počinju u beskonačnosti i završavaju u istoj kritičnoj točki veze određuju plohu zvanu međuatomska ploha. Slika 32 (lijevi dio) prikazuje međuatomsku plohu između kisikovog i ugljikovog atoma molekule metanala. Međuatomska ploha predstavlja egzaktnu granicu između atoma. Dio molekule koji pripada određenom atomu omeđuju međuatomske plohe, a naziva se atomski bazen (slika 32, srednji i desni dio).



Slika 32. Međuatomska ploha između ugljikovog i kisikovog atoma u molekuli metanala (lijevo). Atomski bazen kisikovog atoma u molekuli metanala (sredina). Atomski bazeni pojedinih atoma molekule metanala (desno).[73]

Sve trajektorije u prostoru nekog molekulskog atoma (atomskog bazena) počinju u beskonačnosti i završavaju u jezgri tog atoma. Očito, molekulski atomi specifični su za svaku pojedinu molekulu.

Poznavanjem jasno definiranih granica atoma u molekuli (međuatomske plohe), integriranjem pojedinog svojstva unutar prostora određenog atomskim bazenom, moguće je odrediti svojstva pojedinih atoma kakva su volumen atoma ili elektronska populacija. Kao praktična vanjska granica za integriranje obično se uzima elektronska gustoća od 0,00001 a.u.

U kritičnoj točki veze elektronska gustoća postiže maksimum s obzirom na dvije dimenzije i minimum s obzirom na treću dimenziju, odnosno u smjeru okomitom na tangencijalnu ravninu u kritičnoj točki, što znači da je matematički gledano kritična točka veze sedlasta točka (drugog reda). Nakon što su preko uvjeta da je u njima gradijent jednak nulvektoru pronađene kritične točke, iste se mogu razlikovati računanjem matrice drugih derivacija. Uz nuklearni atraktor (maksimum elektronske gustoće) i kritičnu točku veze (sedlasta točka drugog reda) moguće su još dvije vrste kritičnih točaka, a to su kritična točka prstena (sedlasta točka prvog reda) i kritična točka kaveza (minimum elektronske gustoće). Hesseova matrica jest matrica koja na *i*-toj i *j*-toj poziciji sadrži parcijalnu derivaciju po *i*-toj i *j*-toj varijabli (parcijalna derivacija drugog reda). Dijagonalizacijom Hesseove matrice dobiva se matrica sa svim elementima, osim onih na dijagonali matrice, jednakim nuli (tzv. dijagonalna matrica). Elementi na dijagonali jednaki su svojstvenim vrijednostima te je prema njihovom predznaku moguće odrediti vrstu kritične točke. Klasifikacija kritičkih točaka prema svojstvenim vrijednostima, rangu i predznaku traga (zbroj elemenata na dijagonali) Hesseove matrice daje tablica 2.

Tablica 2. Klasifikacija kritičnih točaka prema svojstvenim vrijednostima, rangu i predznaku traga Hesseove matrice.

naziv kritične točke	vrsta kritične točke	predznaci svojstvenih vrijednosti			rang	trag
		λ	λ	λ		
nuklearni atraktor	maksimum	–	–	–	3	–3
kritična točka veze	sedlasta točka	–	–	+	3	–1
kritična točka prstena	sedlasta točka	–	+	+	3	+1
kritična točka kavez	minimum	+	+	+	3	+3

Uz Hesseovu matricu dodatnu informaciju o topologiji elektronske gustoće moguće je dobiti i korištenjem Laplaciana elektronske gustoće. Laplacian je jednak zbroju dijagonalnih elemenata Hesseove matrice, odnosno zbroju parcijalnih derivacija drugog reda po svakoj od varijabli. Interpretacija Laplaciana skalarne funkcije jest da daje informaciju o lokalnoj „koncentriranosti" funkcije. Laplacian lokalno koncentrirane funkcije manji je od nule dok za vrijednosti Laplaciana veće od nule funkcija nije lokalno koncentrirana. Kako bi pozitivan predznak funkcije određivao lokalnu koncentriranost (intuitivno lakše), uvedena je funkcija *L* definirana kao negativna vrijednost Laplaciana.

2.13.2. Kriteriji za opis vodikove veze

Kao dodatak dotadašnjim kriterijima za opisivanje vodikove veze temeljenim na spektroskopskim metodama i difrakcijom rendgenskih i neutronskih zraka, Koch i Popelier predložili su dodatnih osam kriterija temeljenih na teoriji QTAIM.[74] Kriterij QTAIM za opis vodikove veze izvedeni su na osnovi primjera za koje je postojećim metodama jasno objašnjena vodikova veza. Prvi kriterij za opis vodikove veze jest potvrda postojanja kritične točke između vodika i akceptora vodikove veze. Ovaj kriterij može izgledati trivijalan, no s njime treba paziti budući da interakcije mogu biti samo anomalije za opaženu konformaciju (veza postoji u konformaciji koja nije dominantan najstabilniji konformer). Vrijednost elektronske gustoće u kritičnoj točki veze mora imati vrijednost u rasponu između 0,002 i 0,04 a.u. (za neutralne molekule). Treći kriterij jest vrijednost *L* funkcije. Njezina vrijednost za vodikovu vezu mora biti u rasponu između −0,15 i −0,02 a.u. Četvrti kriterij odnosi se na tzv. prodiranje vodikova atoma i atoma akceptora jednog u drugog. Prodiranje se računa iz veznih i neveznih radijusa. Vezni radijus dobiva se kao udaljenost jezgre do određene konturne razine konstantne elektronske gustoće, a vezni kao udaljenost jezgre atoma do kritične točke veze. Ostali kriteriji ne odnose se više na lokalne vrijednosti svojstava nego na njihove integrirane vrijednosti. Peti kriterij odnosi se na gubitak elektrona na vodikovom atomu. Gubitak elektrona na vodikovom atomu u korelaciji je s odsjenjenjem protona praćenim NMR spektroskopijom pri tvorbi vodikove veze. Energijsko destabiliziranje vodikovog atoma jednako razlici ukupne atomske energije vodikovog atoma u dimeru (kompleksu s vodikovom vezom) i monomeru šesti je kriterij. Sedmi kriterij jest smanjenje dipolarne polarizacije vodikovog atoma kao posljedica gubitka nevezne elektronske gustoće na vodikovom atomu. Posljednji, osmi kriterij, vezan je za smanjenje volumena vodikovog atoma uslijed nastajanja vodikove veze. Neki od kriterija

međusobno su povezani. Primjena navedenih kriterija ograničena je za intramolekulske vodikove veze. U tom slučaju nije jasno definiran referentni vodikov atom.

U istraživanju vodikovih veza na skupini ilida pronađeno je da se predznak Laplaciana elektronske gustoće u kritičkoj veze i predznak gustoće energije (energija normirana po volumenu) H mogu iskoristiti kao kriteriji za određivanje jakosti vodikove veze.[75] Tablica 3 sistematizira podjelu jakosti vodikovih veza prema prethodno navedenim kriterijima.

Tablica 3. Podjela jakosti vodikovih veza prema energiji interakcije (E_{int}) odnosno Laplacianu elektronske gustoće i gustoće energije (H).

jakost vodikove veze	E_{int} / kcal mol^{-1}	$\nabla^2\rho$	H
slaba	< 12	> 0	> 0
umjerena	12 – 24	> 0	< 0
jaka	> 24	< 0	< 0

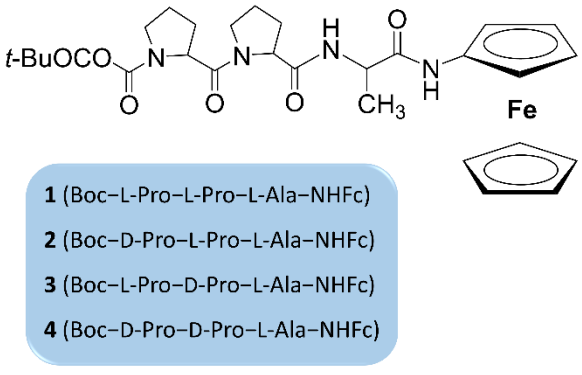
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Izbor modelnih spojeva

Spojevi izabrani za proučavanje u ovom radu osmišljeni su tako da proučavanje geometrije njihovih najzastupljenijih konformera i pripadnih CD spektara pruži uvid u ključne geometrijske parametre o kojima ovisi maksimum ferocenskog kromofora u CD spektrima (Cottonov efekt) monosupstituiranih ferocenskih peptida. Spojevi istraživani u ovom radu podijeljeni su u četiri skupine.

3.1.1. Aminoferocenski tripeptidi Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc

Prvu skupinu spojeva čine svi konfiguracijski izomeri ferocenskog peptida Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc (aminoferocena supstituiranog tripeptidom dvaju prolina i jednog alanina). Boc je kratica za *tert*-butiloksikarbamoil (*t*-BuOCO) zaštitnu skupinu. Svaka aminokiselina u spoju Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc može imati relativnu konfiguraciju L ili D pa ukupno postoji osam konfiguracijskih izomera navedenog spoja među kojima su četiri para spojeva u enantiomernom odnosu. Slika 33 prikazuje strukturnu formulu spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc uz prikaz jednog izomera iz svakog od četiri enantiomerna para skraćenim formulama i oznakama spojeva korištenih u ovom radu.

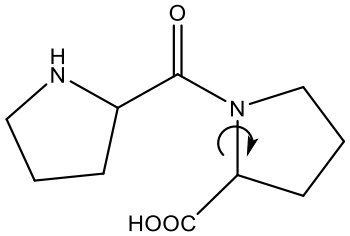


Slika 33. Strukturna formula spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc i sažete formule jednog stereoizomera iz svakog od četiri enantiomerna para te oznake stereoizomera rabljenih u ovom radu.

Ferocenski peptidi Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc u odnosu na prethodno proučavane ferocenske peptide Boc−Pro−Ala−NHFc sadrže peptidni lanac duži za jedan prolin te je na takvom, većem,

skupu konfiguracijskih izomera bilo moguće proučiti ovisi li predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora o središnjoj kiralnosti određene aminokiseline i/ili heličnoj kiralnosti peptida i/ili strukturi vodikovih veza peptidnog lanca i/ili o nekim drugim geometrijskim parametrima.[7]

Prolin je aminokiselina građena tako da je njezin bočni ogranak vezan na amino-skupinu α-ugljikovog atoma u peteročlani prsten. Povezanost bočnog ogranka i amino-skupine rigidnim prstenom dovodi do ograničene rotacije (slika 34), u usporedbi s drugim aminokiselinama, oko veze definirane prolinskim α-ugljikovim atomom i prolinskim dušikovim atomom ($\phi = -60 \pm 30°$).

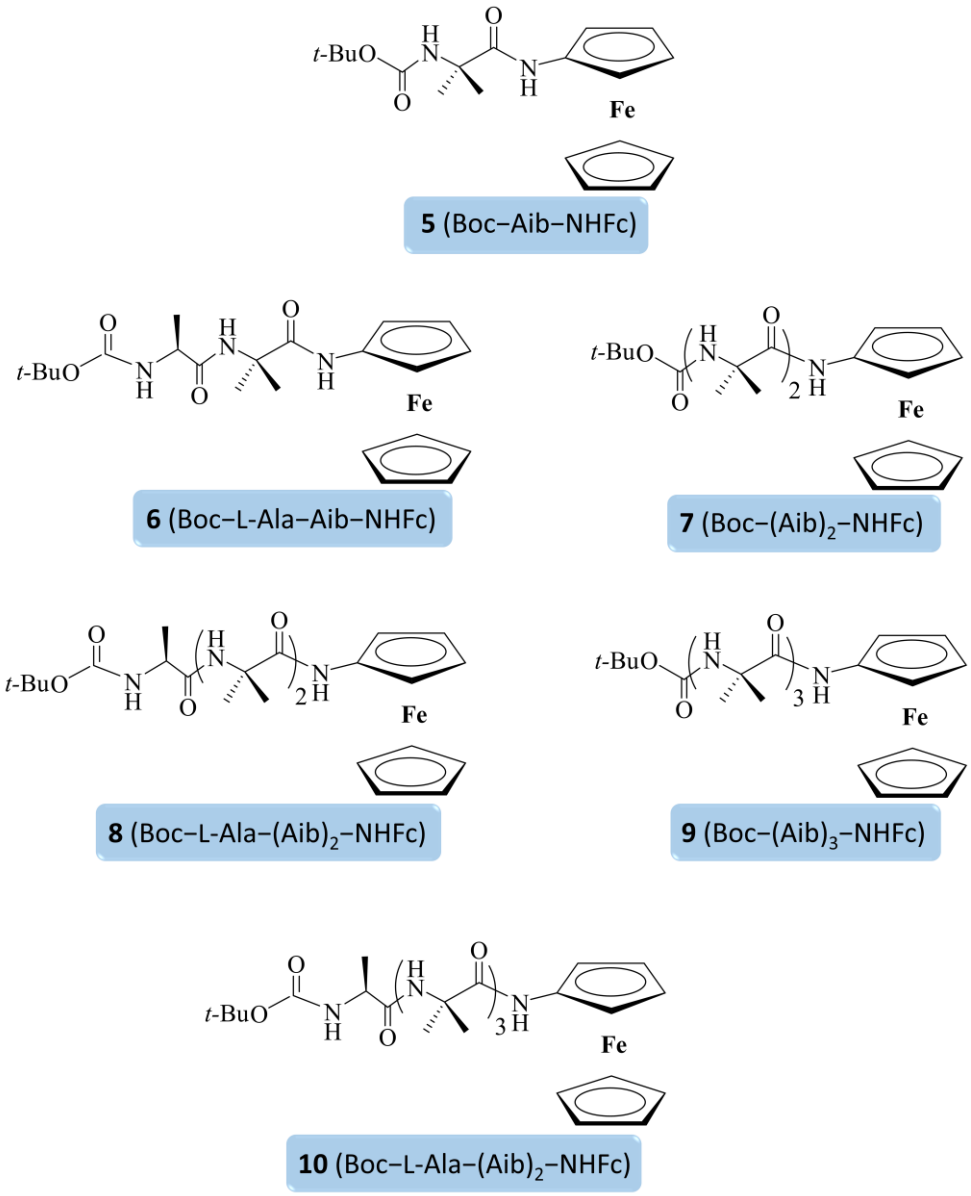


Slika 34. Prikaz ograničene rotacije oko α-C–N veze u diprolinskom dipeptidu.

Ograničena konformacijska sloboda peptidne veze čini prolin pogodnom građevnom jedinkom peptidnih okreta, stoga je prolin najčešći aminokiselinski ostatak u različitim peptidnim okretima. Ograničavanjem konformacijske slobode dobiva se sustav s manjim brojem konformera, stoga je takav sustav lakše proučavati. To je prvi razlog zašto su za proučavanje izabrani proteini građeni uostalom od prolina. Drugi razlog izbora ferocenskih monopeptida građenih od prolina jest sklonost stvaranja okreta, a treći razlog je stvaranje specifičnih β-okreta u heterokiralnim dipeptidima s prolinom.[76,77]

3.1.2. Aminoferocenski peptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline

Druga skupina spojeva sastavljena je od ferocenskih peptida dobivenih vezanjem aminoferocena na *C*-krajeve 2-amino-2-metilpropanske kiseline (Aib), dipeptida Aib-a i tripeptida Aib-a (Boc−(Aib)$_n$−NHFc, $n = 1 - 3$) i vezanjem aminoferocena na *C*-krajeve peptida L-Ala−Aib, L-Ala−(Aib)$_2$ i L-Ala−(Aib)$_3$ (Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc, $n = 1 - 3$). Slika 35 prikazuje strukture prethodno navedene spojeve druge skupine.



Slika 35. Strukturne formule spojeva s 2-amino-2-metilpropanskom kiselinom (Aib); spojevi od **5** do **10**.

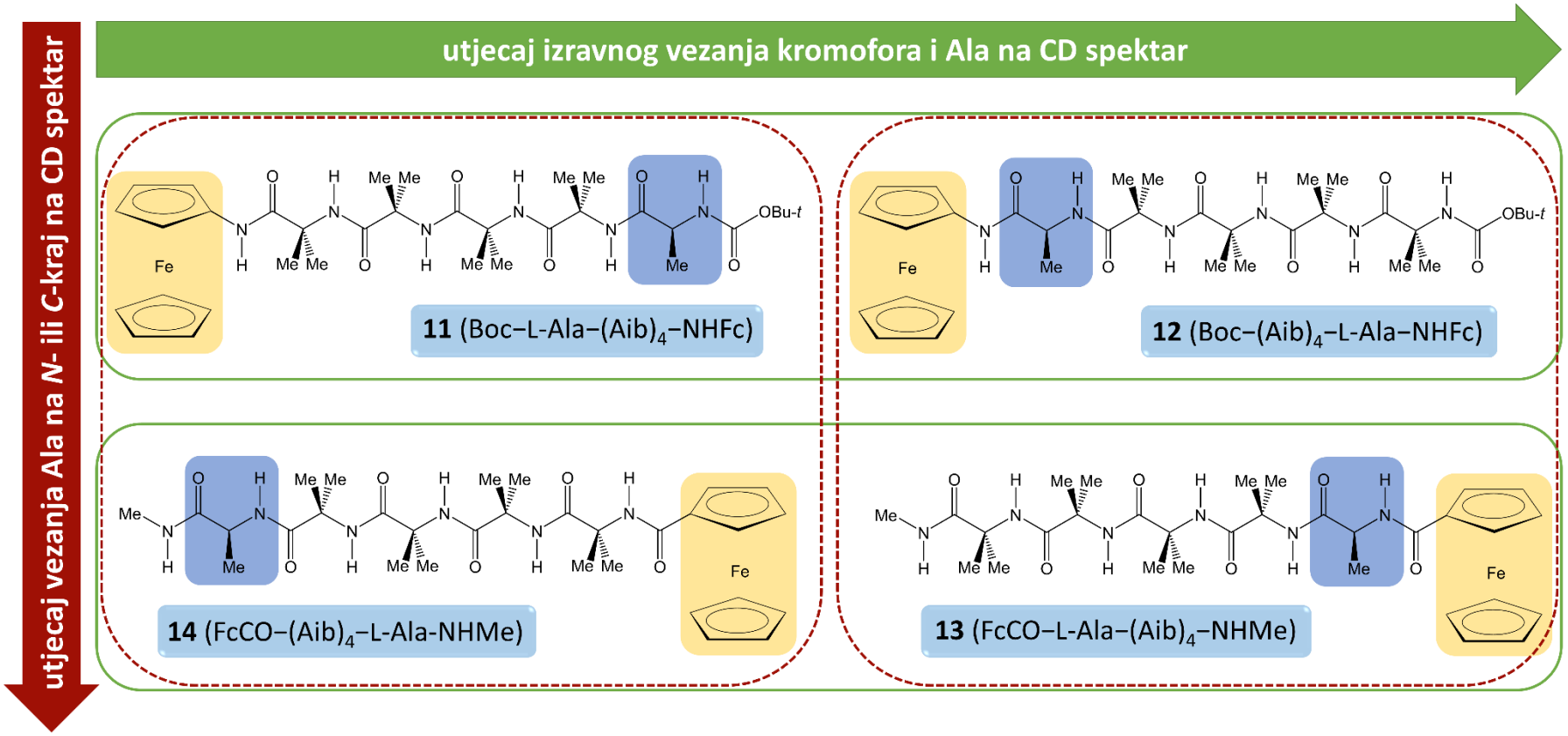
Kao što je bilo rečeno u Literaturnom pregledu, peptid izgrađen od Aib-a obično stvara lijevo i desno zavijenu 3_{10} uzvojnicu jednakih udjela (ukupno sustav ne pokazuje kirooptička svojstva), a vezanjem kiralne aminokiseline na kraj oligomera Aib-a, ovisno o kiralnosti aminokiseline, jedna od dviju heličnosti zavojnice postaje preferirana. Proučavanjem ferocenskih peptida s kiralnom aminokiselinom (L-Ala) vezanom na jednom kraju, a ferocenskom jedinicom na drugom kraju oligomera Aib-a prvo je istraženo prenose li oligomeri Aib-a u ferocenskim peptidima Boc–L-Ala–$(Aib)_n$–NHFc, n = 1 – 3 (spojevi **6**, **8** i **10**), jednoznačno kiralnu informaciju od aminokiseline do ferocena te, drugo, može li ferocenski kromofor poslužiti kao

detektor do njega prenesene kiralne informacije. Budući da se zbog preferiranog stvaranja 3_{10} uzvojnice od strane oligomera Aib-a kod ferocenskih peptida Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc (n = 1 − 3), u odnosu na ferocenske peptide Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc, očekuje manji broj konformera (idealno jedan), u slučaju da ferocenski kromofor osjeća kiralnu informaciju prenesenu preko oligomera Aib-a, kod spojeva Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc (n = 1 – 3) moglo bi se lakše povezati specifične geometrijske parametre, npr. torzijske/diedarske kutove) s iznosom Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Cilj proučavanja ferocenskih peptida Aib-a bila je provjera utjecaja ferocena na konformacijski prostor peptida Aib-a.

3.1.3. Pentapeptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline i L-alanina izvedeni iz ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline

U trećoj skupini spojeva modelirani su konjugati L-alanina, ferocena i tetrapeptida Aib-a. Prvi ferocenski peptid modeliran je vezanjem ferocenske jedinice na *C*-kraj tetrapeptida Aib-a, a L-alanina na *N*-kraj (Boc−L-Ala−(Aib)$_4$−NHFc, spoj **11**), kao što je to bio slučaj i u svim prethodno proučavanim spojevima. Ferocenska jedinica veže se na *C*-kraj u obliku ferocenamina. Sljedeći peptid treće skupine spojeva, u odnosu na prethodni, ima na krajeve tetrapeptida Aib-a obrnuto vezane L-alanin i ferocensku jedinicu (FcCO−(Aib)$_4$−L-Ala−NHMe, spoj **14**). Naravno, ferocenska jedinica na *N*-kraj peptida veže se kao ferocenkarboksilna kiselina. Slika 36 prikazuje spojeve **11** i **14** s označenim položajima L-alanina i ferocena. Usporedbom konformera i CD spektara spojeva **11** (Boc−L-Ala−(Aib)$_4$−NHFc) i **14** (FcCO−(Aib)$_4$−L-Ala−NHMe) istražen je utjecaj dvaju (različitih) mogućih načina vezanja ferocenske jedinice i kiralne aminokiseline (na krajeve tetrapeptida Aib-a) na prijenos kiralne informacije s L-alanina na ferocenski kromofor. Ispitivanje ovog utjecaja u paru spojeva **11** i **14** prikazano je crvenim okvirom (slika 36).

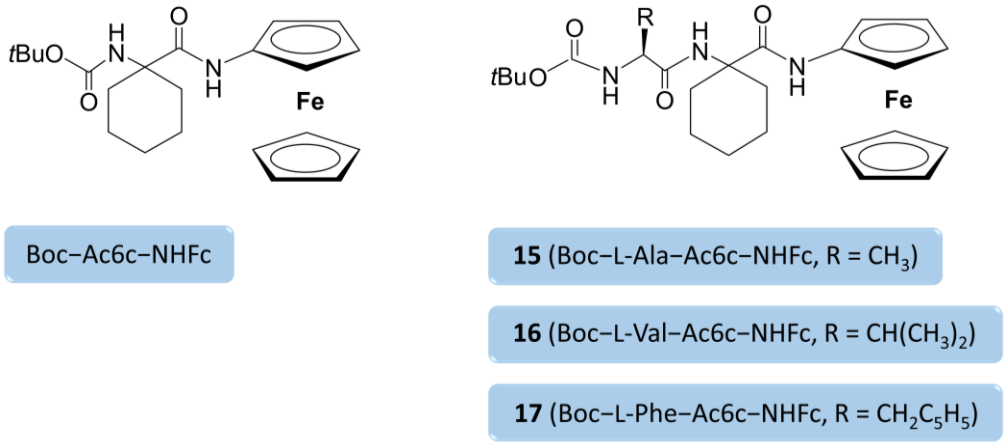
Treći ferocenski peptid u ovoj skupini spojeva modeliran je vezanjem L-alanina između ferocenamina i C-kraja tetrapeptida Aib-a (Boc−(Aib)4−L-Ala−NHFc, spoj **12**). Četvrti je spoj modeliran vezanjem L-alanina između ferocenkarboksilne kiseline i *N*-kraja tetrapeptida Aib-a (FcCO−L-Ala−(Aib)4−NHMe, spoj **13**). Međusobnom usporedbom konformera i CD spektara ferocenskih peptida **11** i **12**, odnosno **13** i **14**, istražen je utjecaj izravnog vezanja kiralne aminokiseline na CD spektar ferocenskog kromofora. Slika 36 prikazuje i spojeve **12** i **13**. Smještanjem spojeva **11** i **12** u jedan zeleni okvir (slika 36), i spojeva **13** i **14** u drugi, prikazana je promjena položaja aminokiseline u spoju **12** u odnosu na spoj **11**, kao i promjena položaja aminokiseline u spoju **13** u odnosu na spoj **14**.



Slika 36. Strukture formule spojeva od **11** do **14**. U strukturama svih spojeva položaju ferocenskog kromofora osjenčani su žutom bojom dok su položaji L-Ala osjenčani plavom bojom. Zelenom bojom uokvireni su konstitucijski izomeri izvedeni iz ferocenamina (**11** i **12**), odnosno ferocenkarboksilne kiseline (**13** i **14**) s različitim položajima L-Ala. Crvenom bojom uokvireni su spojevi s ferocenskim kromoforom vezanim na različite krajeve istog peptidnog lanca.

3.1.4. Aminoferocenski peptidi 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline

Zadnju, četvrtu, skupinu spojeva čine peptidi dobiveni povezivanjem aminoferocena s kiralnim aminokiselinama preko akiralne 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline (Ac6c). Spojevi sadrže L-Ala ili L-Val ili L-Phe, a prikazuje ih slika 37.



Slika 37. Formule vezne crtice spojeva Boc−Ac6c−NHFc; **15**, **16** i **17**.

U literaturi je poznata mogućnost stvaranja β-okreta u peptidima koji sadrže 1-aminocikloheksankarboksilnu kiselinu.[78] Proučavanjem peptida **15**, **16** i **17** istražen je prijenos kiralne informacije s aminokiseline na ferocen putem akiralne poveznice 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline te je istraženo hoće li sterički zahtjevna 1-aminocikloheksankarboksilna kiselina dati reducirani konformacijski prostor u kojem preferirano nastaje jedan konformer.

3.2. Metode korištene u istraživanju

3.2.1. Modeliranje ferocena i pretraga plohe konformacijske potencijalne energije

Modeliranje ferocena (ferocenskih peptida) i pretraživanje plohe potencijalne energije svakog od istraživanih spojeva, sa svrhom određivanja najstabilnijih konformera (jednoznačno određena konektivnost pri pretraživanju), provedeno je programom MacroModel v10.3.[79,80]

Ferocen je u MacroModel-u konstruiran tako da su na središnji željezov(II) ion s dva koordinacijska mjesta linearne geometrije preko prividnih atoma vezana dva ciklopentadienilna liganda. Prividni atomi nalazili su se u centroidima ciklopentadienilnih liganada. Negativni naboj ciklopentadienilnog liganda u MacroModelu nije delokaliziran već je smješten na jednom

od ugljikovih atoma (C atom bez dvostrukih veza) kao što su lokalizirane i dvije dvostruke veze u ciklopentadienilnom ligandu. Za optimizaciju je korištena metoda konjugiranih gradijenata (engl. *Polak-Ribiere Conjugate Gradient,* PRCG). Optimizacije su provođene s maksimalnim brojem iteracija jednakim 50 000 i gradijentom kao kriterijem konvergencije.

Optimizacijska metoda temeljena na Polak-Ribiereov konjugiranom gradijentu prema uputama MacroModela najbolja je optimizacijska metoda među onima dostupnima u MacroModel-u.[81] Od ostalih metoda, u odnosu na prethodnu, Truncated Newtonov konjugirani gradijent (engl. *Truncated Newton Conjugate Gradient*, TNCG) ima prednost kod struktura s vrlo malim gradijentom.

Kada je ferocen početno modeliran izravnim povezivanjem željezova(II) iona linearne geometrije (dva koordinacijska vezna mjesta) s dva ciklopentadienilna liganda preko prividnih atoma smještenih u centroidima liganada, optimiziran bez dodatnih ograničenja, odnosno uz programom zadane osnovne parametre, struktura ferocena dobivena optimizacijom drastično je odstupala od uobičajene strukture ferocena.

Naime, ciklopentadienilni ligandi više nisu bili komplanarni. Zadržavanje uobičajenih relativnih odnosa atoma u ferocenu tijekom optimizacije konstruiranih spojeva, a kasnije i tijekom pretraživanja plohe konformacijske potencijalne energije, postignuto je definiranjem relativno velikih konstanti sila određenim vezama i kutu. Velike konstante sila postavljene su za svaku pojedinu vezu (ukupno deset veza) pojedinog prividnog atoma sa svakim od ugljikovih atoma u određenom ciklopentadienilnom prstenu. Velike konstante sila postavljene su i dvjema vezama željezova(II) iona s prividnim atomima. Posljednje, kutu definiranom željezovim(II) ionom i dvama prividnim atomima također je postavljena velika konstanta sile.

Pretraga plohe konformacijske potencijalne energije provedena je metodom koja je zapravo kombinacija dviju metoda, metode koja koristi nasumični pomak kuta i/ili pozicije atoma i metode koja perturbaciju provodi u smjeru vibracije relativno male frekvencije (engl. *Mixed torsional/Low-mode sampling*) bez uključenih ograničenja za rotacije oko veza (opcija: *torsion sampling – extended*) u vakuumu uz korištenje optimizacijske metode konjugiranih gradijenata (engl. *Polak-Ribiere Conjugate Gradient,* PRCG). Istražen je utjecaj parametara sadržanih u sljedećim poljima sila: OPLS2005, OPLS3e i MMFFs. Istražen je i utjecaj ostalih parametara na skup konformera dobiven pretragom, a to su: maksimalni broj koraka, broj koraka po torzijskoj vezi, gornja granica energije unutar koje se skupljaju strukture.

Kao što je već rečeno, izabrana metoda određivanja konformera kombinacija je pristupa dviju metoda. Metoda *Mixed torsional* je metoda Monte Carlo čiji je nasumični pomak nasumični torzijski kut i/ili pozicija atoma/skupine. Početna geometrija u metodi *Low-mode sampling* (LMOD) geometrija je lokalnog minimuma.[82] Početnoj geometriji lokalnog minimuma izračunaju se normalne vibracijske frekvencije. Među podskupovima svih vibracija, tj. među vibracijama relativno malih vibracijskih frekvencija, za perturbaciju nasumično se odabire jedna takva vibracija. Perturbacija se provodi fiksnim korakom u smjeru nasumično odabrane vibracije relativno male vibracijske frekvencije tako da se odvija putem energijskog minimuma s obzirom na jedan stupanj slobode, i putem energijskih maksimuma s obzirom na sve preostale stupnjeve slobode. Proizlazi da su dva uzastopna lokalna minimuma povezana sedlastom točkom. Nepostojanje potrebe za definiranjem varirajućih torzijskih kutova u metodi LMOD daje joj prednost za istraživanje sustava bez njegovog prethodnog detaljnog poznavanja. LMOD je jako efikasan, ali može pretražiti samo lokalno područje plohe potencijalne energije. Zato njezina kombinacija s visoko efikasnom metodom Monte Carlo u globalnom pretraživanju daje istovremeno najbržu i najefikasniju metodu za raznolike sustave. Kombinacija ovih metoda pokazala se uspješnom za zahtjevnija konformacijska pretraživanja kakovo je npr. pretraživanje konformacijskog prostora liganda u aktivnom mjestu enzima.[81]

Najpogodnijim poljem sila pokazalo se OPLS2005. Polje sila OPLS3e nepravilno je opisivalo interakciju željezova(II) iona i karbonilnih kisikovih atoma. Skup konformera sadržavao je mnoštvo konformera s karbonilnim kisikovim atomima orijentiranim prema željezovom ionu ferocena. Također, konvergencija uz polje sila OPLS3e bila je puno sporija ili optimizacije nisu konvergirale.

MacroModel ima opciju provođenja optimizacija i pretraživanja ploha konformacijski potencijalnih energija u oktanolu, kloroformu i vodi, međutim ni jedno od odabranih (pogodnih) polja sila nema definirane parametre za željezov(II) ion ni u jednom od mogućih otapala. Provedena su preliminarna istraživanja (vakuum) u kojem je željezov(II) ion zamijenjen magnezijevim(II) ionom uz sličnu koordinaciju, ali navedena polja sila nemaju definirane parametre ni za magnezijev ion u otapalima.

3.2.2. Optimizacija geometrija kvantno-mehaničkim metodama

Iz skupa konformera svakog od spojeva dobivenih pretraživanjem plohe konformacijske potencijalne energije molekularnom mehanikom za daljinu optimizaciju kvantno-mehaničkim metodama odabran je dio najstabilnijih konformera; nekoliko stotina, ovisno o veličini proučavanog sustava. Kvantno-mehanički računi provođeni su programom Gaussian16, a korištena kvantno-mehanička metoda za optimizaciju geometrija je teorija funkcionala gustoće.[83,60] U svim izračunima (početno) korišteni su programom zadani kriteriji integracijske rešetke i konvergencije. Optimizacije koje nisu konvergirale, odnosno čija je energija, prije zaustavljanja optimizacije, oscilirala oko određenih vrijednosti provedene su s „finijim" kriterijem konvergencije. Izabrani dio najstabilnijih konformera dobiven molekularnom mehanikom, funkcionalom B3LYP-D3 optimiziran je u vakuumu uz osnovni skup LanL2DZ.[84,85] Među konformerima dobivenima optimizacijom kvantnom mehanikom u vakuumu ponovno je odabran dio najstabilnijih konformera te je u otapalu kloroformu optimiziran teorijom funkcionala gustoće, osnovnim skupom LanL2DZ za željezov atom i 6-311+G(d,p) za sve ostale atome. Otapalo je modelirano polarizabilnim kontinuumom metodama PCM ili SMD. Računanjem vibracijskih frekvencija potvrđeno je da su geometrije dobivene optimizacijom minimumi na plohi potencijalne energije. Nakon što su izračunate vibracijske frekvencije bilo je moguće uključiti termalne korekcije i entropijske doprinose, a konačne energije u radu izražene su kao Gibbsove energije.

3.2.3. Analiza elektronske gustoće teorijom QTAIM

Postojanje međumolekulskih interakcija (vodikovih veza) u spojevima istraženo je analiziranjem elektronske gustoće spojeva (dobivene metodom DFT) metodom QTAIM u programu AIMAll.[86] Vrijednosti topoloških parametara u kritičnim točkama veze između donora i akceptora vodikove veze uspoređene su s vrijednostima definiranima prema Kochu i Popelieru kako bi se potvrdilo postojanje vodikovih veza.[74]

3.2.4. Simulacija CD spektara

Spektri elektronskog cirkularnog dikroizma proučavanih spojeva (njihovih konformera) modelirani su vremenski ovisnom teorijom funkcionala gustoće (TDDFT).[63] U radu je proučavan samo elektronski cirkularni dikroizam (ECD) pa će se zbog jednostavnosti u nastavku teksta iz naziva izostaviti elektronski i koristiti samo kratica CD. Prethodno

optimiziranim geometrijama konformera nekoliko modelnih spojeva metodom DFT funkcionalima B3LYP-D3, CAM-B3LYP, wB97XD izračunati su CD spektri metodom TDDFT uz korištenje istih funkcionala. Na temelju dobivenih rezultata odabran je najpogodniji funkcional za računanje CD spektara.

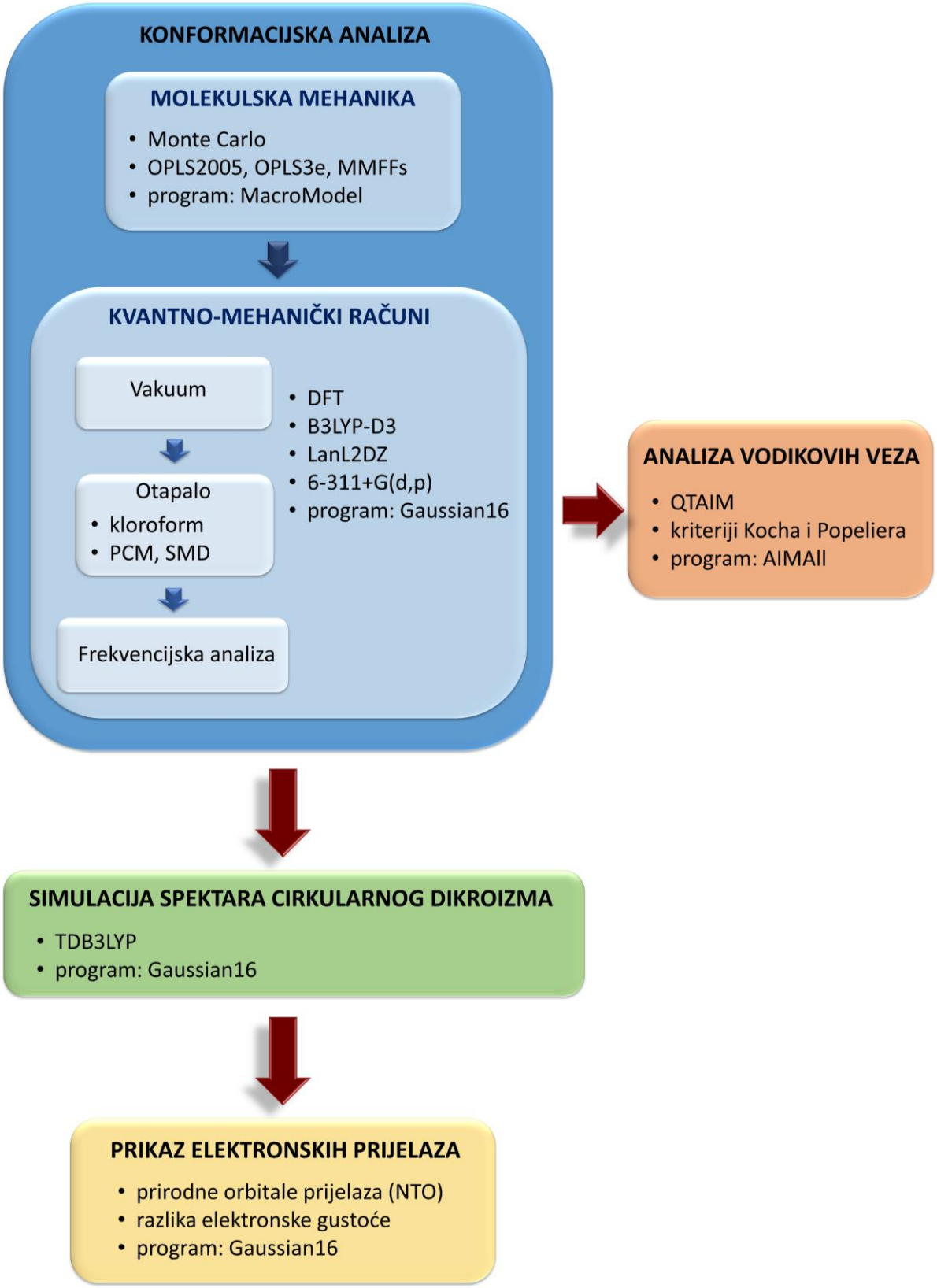
Odabrano je nekoliko spojeva čiji je CD spektar izračunat s nekoliko različitih brojeva elektronskih prijelaza: 10, 20 i 40. Spektri dobiveni modeliranjem 10 i 20 pobuda međusobno su se razlikovali dok su modeliranjem 20 i 40 pobuda dobiveni isti spektri te su u daljnjem radu provedene simulacije s 20 pobuda kao kompromis između kvalitete i brzine računanja.

Svakom od konformera pojedinog spoja, iz skupa najstabilnijih konformera dobivenih u otapalu, metodom TDDFT izračunat je CD spektar. Širenje apsorpcijskih vrpca u otapalu opisano je Gaussovom funkcijom širenja vrpci. Ukupni CD spektar pojedinog spoja dobiven je zbrajanjem CD spektara pojedinih konformera pomnoženih udjelima izračunatima kao omjer Boltzmannovog faktora pojedinog konformera i zbroja Boltzmannovih faktora svih konformera pojedinog spoja. Boltzmannovi faktori izračunati su iz Gibbsove energije konformera, dobivene u sklopu računanja vibracijskih frekvencija, na temperaturi od 298 K.

Pojedini elektronski prijelazi odabranih konformera odabranih spojeva proučeni su računanjem prirodnih prijelaznih orbitala (*Natural Transition Orbitals*, NTO) i razlika elektronskih gustoća pojedinog elektronskog prijelaza i elektronske gustoće osnovnog stanja.[87] Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća izračunate su za prvih šest prijelaza. Razlike elektronskih gustoća prikazane su na razini elektronske gustoće od 0,0004 a.u.

3.2.5. Sažetak metodologije

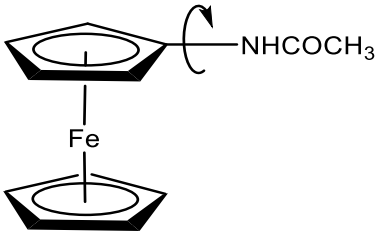
Prethodno opisana metodologija konformacijske analize koja uključuje pretraživanje plohe konformacijske potencijalne energije metodom „Monte Carlo“ i molekularnom mehanikom te postupnim optimiziranju dobivenih konformera kvantno-mehaničkim metodama u radu će se zvati hijerarhijska konformacijska analiza. Svu metodologiju korištenu u ovom radu shematski prikazuje slika 38.



Slika 38. Shematski prikaz metodologije korištene u ovom istraživanju.

3.2.6. Modelni spojevi N-ferocenilacetamid i N-metilferocenamid

Počevši iz geometrije molekularnom mehanikom određenog najstabilnijeg konformera *N*-ferocenilacetamida (Fc−NHCOCH$_3$ ili Fc−NHCOMe) kut između ciklopentadienilnog prstena i na njega vezane amidne skupine (slika 39) postupno je mijenjan za po 10° do prolaska punog kuta.



Slika 39. Strukturna formula *N*-ferocenilacetamida s označenom rotacijom između ciklopentadienilnog prstena i na njega vezane amidne skupine.

Svih 36 tako dobivenih geometrija optimizirano je uz fiksnu vrijednost spomenutog kuta u otapalu modeliranom polarizabilnim kontinuumom metodom PCM. Metodom TDDFT izračunat je CD spektar svim optimiziranim geometrijama uz prijašnje određeni optimalni funkcional i optimalni broj pobuđenih stanja (elektronskih prijelaza).

Prethodno opisan postupak ponovljen je za *N*-metilferocenamid (FcCONHMe).

3.2.7. Računalni resursi

Zahtjevniji računi izvođeni su na klasteru Isabella Sveučilišnog računskog centra SRCE Sveučilišta u Zagrebu i superračunalu SSI Računalnog centra Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.2.8. Eksperimentalno potvrđivanje rezultata

Osim modeliranja konformera, njihovih vodikovih veza i CD spektara metodama računalne kemije većina je izabranih spojeva i sintetizirana u suradnji s istraživačkom grupom izv. prof. dr. sc. Mojce Čakić Semenčić sa Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Pripravljeni spojevi eksperimentalno su okarakterizirani: vibracijskom spektroskopijom (IR), spektroskopijom nuklearne magnetske rezonancije (NMR), NMR titracijama u otapalima kompetirajućima za vodikove veze, temperaturno ovisnima NMR mjerenjima, elektronskim cirkularnim dikroizmom (CD). Eksperimentalno nisu pripravljeni peptidi aminoferocena/ferocenkarboksilne kiseline, L-alanina i tetrapeptida Aib-a, stoga usporedba izračunatih s eksperimentalnim podacima nije bila moguća.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Kirooptička svojstva jednostavnih monosupstituiranih ferocena

Novija računalna i eksperimentalna istraživanja, u našoj grupi, na aminoferocenu supstituiranom dipeptidom glicina, dipeptidom L-alanina i dipeptidom L-valina (Boc−(AK$_i$)$_2$−NHFc; AK$_{i=1}$ = Gly, AK$_{i=2}$ = L-Ala, AK$_{i=3}$ = L-Val) otkrila su da i monosupstituirani feroceni u CD spektru mogu imati vrpcu relativno velikog intenziteta u apsorpcijskom području ferocenskog kromofora (Cottonov efekt) oko 470 nm. Aminoferocen supstituiran dipeptidom glicina nije pokazao Cottonov efekt ferocenskog kromofora dok su druga dva istraživana ferocenska dipeptida pokazala vrpcu relativno jakog, negativnog, intenziteta. Konformacija prethodno navedenih ferocenskih peptida istražena je eksperimentalnim (IR, NMR, CD) i računalnim metodama. Računalna istraživanja pokazala su da je konformacija najstabilnijeg konformera, udjela većeg od 50 %, svih spojeva, stabilizirana vodikovom vezom koja zatvara deseteročlani prsten atoma organizacija kojeg je slična strukturi β-okreta. Dodatkom dimetil-sulfoksida (DMSO), kompeticijskog otapala za tvorbu vodikovih veza, intenzitet maksimuma u CD apsorpcijskom području ferocena smanjio se zbog narušavanja intramolekulskih vodikovih veza u ferocenskim dipeptidima L-alanina i L-valina. Zaključeno je da postoji prijenos kiralne informacije s kiralnog dipeptida na ferocenski CD kromofor.[6] I prijašnji monosupstituirani ferocenski peptidi pokazali su vrpcu u CD apsorpcijskom području ferocena, ali te su vrpce imale mali intenzitet (molarnu eliptičnost). Sukladno otkriću da i monosupstituirani feroceni pokazuju Cottonov efekt ferocenskog kromofora, porijeklo CD spektra ferocenske jedinice u ferocenskom monopeptidu, u odnosu na CD spektar ferocena jednak nulfunkciji, poopćeno je objašnjenjem da ga inducira asimetrična okolina (vezani peptid) u kojoj se nalazi ferocenska jedinica.

U prethodno opisanom istraživanju ferocenski monopeptidi bili su izgrađeni samo od L aminokiselina (pokazuju negativan CD pri $\lambda \approx 470$ nm). S ciljem boljeg razumijevanja odnosa između kiralnog uređenja peptidnog lanca vezanog na aminoferocen i pripadajućeg CD spektra na taj način monosupstituiranog ferocena, pripravljena su i okarakterizirana četiri aminoferocenska peptida dobivena vezenjem dva homokiralna (ista relativna konfiguracija

asimetričnih središta) i dva heterokiralna dipeptida Pro−Ala na aminoferocen (Boc−AK_2-AK_1−NHFc, AK_1 = L/D-Ala, AK_1 = L/D-Pro).[7]

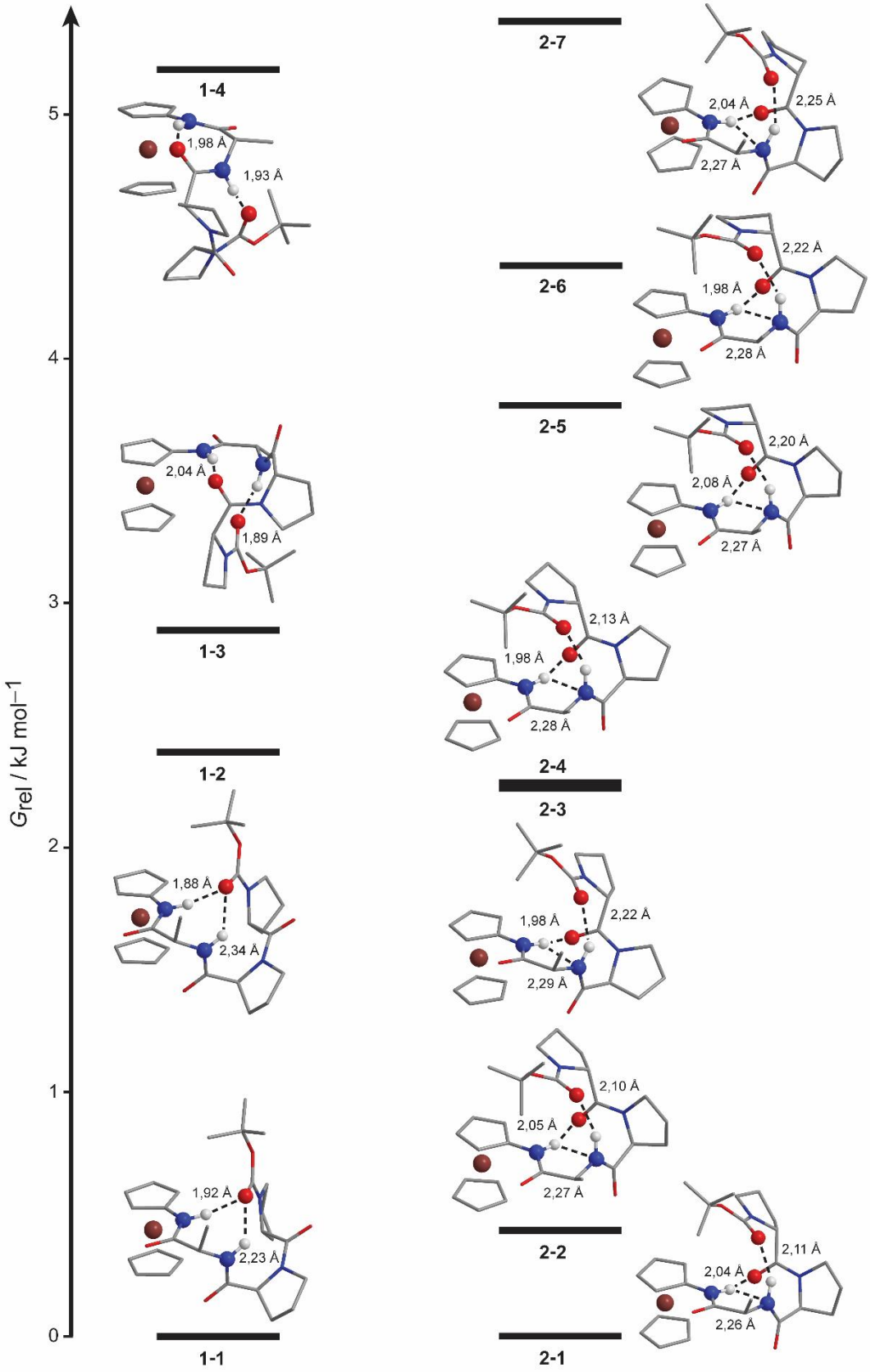
Konformacijska analiza sva četiri aminoferocenska peptida Boc−AK_2−AK_1−NHFc (AK_1 = L/D-Ala, AK_1 = L/D-Pro) provedena je upotrebom eksperimentalnih (NMR, IR, CD) i računalnih metoda te je pokazala postojanje intramolekulskih vodikovih veza u peptidnim lancima. Otkriveno je da promjena relativne konfiguracije aminokiseline na položaju $i + 1$ (prolin) u homokiralnim peptidima (Boc−L-Pro−L-Ala−NHFc, Boc−D-Pro−D-Ala−NHFc), čime se dobivaju heterokiralni peptidi (Boc−L-Pro−D-Ala−NHFc, Boc−D-Pro−L-Ala−NHFc), uzrokuje promjenu sekundarne strukture peptida iz β-okreta u γ-okret. Računalno su istražene i konformacije homo- i heterokiralnog dipeptida Pro−Ala bez ferocenske jedinice. Najstabilniji konformeri ovih dipeptida pokazali su sekundarne strukture β-okreta. Uspoređivanjem, u jednoj grupi konformacija heterokiralnog peptida Pro−Ala i istog vezanog na aminoferocen, i u drugoj skupini homokiralnog peptida Pro−Ala i istog vezanog na aminoferocen, zaključeno je da nastajanje γ-okreta u aminoferocenu supstituiranom heterokiralnim dipeptidima Pro−Ala potiče ferocenska jedinica. Uspoređivanjem kiralnosti pripravljenih ferocenskih peptida i njihovih CD spektara zaključeno je da je predznak CD spektra pri apsorpcijskom maksimumu ferocenskog kromofora (Cottonov efekt ferocenskog kromofora) određen kiralnošću aminokiseline na *N*-kraju. Tako je uočeno da Boc−L-Pro−L-Ala−NHFc i Boc−L-Pro−D-Ala−NHFc imaju negativan Cottonov efekt ($\lambda \approx 470$ nm), dok Boc−D-Pro−D-Ala−NHFc i Boc−D-Pro−L-Ala−NHFc imaju pozitivan Cottonov efekt.

Kao nastavak prethodnih istraživanja, namjera je bila provesti konformacijsku analizu na četiri nove skupine monosupstituiranih ferocenskih peptidomimetika.

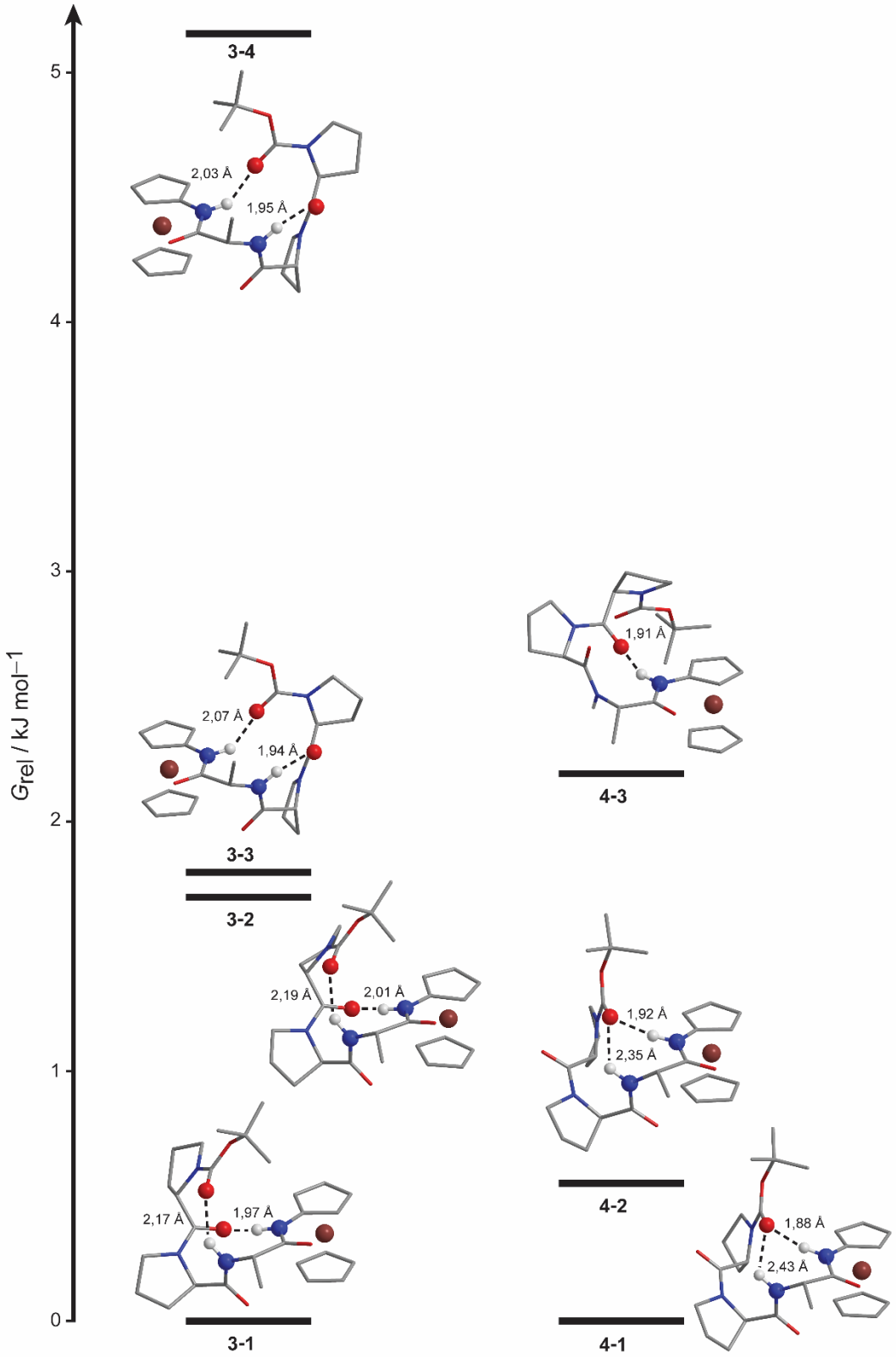
4.2. Aminoferocenski tripeptidi Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc

4.2.1. Konformacijska analiza tripeptida Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc

Od osam konfiguracijskih izomera spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc računalno su proučena četiri jer spoj Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc ima četiri enantiomerna para, čija su skalarna svojstva (npr. energija) jednaka, a pseudoskalarna suprotnog predznaka (npr. vrijednosti torzijskih kutova, CD spektri – zrcalni odnos u enantiomernom paru). Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **1** i **2**, odnosno **3** i **4**, u kloroformu modeliranom implicitno (PCM), prikazane su na dijagramima (slike 40 i 41). Relativna (Gibbsova) energija konformera pojedinog spoja izračunata je s obzirom na konformer najmanje energije tog spoja.

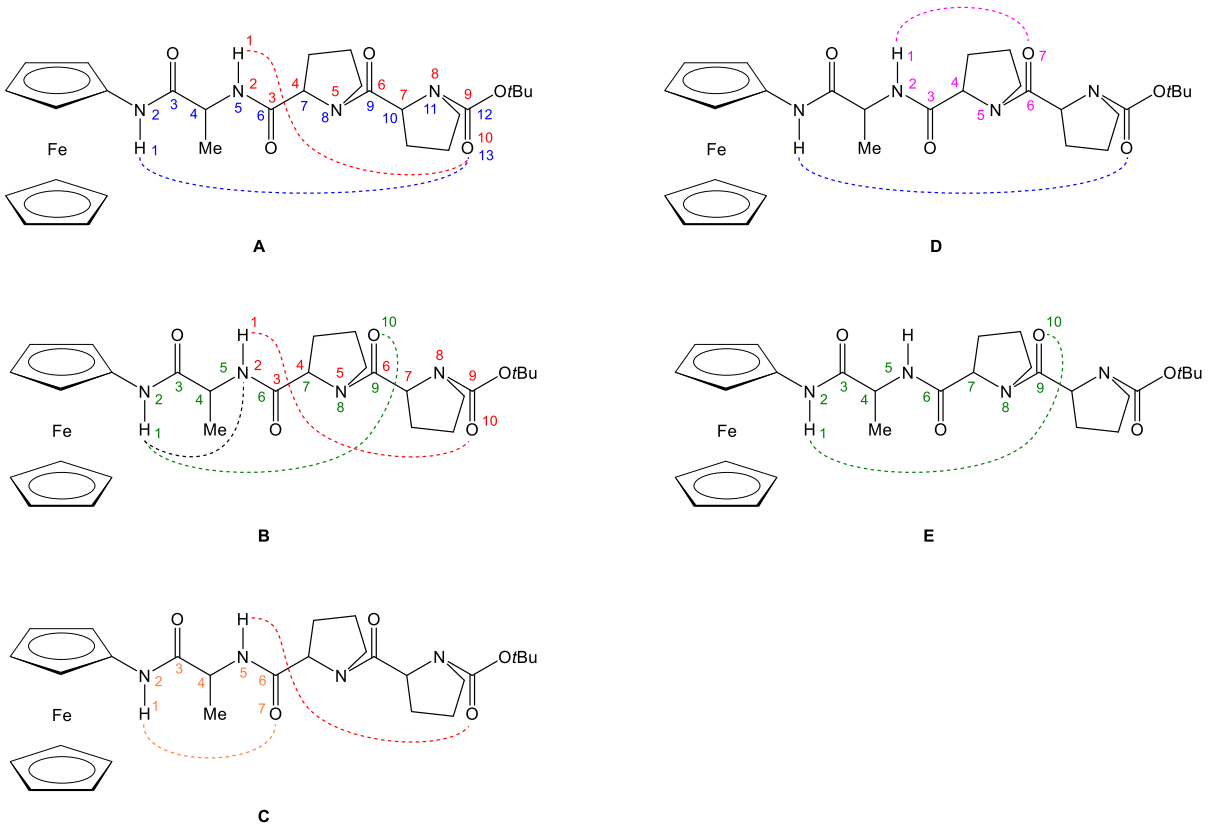


Slika 40. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **1** i **2** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.



Slika 41. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **3** i **4** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.

Intramolekulske vodikove veze pojedinih konformera određene su analizom QTAIM tako da su vrijednosti topoloških parametara u kritičnim točkama veze između vodikovog atoma i njegovog akceptora uspoređene s predloženim vrijednostima Kocha i Popeliera za vodikovu vezu. Ako su vrijednosti bile u odgovarajućem rasponu, vodikove su veze potvrđene te su nacrtane u konformerima na energijskim dijagramima (slike 40 i 41). Prisutnost jedne ili kombinacije nekoliko vodikovih veza u najstabilnijim konformerima definiraju obrazac vodikovih veza koji se može ponavljati u različitim konformerima. Među najstabilnijim konformerima spojeva od **1** do **4** ukupno je pronađeno pet različitih načina stabilizacije peptidnog lanca vodikovim vezama, odnosno pet obrazaca vodikovih veza. Obrasci vodikovih veza pronađeni u konformerima konfiguracijskih izomera spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc prikazuje slika 42, a geometrijske i topološke parametre daje tablica 4 i tablice od P1 do P4 u prilogu rada.

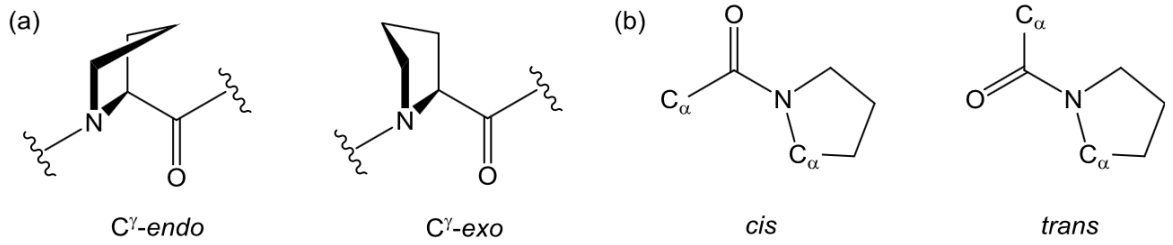


Slika 42. Obrasci vodikovih veza potvrđeni analizom QTAIM u optimiziranim geometrijama najstabilnijih konformera spojeva od **1** do **4**.

Tablica 4. Relativna energija, diedarski kut χ, konformacija prolinskih prstenova, konfiguracija peptidne veze, helična kiralnost, obrasci vodikovih veza, i duljine vodikovih veza najstabilnijih konformera spojeva od **1** do **4**.

oznaka konformera	G_{rel} / kJ mol^{-1}	χ / °	konformacija Pro1	konformacija Pro2	Boc-Pro1-Pro2	helična kiralnost	obrazac vodikovih veza	duljina (X–H⋯Y) / Å $NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$ 13-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{Pro1}$ 10-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{Pro2}$ 7-eročlani	$NH_{Fc}\cdots N_{Ala}$ 5-eročlani	$NH_{Ala}\cdots OC_{Boc}$ 10-eročlani	$NH_{Ala}\cdots OC_{Pro1}$ 7-eročlani
spoj **1**													
1-1	0,00	–78,9	exo	endo	*trans-cis*	*P*	**A**	2,92				3,02	
1-2	2,39	–74,8	endo	exo	*trans-cis*	*P*	**A**	2,88				3,05	
1-3	2,89	75,6	exo	endo	*trans-trans*	*P*	**B**		3,02		2,74	2,87	
1-4	5,18	70,7	exo	endo	*trans-cis*	*P*	**C**			2,90		2,85	
1-5	7,19	75,4	exo	exo	*trans-trans*	*P*	**B**		2,99		2,74	2,87	
1-6	7,25	68,1	endo	exo	*trans-cis*	*P*	**C**			2,90		2,84	
spoj **2**													
2-1	0,00	–106,4	endo	exo	*trans-trans*	*P*	**B**		3,01		2,72	3,05	
2-2	0,44	–86,1	endo	exo	*trans-trans*	*P*	**B**		3,02		2.72	3,07	
2-3	2,14	–98,0	exo	exo	*trans-trans*	*P*	**B**		2,95		2,75	3,09	
2-4	2,16	–82,8	exo	exo	*trans-trans*	*P*	**B**		2,97		2,73	3,07	
2-5	3,81	–85,8	endo	endo	*trans-trans*	*P*	**B**		3,06		2,72	3,15	
2-6	4,36	–79,7	exo	endo	*trans-trans*	*P*	**B**		2,97		2,74	3,15	
2-7	5,38	–104,8	endo	endo	*trans-trans*	*P*	**B**		3,00		2,73	3,15	
spoj **3**													
3-1	0,00	98,3	exo	exo	*trans-trans*	*M*	**B**		2,94			3,03	
3-2	1,70	103,7	endo	endo	*trans-trans*	*M*	**B**		2,98		2,75	3,08	
3-3	1,79	–79,2	endo	endo	*trans-trans*	*P*	**D**	2,95					2,85
3-4	5,17	–77,2	endo	exo	*trans-trans*	*P*	**D**	2,92					2,86
3-5	5,73	95,6	endo	exo	*trans-trans*	*M*	**B**		3,00		2,75	3,02	
spoj **4**													
4-1	0,00	74,1	endo	endo	*trans-cis*	*M*	**A**	2,88				3,07	
4-2	0,55	79,4	endo	exo	*trans-cis*	*M*	**A**	2,93				3.04	
4-3	1,76	81,6	endo	endo	*trans-trans*	*M*	**E**		2,88				
4-4	7,80	68,5	exo	exo	*trans-trans*	*P*	**C**			2,92		2,91	
4-5	7,81	–77,2	exo	endo	*trans-cis*	*P*	**C**			2,84		2,86	

Tablica 4 sadrži relativne energije pojedinih konformera svakog od spojeva pa se relativni odnos energija, osim što ih prikazuju slike 40 i 41, može s konkretnim vrijednostima iščitati iz navedene tablice. Tablica 4 sadrži i duljine vodikovih veza, ali i druge podatke koji opisuju geometriju konformera spojeva od **1** do **4**, kao što je npr. konformacija prolinskih prstenova ili konfiguracija prolinske peptidne veze. Slika 43 prikazuje *endo* i *exo* konformaciju (a dio) prolinskog ostatka u peptidu/proteinu te *cis* i *trans* konfiguraciju peptidne veze u kojoj sudjeluje prolin (b dio).



Slika 43. (a) *Endo* i *exo* konformacija prolinskog ostatka iz proteina. (b) *Cis* i *trans* konfiguracija peptidne veze u kojoj sudjeluje prolin. [88]

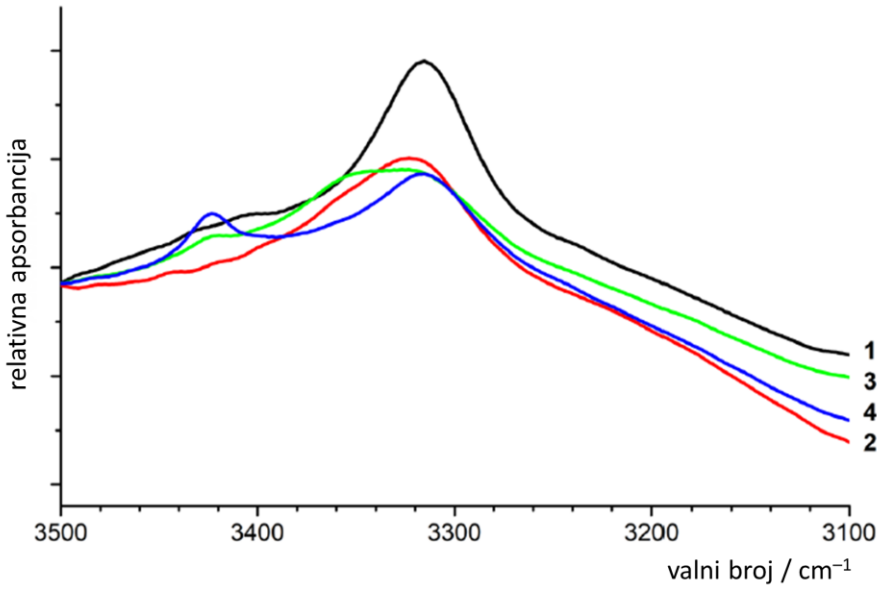
Najstabilniji konformeri spojeva od **1** do **4** pokazuju obrasce vodikovih veza **A** i **B**, dok se obrasci **C**, **D** i **E** uglavnom javljaju kod manje stabilnih konformera. Preciznije, obrascem **A** nabran je peptidni lanac najstabilnijih konformera spojeva **1** i **4**. Račvaste vodikove veze obrasca **A** (slika 42) povezuju uretansku karbonilnu skupinu s amino-skupinom aminoferocena (13-eročlani prsten, $NH_{Fc}\cdots O_{Boc}$) odnosno amino-skupinom L-alanina (10-eročlani prsten, $NH_{Ala}\cdots O_{Boc}$). Obrazac vodikovih veza **B** prisutan u najstabilnijim konformerima **2** i **3** sadrži dva uzastopna β-okreta (10-eročlani prsten): $NH_{Fc}\cdots OC_{Pro1}$ i $NH_{Ala}\cdots OC_{Boc}$. Konformeri pojedinog spoja s istim obrascem vodikovih veza razlikuju se samo u konformaciji pirolidinskih prstenova ili heličnoj kiralnosti.

U spojevima od **1** do **4** kao najčešći strukturni motiv zapažen je β-okret stabiliziran vodikovom vezom (10-eročlani prsten, $NH_{Ala}\cdots O_{Boc}$) između amino-skupine alanina i uretanskog karbonilnog kisikovog atoma. Ovaj β-okret može biti „dodatno stabiliziran" različitim intramolekulskim vodikovim vezama pri čemu nastaju **A** i **B** obrasci vodikovih veza. Tako je β-okret u obrascu **A** dodatno stabiliziran vodikovom vezom koja zatvara 13-eročlani prsten ($NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$), dok je u obrascu **B** vodikovim vezama koje zatvaraju 5-eročlani ($NH_{Fc}\cdots N_{Ala}$) i 10-eročlani prsten ($NH_{Fc}\cdots O_{Pro}$).

Sljedeće što se može uočiti iz struktura najstabilnijih konformera spojeva od **1** do **4**, podskupu (isključeni su njihovi enantiomeri) konfiguracijskih izomera spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc, da diprolinski segment aminokiselina iza alanina uzrokuje različito nabiranje peptida ovisno o tome je li diprolinska sekvenca homo ili heterokiralna. Homokiralni diprolinski segmenti uzrokuju nabiranje proteina po **A** obrascu vodikovih veza dok heterokiralni uzrokuje nabiranje po **B** obrascu. Iako će ista homo/heterokiralnost diprolinskog segmenta dati isti obrazac vodikovih veza u najstabilnijim konformerima, strukture dvaju homo/heterokiralnih konformera ferocenskih peptida razlikovat će se po heličnoj kiralnosti peptida. Tako, s obzirom na diprolinski segment homokiralni, najstabilniji konformeri spojeva **1-1** i **4-1** imaju suprotne helične kiralnosti peptidnih lanaca. U diprolinskom segmentu heterokiralni **2-1** i **3-1** također imaju peptidne lance suprotnih heličnih kiralnosti.

4.2.2. Usporedba s eksperimentalnim rezultatima

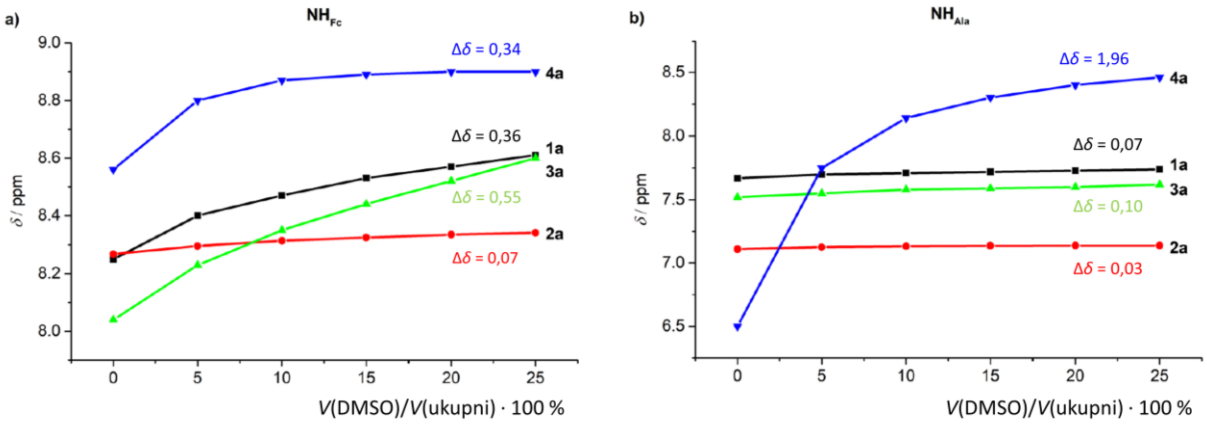
Kako bi se računalnim metodama dobiveni podaci usporedili s eksperimentalnim, u suradnji s izv. prof. dr. sc. Mojcom Čakić Semenčić s Prehrambeno-biotehnološkog fakultetu Sveučilišta u Zagrebu provedena su eksperimentalna istraživanja. Slika 44 prikazuje vibracijske spektre otopina spojeva od **1** do **4** u diklormetanu (c = 1,0 × 10^{-3} mol dm^{-3}).



Slika 44. Amidna regija vibracijskih spektara otopina spojeva od **1** do **4** u diklormetanu (c = 1,0 × 10^{-3} mol dm^{-3}).

U amidnom području IR spektara otopina spojeva od **1** do **3** u diklormetanu pojavljuju se vrpce malog intenziteta vibracije NH veze (slobodne) amidne skupine pri valnim brojevima iznad 3400 cm^{-1} i prema većoj valnoj duljini pomaknute vrpce dominantnog intenziteta NH veze amidne skupine koja je kao donor vodikovog atoma formirala vodikovu vezu. Proizlazi da NH skupine spojeva od **1** do **3** sudjeluju u formiranju vodikovih veza. Kod spoja **4** također postoji vrpca vodikove veze NH skupina, ali je, za razliku od spojeva od **1** do **3**, vrpca slobodne NH skupine puno intenzivnija. Dijeljenjem s koncentracijom spektara (ovisnosti apsorbancije o valnom broju) snimljenih za različite („razrijeđene“) koncentracije pojedinog spoja dobivene su približno iste ovisnosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta o valnom broju za različite koncentracije pojedinog spoja, što znači da vrpce vodikovih veza odgovaraju intramolekulskim vodikovim vezama. Vibracijske frekvencije uretanske karbonilne skupine ukazale su i na sudjelovanje ove skupine u formiranju intramolekulskih vodikovih veza kod svih spojeva.[89]

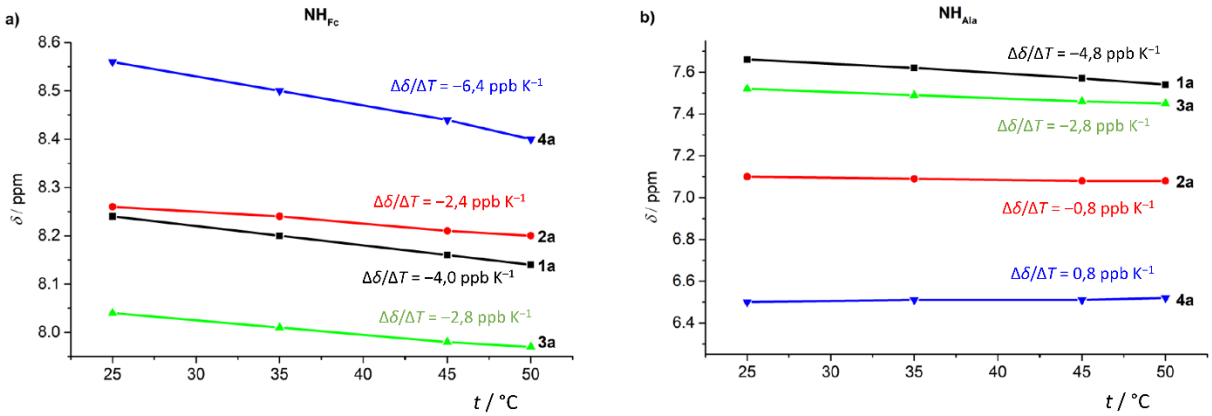
Relativna jačina intramolekulskih vodikovih veza eksperimentalno je određena s pomoću izučavanja temperaturne ovisnosti kemijskog pomaka amidnog protona i izučavanja ovisnosti kemijskog pomaka amidnog protona o koncentraciji deuteriranog dimetil-sulfoksida, jakog akceptora vodikovog atoma u formiranju vodikove veze. Kod vodikovih atoma vodikovih veza izloženih (u smislu jačine vodikove veze) otapalu, dimetil-sulfoksid (DMSO) uzrokuje pomicanje kemijskog pomaka prema manjem magnetskom polju, odnosno većem kemijskom pomaku. Kod protona vodikovih veza s kojima DMSO teško ostvaruje vodikove veze ne dolazi do promjene kemijskog pomaka. Slika 45 prikazuje kako se mijenja kemijski pomak protona alaninskog i ferocenskog amidnog protona spojeva od **1** do **4** s količinom dodanog dimetil-sulfoksida.



Slika 45. Ovisnost kemijskog pomaka protona alaninskog i ferocenskog amidnog protona spojeva od **1** do **4** o količini dodanog dimetil-sulfoksida.

Očekivano (prema IR spektrima), najizraženiju ovisnost kemijskog pomaka alaninskog NH protona pokazao je spoj **4**. Spojevi od **1** do **3** dali su izrazito malu (ukupnu) promjenu kemijskog pomaka alaninskog NH protona, što govori da ovi protoni u spojevima od **1** do **3** sudjeluju u formiranju jake vodikove veze. Što se tiče vodikovih veza u kojima sudjeluje ferocenski HN proton, titracije spojeva pokazale su da je ta veza izrazito jaka u spoju **2** dok je u ostalim spojevima nešto slabija.

Male vrijednosti temperaturnog koeficijenta, odnosno razlike konačnog i početnog kemijskog pomaka podijeljene s promjenom temperature, karakteristične su za vodikove veze koje nisu disocirale u izučavanom temperaturnom intervalu ili protone izložene otapalu, dok su velike vrijednosti karakteristične za vodikove veze koje su disocirale. Slika 46 prikazuje ovisnost kemijskog pomaka alaninskog i ferocenskog amidnog protona o temperaturi za otopine spojeva od **1** do **4** u deuteriranom kloroformu.



Slika 46. Ovisnost kemijskog pomaka alaninskog i ferocenskog amidnog protona o temperaturi za otopine spojeva od **1** do **4** u deuteriranom kloroformu (c = 2,0 × 10^{-3} mol dm^{-3}).

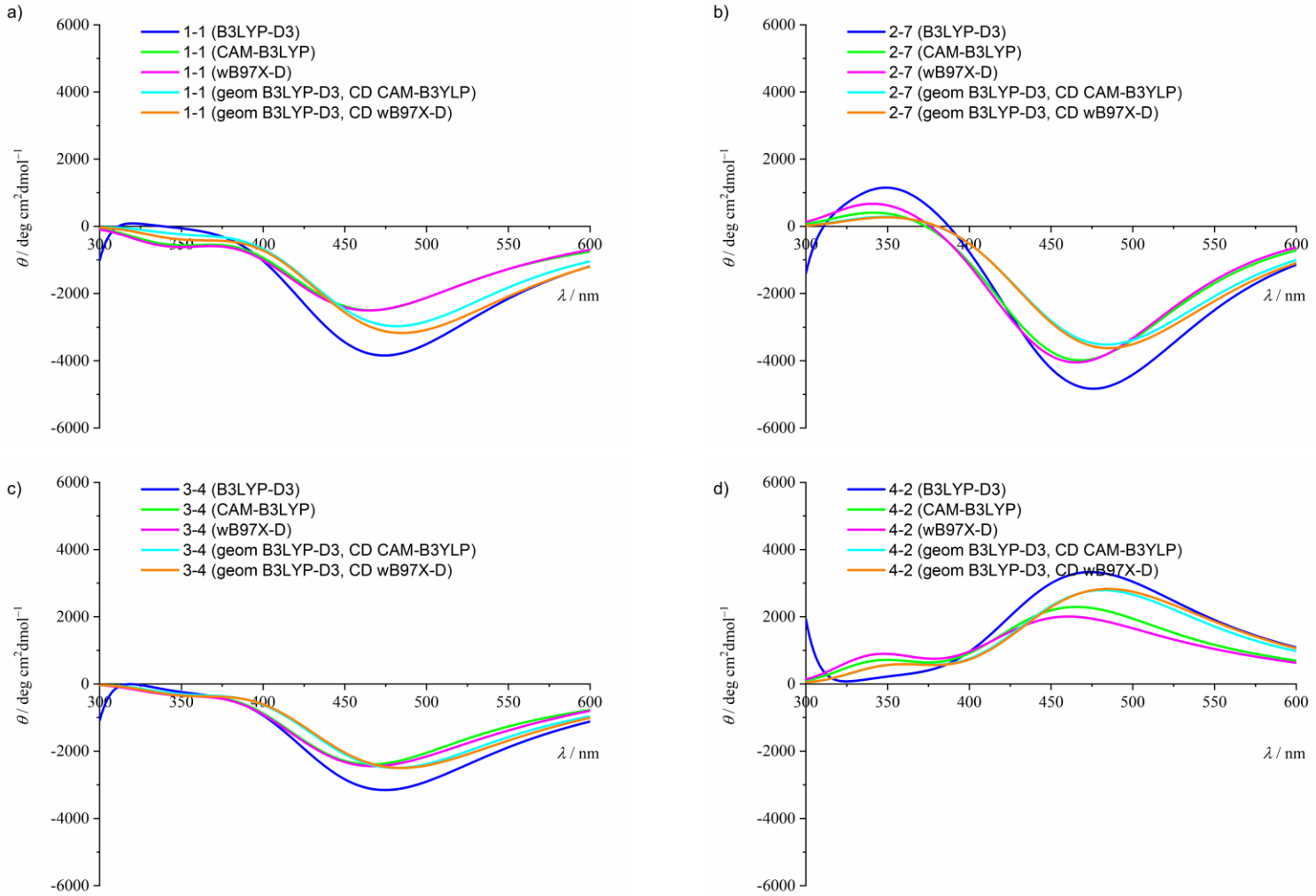
Povišenjem temperature kemijski pomaci alaninskih i ferocenskih NH protona spoja **2** pokazali su izrazito malu promjenu, što zajedno s IR spektrima i NMR titracijom s DMSO-om potvrđuje dvije jake vodikove veze spoja **2**. Spojevi **1** i **3** pokazuju malo izraženiju temperaturnu ovisnost, no isto sadrže jake vodikove veze. Velika temperaturna ovisnost kemijskih pomaka alaninskog i ferocenskog NH protona ukazuju na postojanje puno slabije vodikove veze kod spoja **4**.

4.2.3. Izbor optimalne metode DFT

U dosadašnjim istraživanjima u našoj grupi primarni fokus bio je na konformacijskoj analizi ferocenskih peptidomimetika i analizi obrazaca vodikovih veza, za što je bilo prikladno korištenje funkcionala B3LYP uz Grimmeovu korekciju disperznih interakcija te LanL2DZ osnovnog skupa. Na najvišoj razini kvantno-mehaničkih računa željezo je modelirano LanL2DZ, a ostali atomi 6-311+G(d,p) osnovnim skupom s opisom solvatacijskih efekata modelom polarizabilnog kontinuuma (PCM ili SMD). Budući da je u ovom radu fokus istraživanja postavljen na izučavanje potencijalne primjene ferocenske jedinice kao CD senzora najprije je istražen utjecaj nekoliko, u literaturi najčešće korištenih, funkcionala na simulirane CD spektre.

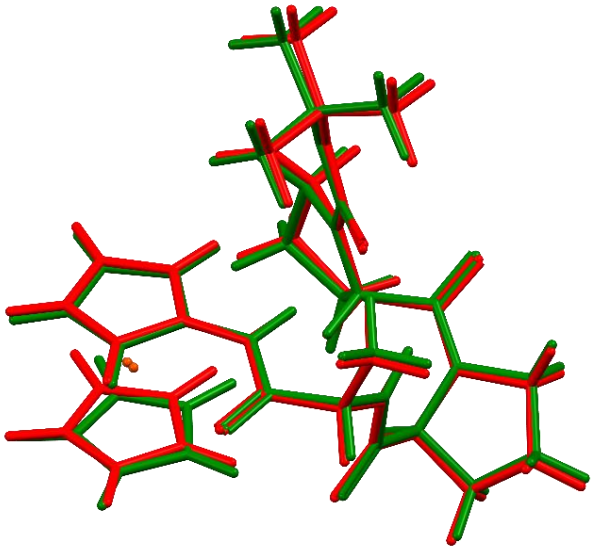
Slika 47 prikazuje računalno modelirane CD spektre nekoliko izabranih konformera spojeva od **1** do **4** (**1-1**, **2-7**, **3-4** i **4-2**) izračunate metodom TDDFT upotrebom tri različita funkcionala, B3LYP-D3, CAM-B3LYP i wB97XD, na prethodno optimiziranim geometrijama istim pripadnim funkcionalima ili na geometrijama prethodno optimiziranim funkcionalom B3LYP-D3.

Variranjem funkcionala kojim se optimizira geometrije i računa CD spektar istražen je istovremeni utjecaj funkcionala i na modeliranje geometrije i na modeliranje CD spektra. Funkcional B3LYP-D3 korišten je u prethodnim računalnim istraživanjima u našoj grupi kako disupstituiranih (peptidnih mimetika) tako i monosupstituiranih ferocenskih peptida.[7,88] Funkcionali CAM-B3LYP-D3 i wB97XD izabrani su za usporedbu s funkcionalom B3LYP-D3 jer za razliku od njega sadrže korekciju za opis interakcija dugog dosega.[90] Na slici 47 može se vidjeti da su CD spektri u apsorpcijskom području ferocenskog kromofora izračunati svim funkcionalima vrlo slični, odnosno sličnih vrijednosti Cottonova efekta. CD spektri izračunati funkcionalima CAM-B3LYP i wB97XD na geometrijama prethodno optimiziranima istim funkcionalima vrlo su slični, s vrijednošću apsorpcijskog maksimuma pri neznatno manjim valnim duljinama, nego one dobivene optimizacijom i modeliranjem CD spektra funkcionalom B3LYP-D3.



Slika 47. CD spektri konformera **1-1**, **2-7**, **3-4** i **4-2** izračunati različitim kombinacijama funkcionala B3LYP-D3, CAM-B3LYP i wB97XD za modeliranje geometrije (DFT) i spektra (TDDFT) u kloroformu modeliranom modelom PCM.

Geometrije određenog konformera optimizirane različitim funkcionalima neznatno se razlikuju. Slika 48 prikazuje neznatnu razliku geometrija na primjeru konformera **1-1** optimiziranog funkcionalom B3LYP-D3 i wB97XD.



Slika 48. Usporedba geometrije konformera **1-1** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 (struktura zelene boje) i funkcionalom wB97XD (struktura crvene boje); RMDS = 0,0616.

CD spektri izračunati funkcionalom B3LYP-D3 razlikuju se po molarnoj eliptičnosti (veće vrijednosti, intenzivnije vrpce) od CD spektara izračunatima ostalim funkcionalima. Osim što slika 47 sadrži prethodno opisane CD spektre, sadrži i CD spektre simulirane funkcionalima B3LYP-D3, CAM-B3LYP, wB97XD na geometrijama prethodno optimiziranima funkcionalom B3LYP-D3. Na ovaj se pak način izučio utjecaj različitih funkcionala samo na modeliranje CD spektara. CD spektri izračunati funkcionalima CAM-B3LYP i wB97XD iz geometrije optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 skoro se poklapaju dok se onaj izračunat funkcionalom B3LYP-D3 malo razlikuje, ali opet primarno u iznosu apsolutne vrijednosti molarne eliptičnosti. Prethodno navedeno ukazuje na utjecaj funkcionala ne samo na optimiziranu geometriju nego i na modeliranje elektronskih prijelaza (iste) geometrije, pri čemu CAM-B3LYP i wB97XD pokazuju vrlo slične CD spektre. Međutim, razlike se prvenstveno odražavaju na pomak apsorpcijskog maksimuma za nekoliko cm^{-1} i u njegovom intenzitetu nešto izraženijim za funkcional B3LYP-D3. Budući da su optimizacije funkcionalom B3LYP-D3 puno brže i lakše konvergiraju, a predznak Cottonova efekta i oblik CD spektra poklapa se

s onima dobivenima funkcionalima CAM-B3LYP i wB97XD, u daljnjem istraživanju CD spektri ipak su simulirani istim funkcionalom kao što su optimizirane i geometrije.

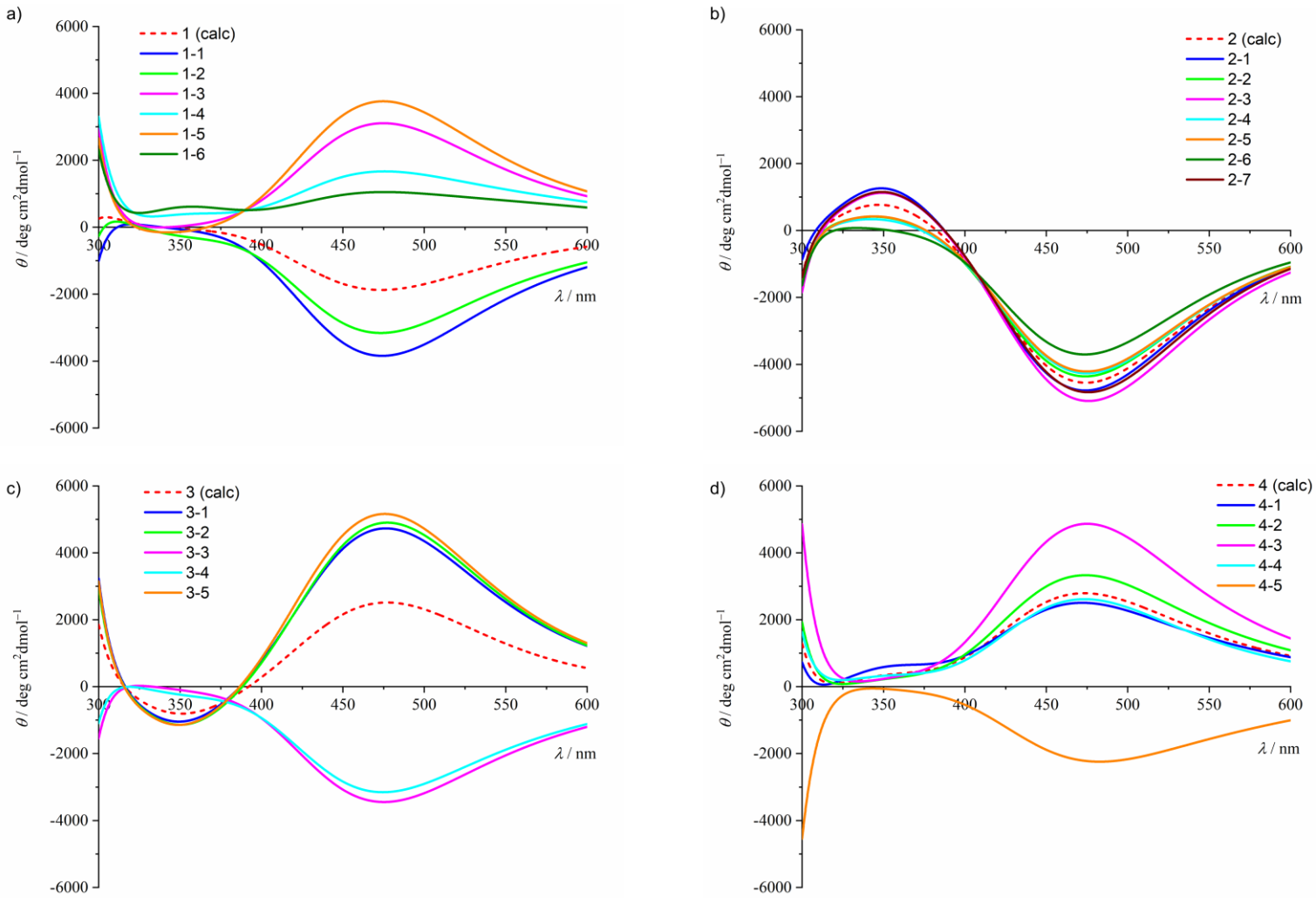
4.2.4. Simulacija CD spektara

Usporedbom izračunatih geometrija spojeva i njihovih CD spektara provjerena je osnovna hipoteza rada da središnja kiralnost aminokiseline i/ili helična kiralnost kratkog peptidnog lanca vezanog na ferocensku skupinu utječe na predznak apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora (oko 470 nm) u CD spektru.

Ako je Cottonov efekt ferocenskog kromofora jednoznačno određen (samo) heličnom kiralnošću, neovisno o konfiguracijskom izomeru i obrascu vodikovih veza peptida vezanog na ferocensku jedinicu, konformeri monosupstituiranog ferocena iste helične kiralnosti trebali bi imati iste predznake Cottonovog efekta (apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora u CD spektru).

Tablica 4 sadrži popis heličnosti konformera spojeva od **1** do **4**, a slika 49 prikazuje CD spektre pojedinih konformera istih spojeva izračunate u kloroformu (PCM) metodom TDDFT funkcionalom B3LYP-D3. Prosječni CD spektar spojeva od **1** do **4** izračunat je pri 298 K.

Među najstabilnijim konformerima spojeva od **1** do **4** dva su para konformera iste helične kiralnosti peptidnog supstituenta. Konformeri **1-1** i **2-1** imaju peptid *P*-helične kiralnosti, a konformeri **3-1** i **4-1** peptid *M*-heličnu kiralnosti. Slika 49 pokazuje da parovi najstabilnijih konformera iste helične kiralnosti imaju isti predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora ($\lambda \approx 470$ nm). Konformeri **1-1** i **2-1** pokazuju negativan Cottonov efekt, dok **3-1** i **4-1** pokazuju pozitivan Cottonov efekt. Promatrani su samo najstabilniji konformeri pa je povezanost helične kiralnosti i predznaka Cottonovog efekta trebalo provjeriti kod ostalih konformera. Svi konformeri spoja **1** imaju istu heličnu kiralnost peptidnog lanca (*P*), no imaju različite predznake Cottonovog efekta ferocenskog kromofora (konformeri **1-1** i **1-2** pokazuju negativan Cottonov efekt, a ostali Cottonov efekt suprotnog predznaka), što znači da predznak apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora nije određen isključivo heličnom kiralnošću peptida vezanog na ferocensku jedinicu.



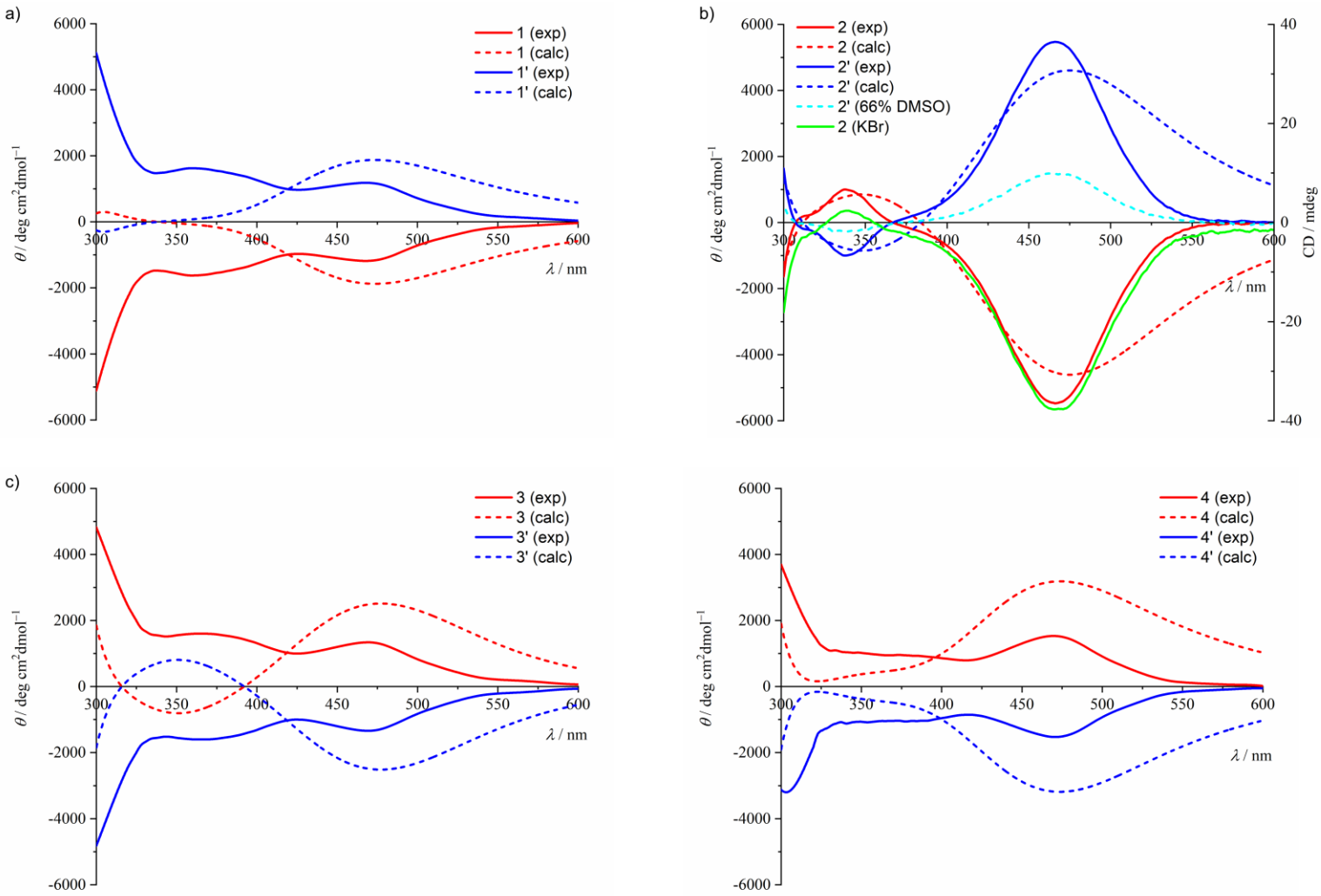
Slika 49. Pojedinačni CD spektri najstabilnijih konformera spojeva od **1** do **4** izračunati metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranim funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM). Prosječni CD spektar (calc) izračunat je pri 298 K.

Postoje „neslaganja“ u predznaku Cottonovog efekta ferocenskog kromofora i heličnoj kiralnosti i kod drugih konformera. Nadalje, konformeri **1-3** i **2-1** imaju istu heličnu kiralnost peptidnog lanca, i isti obrazac vodikovih veza (**B**), ali pokazuju različite predznake Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Prethodno zapažanje moguće je izvesti i uspoređivanjem najstabilnijih konformera kako slijedi. Konformeri **1-1** i **2-1** imaju isti predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora iako uz istu heličnu kiralnost peptidnog lanca imaju različite obrasce vodikovih veza. Oba prethodna zapažanja ukazuju da predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora nije isključivo određen istom heličnom kiralnošću vezanog peptidnog lanca i istim obrascem vodikovih veza. Postoje čak i konformeri, poput **4-4** i **4-5**, istih relativnih konfiguracija aminokiselina, istih heličnih kiralnosti (*P*) peptida i istih obrazaca vodikovih veza (**C**), ali pokazuju suprotne predznake Cottonovog efekta ferocenskog kromofora.

Prosječni izračunati CD spektri spojeva od **1** do **4** (slika 50) poprilično se dobro slažu s pripadnim eksperimentalno određenim CD spektrima, posebno u području apsorpcijskog maksimuma ferocenskog kromofora. Predznaci oba CD spektra poklapaju se, pri čemu svaki izračunati spektar „prati“ oblik eksperimentalno izmjerenog spektra. Prosječni izračunati i eksperimentalno određeni CD spektri spoja **2** pokazuju najveće slaganje, što se može objasniti postojanjem geometrijski vrlo sličnih konformera s **B** obrascem vodikovih veza (slika 42).

Helična kiralnost peptida monosupstituiranog aminoferocena i/ili sekundarna struktura istog peptida ne određuju jednoznačno predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora budući da neki od konformera s jednakim heličnim kiralnostima peptidnog dijela i/ili sekundarne strukture pokazuju suprotni predznak Cottonova efekta.

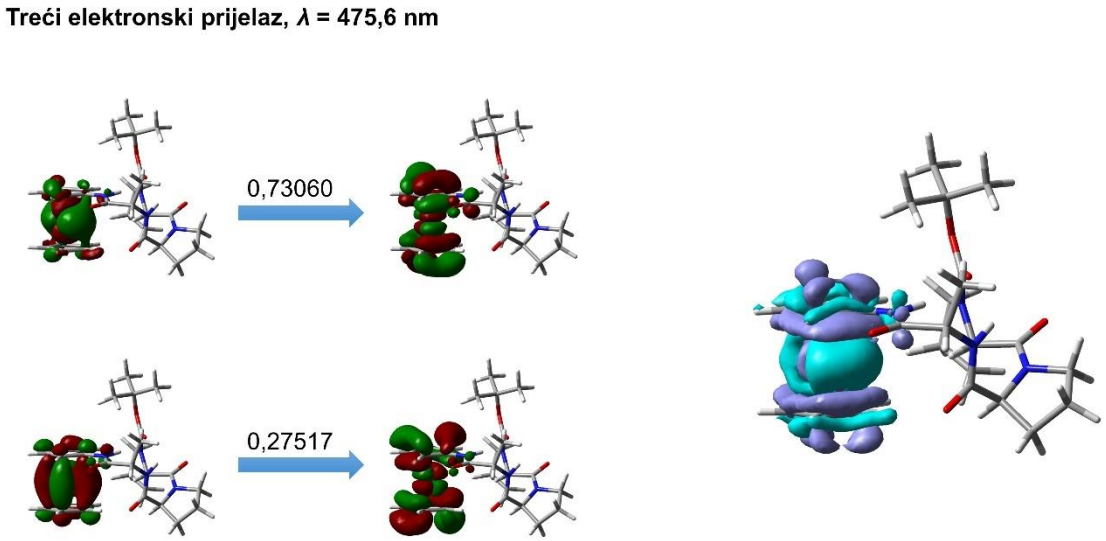
Mogućnost fiksiranja relativnog položaja ciklopentadienilnih prstenova ferocena peptidnog mogla je biti posljedica povoljne interakcije između ferocenske jedinice i na nju vezanog peptidnog lanca, npr. putem vodikovih veza kao u sličnim spojevima.[12]



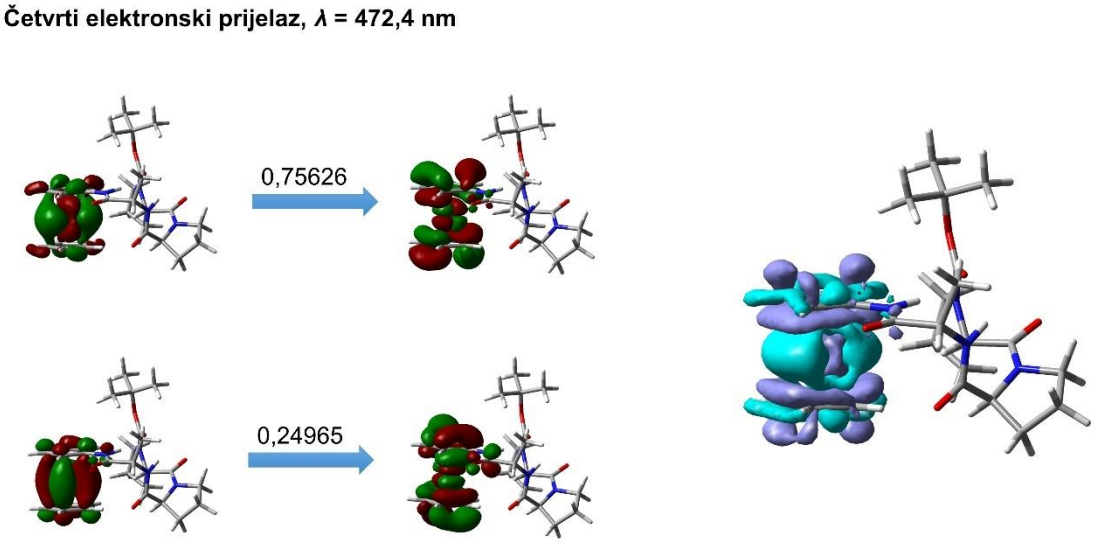
Slika 50. Eksperimentalni (exp) CD spektri otopina spojeva od **1** do **4**, i njihovih enantiomera od **1'** do **4'**, u diklormetanu. Prosječni (calc, pri 298 K) CD spektri istih spojeva izračunati metodom TDB3LYP za geometrije najstabilnijih konformera optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM).

Detaljnom analizom elektronske strukture svih konformera spojeva od **1** do **4** s pomoću analize QTAIM, pronađene su samo nepravilne mreže sekundarnih vodikovih veza Cp−H···O, dakle, nisu pronađene druge interakcije između ferocenske jedinice i peptidnog lanca značajnog doprinosa. Jača interakcija ferocenske jedinice i peptidnog lanca tako je otpala kao mogući razlog prijenosa kiralne informacije s heličnog peptida na ferocenski kromofor. Da bi se pokušalo odrediti geometrijske faktore koji jednoznačno određuju predznak Cottonovog efekta ferocenskog kromofora, analizirane su pojedine CD vrpce (elektronski prijelazi čijim su Gaussovim širenjem dobiveni prikazani spektri) ferocenskog kromofora dvjema metodama. Prva je proučavanje prirodnih prijelaznih orbitala (NTO). Prirodne prijelazne orbitale dobivaju se transformacijom „običnih" orbitala, a prednost im je što daju kompaktnu reprezentaciju orbitala za matricu gustoće elektronskog prijelaza.[87] Druga je proučavanje razlike elektronske gustoće dobivene oduzimanjem elektronske gustoće osnovnog stanja od elektronske gustoće pobuđenog stanja pojedinog elektronskog prijelaza. Pobuda molekule podrazumijeva preraspodjelu elektronske gustoće s jednog dijela molekule na drugi pa će razlika elektronske gustoće u prostoru u kojem se smanjila biti negativna, dok će njezina vrijednost u prostoru gdje se povećala biti pozitivna.

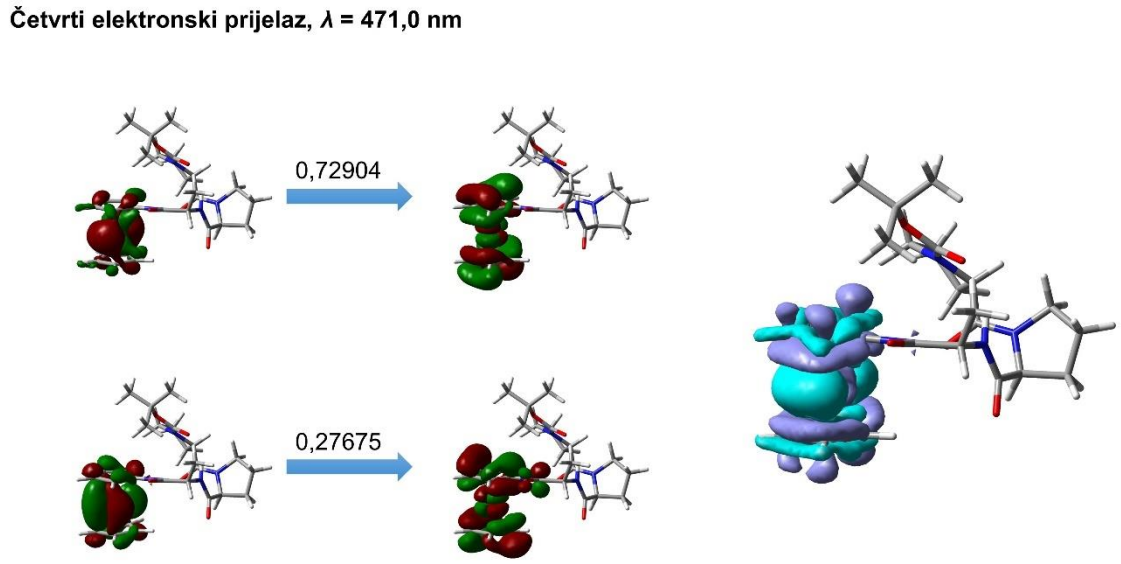
Slike 51 i 52 prikazuju prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronske gustoće pobuđenih i osnovnog stanja za treći i četvrti (CD) elektronski prijelaz konformera najstabilnijeg konformera spoja **1**. Do sličnih promjena kao kod trećeg i četvrtog elektronskog prijelaza dolazi i u ostalim izračunatim elektronskim prijelazima konformera **1-1**, stoga su oni prikazani u prilogu rada od slike P1 do slike P6. Prvih šest elektronskih prijelaza najstabilnijeg konformera spoja **2** također imaju slične prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća, a iste prikazuju slike 53 i 54 za četvrti i peti elektronski prijelaz. Slike prirodnih prijelaznih orbitala i razlika elektronskih gustoća svih izračunatih elektronskih prijelaza (šest) konformera **2-1** prikazane su u prilogu rada od slike P7 do slike P12.



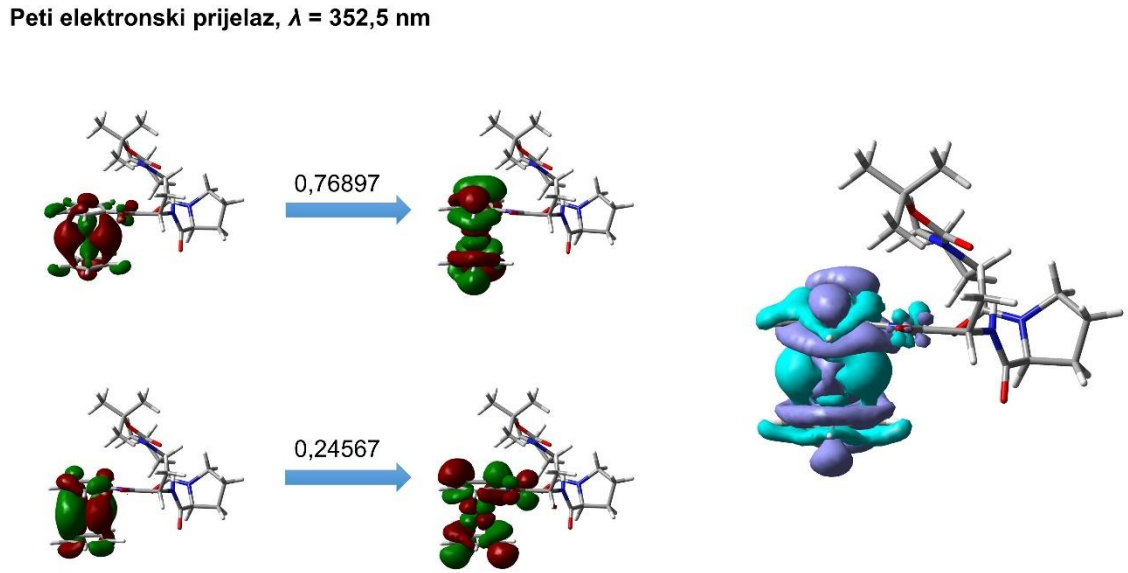
Slika 51. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 475,6 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



Slika 52. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 472,4 nm) konformera **1-1** u cirkularnom dikroizmu.



Slika 53. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 471,0 nm) konformera **2-1** u cirkularnom dikroizmu.



Slika 54. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 352,5 nm) konformera **2-1** u cirkularnom dikroizmu.

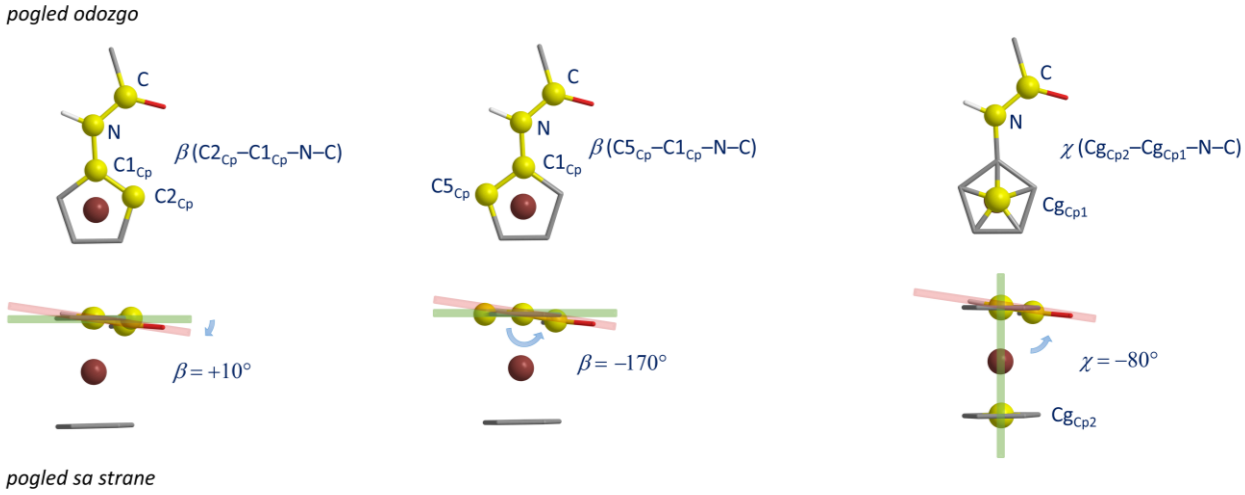
Prirodne orbitale prijelaza pokazuju da se elektronski prijelazi događaju uz preraspodjelu elektronske gustoće na ferocenskoj jedinici, pri čemu se koeficijenti orbitala na željezovom atomu smanjuju, a koeficijenti orbitala na ciklopentadienilnim prstenovima povećavaju. To je u skladu s literaturno poznatom činjenicom da energijski niži elektronski prijelazi „odgovaraju" d-d prijelazima željezova atoma.[91] Prirodne orbitale prijelaza najstabilnijih konformera ostalih spojeva (**3** i **4**) analognog su izgleda prikazanim prirodnim orbitalama prijelaza **1-1**, odnosno **2-1**, stoga su prikazane u prilogu ovoga rada od slike P13 do slike P24.

Smanjenje (negativna razlika) elektronske gustoće na slikama označena je cijan bojom dok je prostor povećanja elektronske gustoće označen ljubičastom bojom. Razlike elektronske gustoće, isto kao i prirodne prijelazne orbitale, pokazuju da se pri elektronskim prijelazima ferocenskog kromofora elektronska gustoća premješta sa željezovog atoma na ciklopentadienilne ligande. Prostor oko ciklopentadienilnih liganada ljubičaste je boje, a prostor oko željezova atoma plave boje.

Među izračunatim elektronskim prijelazima najinteresantniji je onaj čija valna duljina odgovara apsorpcijskom maksimumu ferocenskog kromofora. Četvrti elektronski prijelaz (za konformer **1-1**, slika 52, $\lambda \approx 470$ nm) odgovara maksimalnom Cottonovom efektu ferocenskog kromofora. Uočeno je da, osim što ovaj prijelaz obuhvaća preraspodjelu elektronske gustoće sa željeza na ciklopentadienilne ligande, u njemu dolazi i do preraspodjele elektronske gustoće amidne skupine izravno vezane na ferocen, stoga je pretpostavljeno da bi i ta amidna skupina mogla imati ključnu ulogu u određivanju predznaka Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Štoviše, ona bi mogla biti prijenosnik kiralne informacije s heličnog peptida na ferocenski kromofor. Vrijednost torzijskog/diedarskog kuta između ravnine ciklopentadienilnog prstena i ravnine na njega vezane amidne skupine u korelaciji je s načinom prekrivanja njihovih orbitala, a time i svojstvima elektronskog prijelaza. Bilo je za pretpostaviti da rotacija amidne skupine izravno vezane na ferocen (opisano torzijskim/diedarskim kutom) utječe na iznos Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Za provjeru ove hipoteze prvo je bilo potrebno jednoznačno definirati torzijski/diedarski kut za opis rotacije oko veze kojom je amidna skupina peptidnog lanca vezana na ciklopentadienilni prsten.

Ovu rotaciju moguće je opisati na nekoliko načina. Prvi bi uključivao izbor četiri povezana atoma u nizu za definiranje torzijskog kuta koji opisuje rotacija oko $C1_{Cp}$–N veze. Prvi od izbora četiri atoma u nizu uključuje $C2_{Cp}$ atom prstena $\beta(C2_{Cp}–C1_{Cp}–N–C)$ (slika 55, lijevo, kut 10°), a drugi $C5_{Cp}$ atom prstena $\beta(C5_{Cp}–C1_{Cp}–N–C)$ (slika 55, sredina, kut −170°).

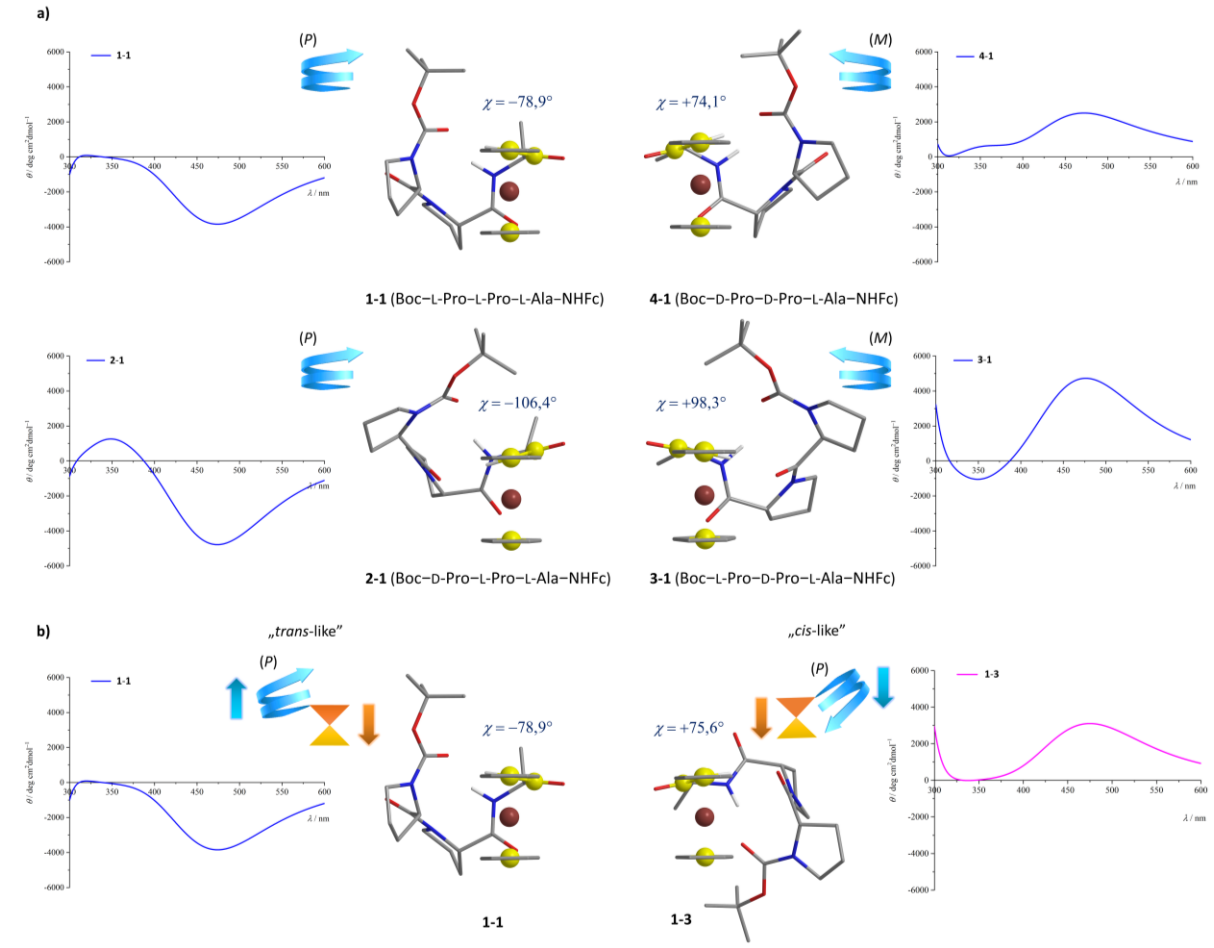
Ovakvom definicijom torzijskog kuta β za isti položaj supstituenta ne bi bilo moguće jednoznačno odrediti vrijednost torzijskog kuta budući da bi svaki puta bilo moguće odabrati dva različita atoma ($C2_{Cp}/C5_{Cp}$) u ciklopentadienilnom prstenu.



Slika 55. Tri moguća načina definiranja torzijskog/diedarskog kuta kojim je opisana rotacija amidne skupine vezane na ciklopentadienilni prsten. Cg označava centroid ciklopentadienilnog prstena.

Puno bolji (jednoznačniji) način definiranja diedarskog kuta jest preko dva prividna atoma u centroidima svakog ciklopentadienilnog prstena, kut $\chi(Cg_{Cp2}–Cg_{Cp1}–N–C)$ (slika 55, desno, kut −80°). Torzijski kutovi χ za konformere spojeva od **1** do **4** navedeni su u tablici 4. Torzijske kutove χ za najstabilnije konformere spojeva od **1** do **4**, uz pripadne CD spektre konformera, prikazuje slika 56.

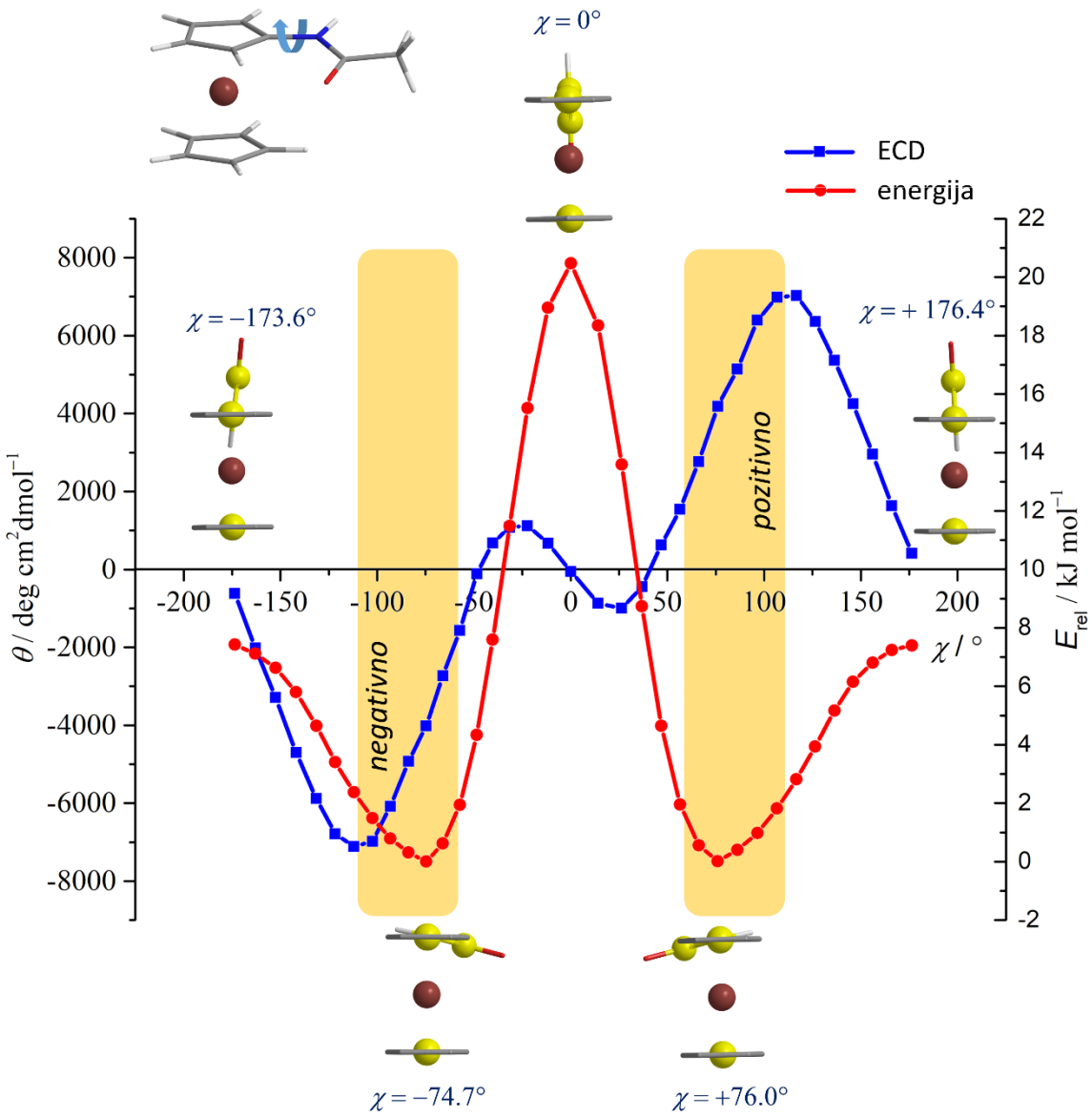
Korelacijom očitane vrijednosti diedarskog kuta χ i predznaka Cottonovog efekta ferocenskog kromofora u skupu najstabilnijih konformera, **1-1**, **2-1**, **3-1** i **4-1**, dobiveno je da negativni raspon kutova od −75° do −106° daje negativan Cottonov efekt, a raspon kutova od 68° do 104° pozitivan Cottonov efekt.



Slika 56. (a) Relativni odnos predznaka diedarskog kuta χ konformera **1-1**, **2-1**, **3-1** i **4-1** i predznaka Cottonovih efekata njihovih ferocenskih kromofora (pri 470 nm). (b) Prikaz konformacija koje nalikuju *trans* (engl. „*trans*-like"), odnosno *cis* (engl. „*cis*-like") relativnom rasporedu ferocenske skupine i peptidnog lanca konformera **1-1** i **1-3**. Narančasta strelica pruža se u smjeru od supstituiranog prema nesupstituiranom ciklopentadienilnom prstenu ferocena; plava strelica prikazuje smjer zavijenosti heličnog peptida.

Ako postoji općenita izravna veza između predznaka (i apsolutne vrijednosti) diedarskog kuta χ te predznaka (i intenziteta) Cottonovog efekta ferocenskog kromofora kao u najstabilnijim konformerima spojeva od **1** do **4**, onda bi slična ovisnost trebala postojati i u jednostavnom modelnom spoju poput amidnom skupinom supstituiranom ferocenu (dakle bez vezane kiralne aminokiseline). Provedeno je djelomično relaksirano pretraživanje energijskog profila u ovisnosti o diedarskom kutu koji opisuje rotaciju amidne skupine *N*-ferocenilacetamida oko njezine veze s ciklopentadienilnim prstenom. Svakoj generiranoj geometriji simuliran je CD spektar i očitana maksimalna vrijednost Cottonovog efekta ferocenskog kromofora oko 470 nm (elektronski prijelaz specifičan za ferocen). Slika 57 prikazuje korelaciju molarne eliptičnosti Cottonovog efekta ferocenskog kromofora i

elektronske energije o diedarskom kutu χ za *N*-ferocenilacetamid optimiziran u kloroformu (PCM).



Slika 57. Ovisnost energije (desna ordinata, crvene točke) *N*-ferocenilacetamida o kutu χ izračunata funkcionalom B3LYP-D3. Ovisnost molarne eliptičnosti (lijeva ordinata, plave točke) Cottonovog efekta ferocenskog kromofora ($\lambda \approx 470$ nm) *N*-ferocenilacetamida o kutu χ izračunata metodom TDB3LYP. Ograničene optimizacije geometrija provedene su funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM).

Ovisnost energije *N*-ferocenilacetamida o kutu χ simetrična je s obzirom na ordinatu. Ovisnost molarne eliptičnosti Cottonovog efekta *N*-ferocenilacetamida o kutu χ simetrična je s obzirom na ishodište. Geometrije za čije χ kutove je energija maksimalna (χ = 0° i χ = 180°) odgovaraju

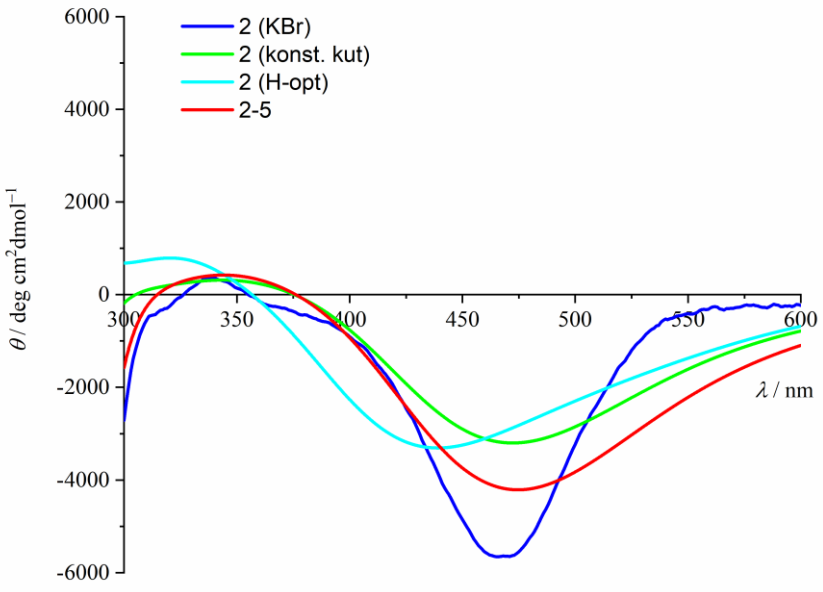
prijelaznim strukturama u kojima je ravnina amidne skupine okomita na ravninu ciklopentadienilnog prstena (slika 57), a pripadajuće vrijednosti Cottonovog efekta približno su jednake nuli. U ovom slučaju prekrivanje orbitala dviju okomitih ravnina međusobno je najmanje budući da su međusobno okomite. Ferocenski kromofor *N*-ferocenilacetamida u energijskim minimumima pokazuju vrijednosti Cotonovog efekta različite od nule, štoviše ove geometrije približno odgovaraju maksimumima u CD spektru relativno izrazito velikih molarnih eliptičnosti (intenziteta). Raspon kutova χ između −110° i −70° s negativnim Cottonovim efektom te raspon χ od 70° do 110° s pozitivnim Cottonovim efektom ferocenskog kromofora određeni iz geometrija i CD spektara konformera **1-1**, **2-1**, **3-1** i **4-1** (slika 57, žuto osjenčano područje grafičkog prikaza), prate ovisnost Cottonovog efekta ferocenskog kromofora o kutu χ određenu na *N*-ferocenilacetamidu. Također valja primijetiti da iako ovisnost energije o χ pokazuje (samo) dva degenerirana energijska minimuma (oko ± 75°), ovisnost iznosa Cottonovog efekta ferocenskog kromofora o χ pokazuje složeniju ovisnost jer sadrži dva minimuma i dva maksimuma (oko ± 25° i ±115°).

Saznanje da kut χ određuje predznak i apsolutnu vrijednost molarne eliptičnosti Cottonovog efekta ferocenskog kromofora objasnilo je zašto heličnost i/ili obrazac vodikovih veza u konformerima spojeva **1**, **2**, **3** i **4** nisu bili jednoznačno povezani s predznakom Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Kut χ posljedica je nabiranja (obrazac vodikovih veza) peptidnog lanca, zapravo svih interakcija u ferocenskom monopeptidu. Zbog nepostojanja značajnih privlačnih (npr. vodikove veze) ili odbojnih (steričke smetnje) interakcija između ferocenske jedinice i peptidnog lanca koje bi takav lanac (supstituent) „zaključale“ u specifičnoj poziciji, rotacija veze između ciklopentadienilnog prstena i na njega vezane amidne skupine relativno je slobodna. Iz tog se razloga događa da relativno kratki peptidi iste heličnosti i/ili obrasca vodikove veze vezani na ferocen daju Cottonove efekte različitih predznaka budući da zbog relativno slobodne rotacije peptidi mogu biti usmjereni (smjer njihove heličnosti) u istom ili različitom smjeru od smjera supstituirani → nesupstituirani ferocenski prsten, odnosno zauzeti relativni položaj dviju skupina (ferocenska jedinica i vezani peptid) koji nalikuje *trans* ili *cis* konfiguraciji (engl. *cis*-like, odnosno engl. *trans*-like), a prikazuje ih slika 56 (b dio).

4.2.5. Usporedba s eksperimentalnim CD spektrom čvrstog stanja

U suradnji s izv. prof. dr. sc. Marijanom Đaković s Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, kristalna struktura određena je difrakcijom rendgenskih zraka na monokristalnom uzorku samo za spoj **2** budući da kristalizacija ostalih spojeva nije bila uspješna.

CD spektar moguće je snimiti i za uzorak u čvrstom stanju pa je geometriju iz kristalne strukture moguće jednoznačno povezati s iznosom Cottonovog efekta u području ferocenskog kromofora jer je isključena prisutnost ostalih konformera. Naravno, prethodno vrijedi ako spoj ne kristalizira u više različitih konformacija. Izmjereni CD spektar spoja **2** prikazuje slika 58 (spektar označen s KBr). Konformer **2** određen u kristalnoj strukturi geometrijom je vrlo sličan konformeru **2-5**, pronađenom u otapalu pri čemu je dobro međusobno poklapanje njihovih CD spektara s prosječnim CD spektrom spoja **2** što se može vidjeti na slici 58. Dodatno su provedene analize CD spektara na geometrijama što sličnijima onoj u kristalnoj strukturi. U prvoj je položaj samo vodikovih atoma optimiziran kvantnom mehanikom razinom teorije standardno korištenom u ovom radu uz fiksirane položaje ostalih (nevodikovih) atoma. Tako dobivenoj geometriji simuliran je CD spektar (slika 58, spektar označen s H-opt).



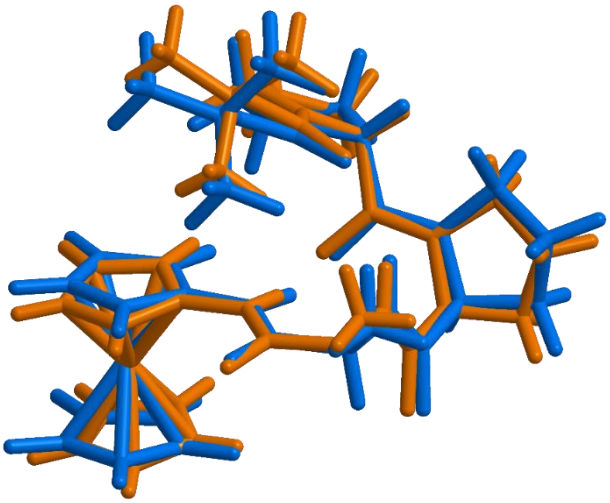
Slika 58. Eksperimentalni CD spektar spoja **2** u čvrstom stanju (spektar KBr). CD spektar spoja **2** izračunat u vakuumu na geometriji dobivenoj optimizacijom vodikovih atoma uz fiksirane položaje nevodikovih atoma kristalne strukture (spektar H-opt). CD spektar izračunat u vakuumu na geometriji dobivenoj optimizacijom kristalne strukture spoja **2** uz fiksirani kut χ (spektar konst. kut). Prosječni CD spektar konformera **2-5** u kloroformu (PCM).

Valna duljina Cottonovog efekta izmjerenog za spoj **2** u čvrstom stanju malo je pomaknuta u odnosu na valnu duljinu Cottonovog efekta izračunatog za kristalnu strukturu s optimiziranim položajima vodikovih atoma. CD spektar u čvrstom stanju može ovisiti i o međumolekulskim interakcijama koje su mogući razlog odstupanja izmjerenog i izračunatog CD spektra na geometriji s fiksiranima nevodikovim atomima (H-opt). U literaturi je poznato odstupanje eksperimentalnog CD spektra u čvrstom stanju i izračunatog CD spektra za ferocenski peptid.[92] Također, izračunat je i CD spektar za geometriju s fiksiranim diedarskim kutom (χ) koji definira rotaciju peptidnog lanca oko ciklopentadienilnog prstena (slika 58, spektar označen s konst. kut). Diedarski kut χ ključni je geometrijski faktor koji određuje CD spektar ferocenskog kromofora, pa bi njegova promjena prilikom optimizacije dovela i do promjene CD spektra. Ovako dobivene geometrije manje odstupaju od geometrije konformera spoja **2-5** određene u otapalu, budući da su fiksirani za CD spektar ključni geometrijski parametri (diedarski kut), ali istovremeno pokazuju pomak u valnoj duljini signala ferocenskog kromofora (blizu 470 nm). Odstupanje se može objasniti na dva načina. Eksperimentalni CD spektar može ovisiti i o međumolekulskim interakcijama dok ovako određene optimizirane geometrije ne moraju biti pravi minimumi na plohi potencijalne energije zbog postavljenih ograničenja tijekom optimizacije.

Optimizacijom kristalne strukture nije došlo do većih promjena u geometriji. Valna duljina Cottonovog efekta kristalne strukture optimizirane s fiksnom vrijednošću diedarskog kuta χ poklapa se s valnom duljinom eksperimentalnog Cottonovog efekta spoja **2**. (Sve) Vibracijske frekvencije optimizirane geometrije kristalne strukture s fiksiranim položajima nevodikovih atoma puno su veće od vibracijskih frekvencija optimizirane geometrije kristalne strukture s fiksiranim diedarskim kutom χ. Nepoklapanje Cottonovog efekta geometrije kristalne strukture s optimiziranim položajima vodikovih atoma i eksperimentalnog Cottonovog efekta, uz poklapanje eksperimentalnog Cottonovog efekta i Cottonovog efekta optimizirane geometrije kristalne strukture, ukazuje da je optimizacijom jedne molekule spoja iz kristalne strukture uz fiksiranje položaja nevodikovih atoma molekula izolirana od međumolekulskih interakcija te budući da su položaji nevodikovih atoma fiksirani optimizacija završava u energetski nepovoljnijoj strukturi. Energetski nepovoljnija (drukčija) elektronska struktura vodi pak (u odnosu na eksperimentalni) k dobivanju različitog CD spektra (spektar H-opt, slika 58). Optimizacija geometrije jedne molekule uzete iz kristalne strukture s fiksiranim diedarskim

kutom za koju je izračunat CD spektar (spektar konst. kut, slika 58) rezultira odličnim poklapanjem s eksperimentalnim CD spektrom.

Kristalna struktura spoja **2** i geometrija konformera **2-5** gotovo su iste geometrije što je određeno superpozicijom tih dviju struktura. Slika 59 prikazuje superpoziciju kristalne strukture spoja **2** i računalno dobivene strukture konformera **2-5**.



Slika 59. Superpozicija geometrije spoja 2 izdvojena iz kristalne strukture i geometrije konformera **2-5** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM).

Nepoklapanje kristalne strukture spoja **2** i strukture najstabilnijeg konformera izračunatog u otopini (**2-1**) ukazuje na to da konformer **2-5** u čvrstom stanju može ostvarivati povoljnije interakcije od konformera **2-1**.

4.3. Aminoferocenski peptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline

U prethodnoj skupini spojeva pokazalo se da energijski relativno bliski konformeri mogu imati peptidne lance iste helične kiralnosti vezane na ferocenski prsten u različitim relativnim položajima koji nalikuju *cis* („*cis*-like“) ili *trans* („*trans*-like“) konfiguraciji što dovodi do problema u jednoznačnosti odziva ako se ferocenski kromofor želi uporabiti kao senzor za određivanje helične kiralnosti kratkih peptidnih lanaca. Naime, unatoč istoj heličnoj kiralnosti peptida i/ili obrazaca vodikovih veza monosupstituiranih ferocena, u energijski najzastupljenijim konformerima najvjerojatnije vrijednosti kuta χ (slika 57) mogu biti različitih predznaka, odnosno i Cottonovi efekti će biti suprotnih predznaka. Kako bi se reducirao konformacijski prostor i dominantno dobio jedan (ili nekoliko) geometrijski sličnih konformera istražen je utjecaj na ferocen izravno vezane 2-amino-2-metilpropanske kiseline (Aib) ili od nje

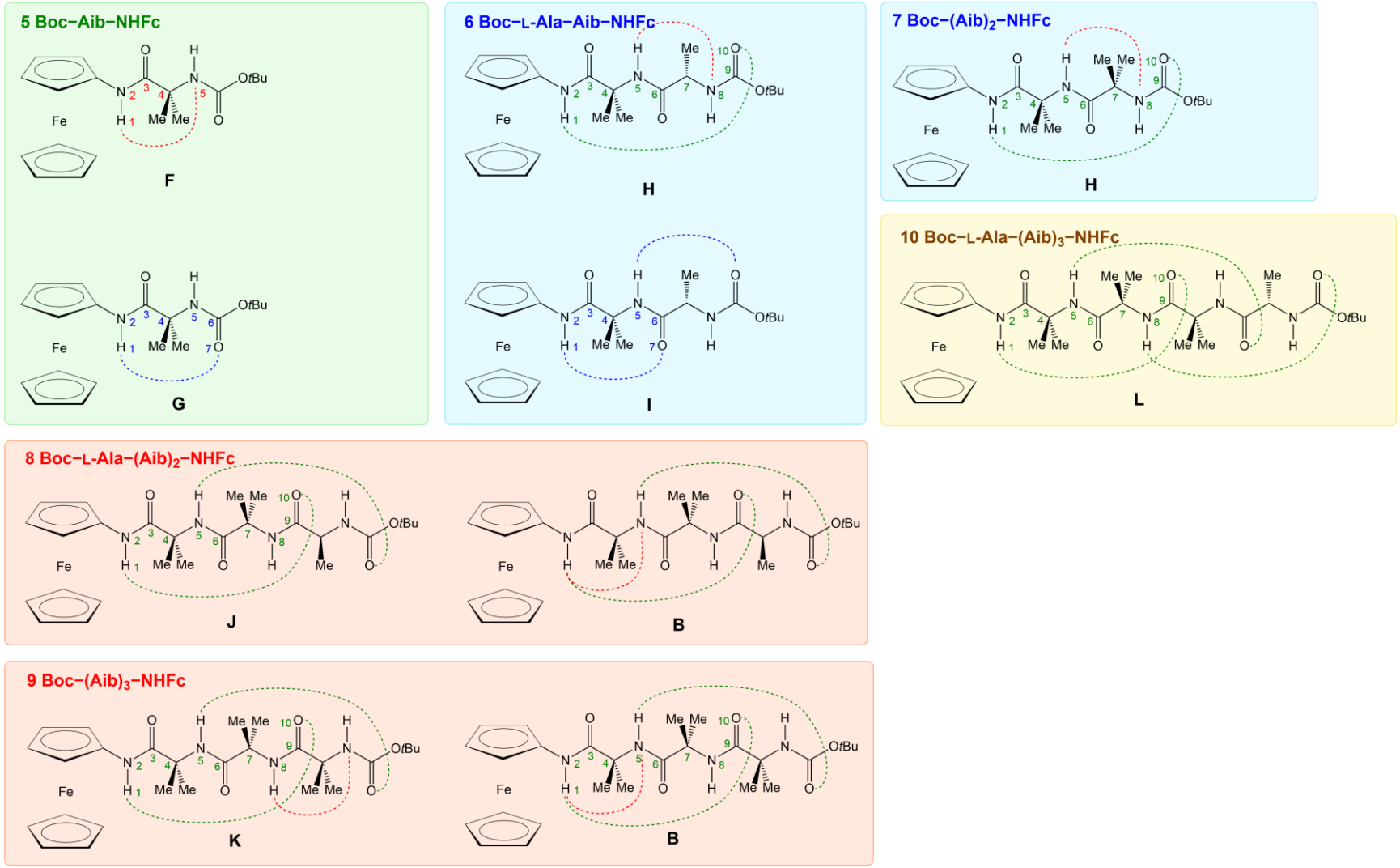
izgrađenih kratkih peptida na raspodjelu konformera i prijenos kiralne informacije. Uvedena akiralna poveznica morala bi imati sposobnost prijenosa kiralne informacije s udaljene vezane (kiralne) aminokiseline (ili heličnog peptida) na ferocensku jezgru te ovisno o kutu χ inicirati specifičan odziv u CD spektru. Ako je konformacijski prostor reduciran (u raspodjeli dominira jedan konformer), tada će i prosječni CD spektar, a time i Cottonov efekt, primarno biti rezultat najzastupljenijeg konformera. Odabrane su tri akiralne poveznice: aminokiselina Aib i njezin di/tripeptid. Na *N*-kraj poveznice vezana je kiralna aminokiselina alanin. Poznato je da oligopeptidi Aib-a dominantno tvore 3_{10} uzvojnicu i na taj se način očekivala redukcija konformacijskog prostora. Odabirom različitih duljina poveznica $(Aib)_n$, $n = 1 - 3$ željela se odrediti minimalna duljina poveznice za formiranje 3_{10} uzvojnice.

Poznato je da su oligomeri Aib-a prisutni u samo „jednoj" konformaciji, 3_{10} uzvojnici, zbog konformacijskih ograničenja uvedenih putem dodatne metilne skupine.[23] Naime, razlika Aib-a i alanina je u tome što Aib u odnosu na alanin umjesto α-vodikovog atoma ima metilnu skupinu. Budući da je Aib akiralan spoj, peptid izgrađen od njega bit će prisutan i u desnoj i u lijevoj 3_{10} uzvojnici jednakih udjela, a vezanjem kiralne aminokiseline na oligopeptid zavojnica jedne heličnosti postaje preferirana ili potpuno prevladava.[24] Također, pokazano je za drugi CD kromofor da Aib može prenijeti kiralnu informaciju s aminokiseline na kromofor.[93]

Hijerarhijskom konformacijskom analizom određene su geometrije konformera spojeva od **5** do **10** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu modeliranom polarizabilnim kontinuumom (SMD). Odabrane strukturne parametre najstabilnijih konformera spojeva od **5** do **10** sistematizira tablica 5. Slika 60 prikazuje obrasce vodikovih veza konformera spojeva od **5** do **10** potvrđenih analizom QTAIM. Topološki parametri analize dani su u prilogu rada od tablice P5 do tablice P10.

Tablica 5. Relativna energija, diedarski kut χ, helična kiralnost, obrasci vodikovih veza i duljine vodikovih veza pojedinih konformera spojeva od **5** do **10**. Smjer brojanja Aib-a je od ferocena prema „slobodnom“ kraju peptida (od *C*-kraja prema *N*-kraju).

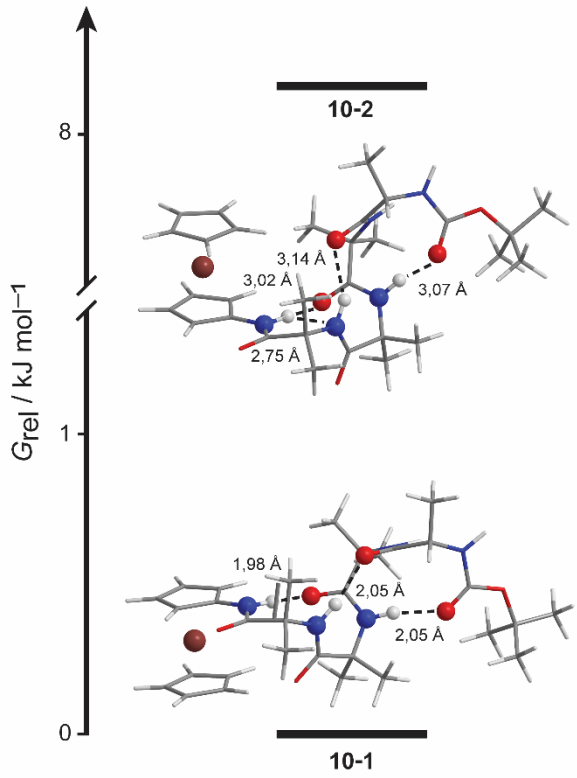
					duljina (X–H···Y) / Å						
oznaka konformera	G_{rel} / kJ mol^{-1}	χ / °	helična kiralnsot	obrazac vodikovih veza	$NH_{Fc}\cdots N_{Aib1}$ 5-eročlani	$NH_{Aib1}\cdots N_{Ala}$ $NH_{Aib1}\cdots N_{Aib2}$ $NH_{Aib2}\cdots N_{Aib3}$ 5-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$ $NH_{Fc}\cdots OC_{Ala}$ 7-eročlani	$NH_{Aib1}\cdots OC_{Boc}$ 7-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$ $NH_{Fc}\cdots OC_{Ala}$ $NH_{Fc}\cdots OC_{Aib3}$ 10-eročlani	$NH_{Aib1}\cdots OC_{Boc}$ $NH_{Aib1}\cdots OC_{Ala}$ 10-eročlani	$NH_{Aib2}\cdots OC_{Boc}$ 10-eročlani
spoj **5**											
5-1	0,00			**F**	2,75						
5-2	1,05			**F**	2,74		2,82				
5-3	2,29			**G**			2,83				
5-4	2,65			**G**							
spoj **6**											
6-1	0,00	–81,7	*P*	**H**		2,76			2,98		
6-2	3,47	–73,6	*M*	**I**			2,81	2,94			
6-3	3,98	86,1	*P*	**H**		2,76			2,94		
spoj **7**											
7-1	0,00			**H**		2,75			2,94		
7-2	2,16			**H**		2,74			2,93		
spoj **8**											
8-1	0,00	–81,6	*P*	**J**					2,99	3,05	
8-2	0,17	97,0	*M*	**B**	2,75				2,97	3,44	
8-3	1,17	82,8	*M*	**J**					2,97	3.01	
8-4	4,64	95,6	*P*	**B**	2,75				2,98	3,13	
spoj **9**											
9-1	0,00			**K**		2,74			2,96	3,01	
9-2	1,61			**B**	2,75				2,96	3,03	
9-3	5,19			**B**	2,75				2,96	3.31	
spoj **10**											
10-1	0,00	–86,1	*P*	**L**					2,96	3,05	3,04
10-2	8,16	83,5	*P*	**L**	2,75				3,02	3,14	3,04



Slika 60. Obrasci vodikovih veza potvrđeni analizom QTAIM u optimiziranim geometrijama najstabilnijih konformera spojeva od **5** do **10**.

4.3.1. Konformacijska analiza tetrapeptida Boc−L-Ala−(Aib)$_3$−NHFc

Spoj s najvećim brojem atoma, spoj **10**, ima najjednostavniju energijsku raspodjelu konformera, zbog čega će rasprava skupa spojeva od **5** do **10** biti započeta sa spojem **10**. Slika 61 prikazuje dijagram energijske raspodjele konformera spoja **10** s pripadnim geometrijama konformera.



Slika 61. Geometrije najstabilnijih konformera spoja **10** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.

Slika 61 sadrži prikaz samo najznačajnijih vodikovih veza. Uz N−H···O vodikove veze pronađene su i N−H···N vodikove veze koje dodatno stabiliziraju β-okrete primarnih vodikovih veza. Za spoj **10** dobivena su samo dva konformera. Peptidni lanac najstabilnijeg konformera spoja **10** (**10-1**) ima strukturu 3_{10} uzvojnice.

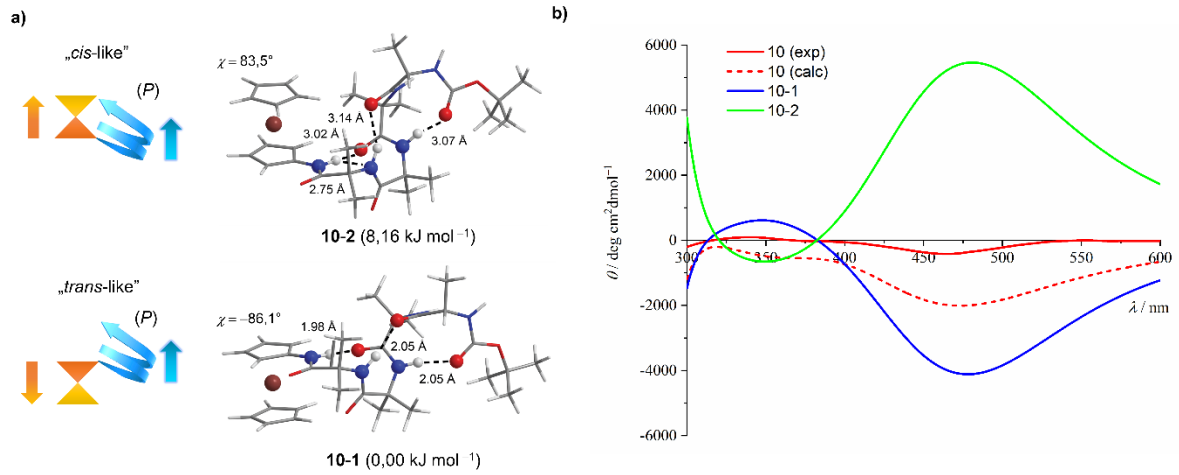
β-okret nastaje povezivanjem donora i akceptora protona (vodikova veza). Promatra li se peptidni lanac u smjeru od *N* prema *C*-kraju, akceptor vodika sadrži *i*-ta aminokiselina, a donor aminokiselina na položaju (*i* + 3), što znači da u β-okretu sudjeluju četiri aminokiseline (proton donor i akceptor udaljeni su za dva aminokiselinska ostatka). Uzastopno nizanje β-okreta tipa I daje strukturu idealne 3_{10} uzvojnice. Jedan (puni) okret 3_{10} uzvojnice sadrži tri aminokiseline, što znači da bi se već četiri aminokiseline u nizu koje su povezane jednim β-okretom mogle

smatrati 3_{10} uzvojnicom, no ako se najkraća 3_{10} uzvojnica i β-okret smatraju različitim strukturama, proizlazi da najkraću 3_{10} uzvojnicu čini pet aminokiselina, a ako se smatra da mogu biti iste, najkraću 3_{10} uzvojnicu čine četiri aminokiseline.[94] 3_{10} Uzvojnicu sastavljenu od pet aminokiselina, prema broju nastalih β-okreta stabiliziraju dvije vodikove veze, 3_{10} uzvojnicu šestero aminokiselina stabiliziraju tri vodikove veze, itd. Konjugati aminoferocena i oligopeptida Aib-a zaštićenog Boc zaštitnom skupinom, osim proton donora i akceptora u Aib-ima, imaju i amino-skupinu ferocena kao proton donor i karbonilnu skupinu Boc zaštite kao proton akceptor. Iz tog razloga konjugati aminoferocena i Aib-a zaštićenog Boc-om mogu imati 3_{10} uzvojnicu Aib-a stabiliziranu dvjema (dodatnim) vodikovim vezama više nego što bi to bio slučaj u jednako dugom oligomeru Aib-a (bez aminoferocena i Boc zaštite).

Jedan okret 3_{10} uzvojnice zahtijeva četiri aminokiseline, to su tri Aib-a uz jedan alanin, što je među spojevima od **5** do **10** jedino slučaj u spoju **10**, a kako su inače oligomeri Aib-a prisutni u samo „jednom“ (zanemarujući heličnost) konformeru, razlog najjednostavnije raspodjele konformera spoja **10** leži u činjenici da jedini ima jedan okret 3_{10} uzvojnice. 3_{10} uzvojnica konformera spojeva **10** stabilizirana je trima vodikovim vezama triju β-okreta. Naime amino-skupina ferocena i karbonilna skupina Boc zaštite omogućuju nastajanje dviju dodatnih vodikovih veza u odnosu na „sam“ peptidni lanac L-Ala−$(Aib)_3$. Energija drugog konformera spoja **10** veća je od energije najstabilnijeg konformera za više od 8 kJ mol^{-1} što predstavlja toliku razliku energije da većinski udio prema Boltzmannovoj raspodjeli pri 298 K ima stabilniji konformer. Oba konformera spoja **10** imaju 3_{10} uzvojnicu iste helične kiralnosti (*P*). Budući da je u spoju **10** dominantno prisutan samo jedan konformer, omogućen je jednoznačan prijenos kiralne informacije s L-Ala preko akiralnog tripeptida građenog od Aib-ova do ferocenskog kromofora. Sljedeći korak bio je potvrditi povezanost između kuta χ i Cottonovog efekta.

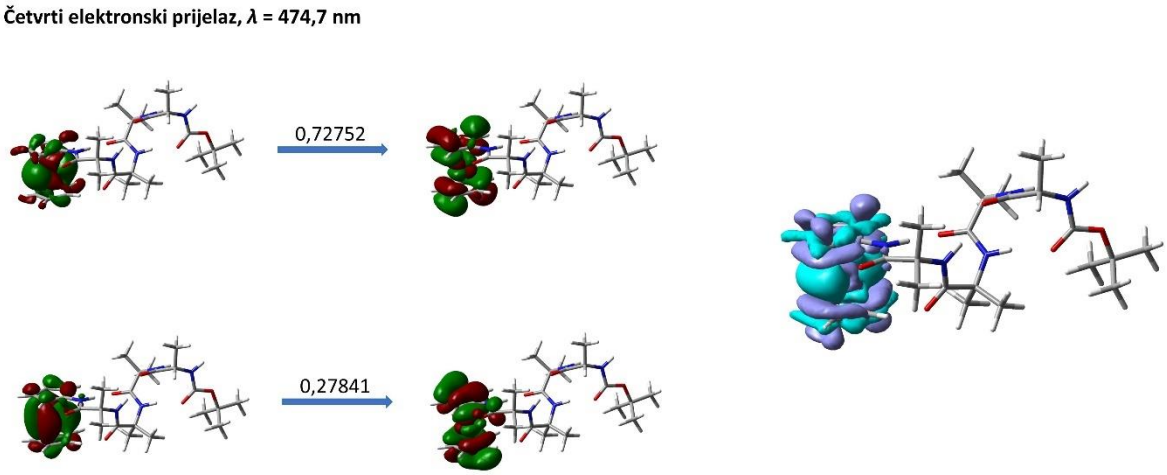
4.3.2. Simulacija CD spektra tetrapeptida Boc−L-Ala−$(Aib)_3$−NHFc

Slika 62 (b dio) prikazuje izračunate CD spektre konformera **10-1** i **10-2**. Slika 62 (b dio) pokazuje da usprkos istoj heličnoj kiralnosti vezanog peptida, konformeri **10-1** i **10-2** pokazuju Cottonove efekte suprotnih predznaka. Uspoređivanjem izračunatog i eksperimentalnog CD spektra vidljivo je da izračunati spektar u području ferocenskog kromofora prati oblik i predznak eksperimentalno određenog CD spektra. Konformeri **10-1** i **10-2**, iste heličnosti peptidnog lanca (i L-kiralnosti aminokiseline) odnosno peptida smotanog na isti način, razlikuju se u orijentaciji ferocenske jedinice s obzirom na ostatak molekule.

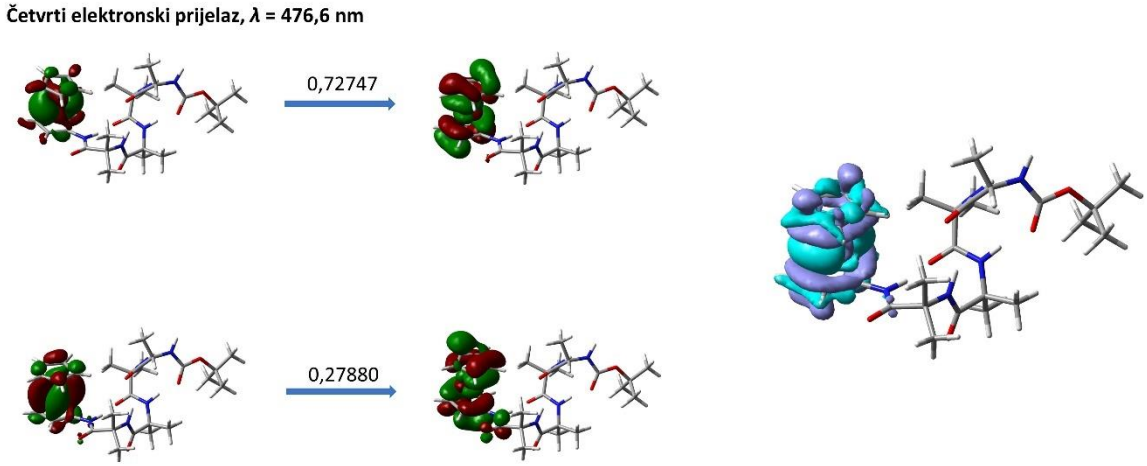


Slika 62. (a) Geometrije konformera **10-1** i **10-2**. Shematski prikaz konformacija koje nalikuju *trans* (engl. „*trans*-like"), odnosno *cis* (engl. „*cis*-like") rasporedu ferocenske jedinice (narančasto) i 3_{10} uzvojnice (plavo). Narančasta strelica pruža se u smjeru od supstituiranog prema nesupstituiranom prstenu ferocena; plava strelica prikazuje smjer zavijenosti heličnog peptida. (b) Izračunati CD spektri konformera spoja **10** i njihov prosječni spektar.

U konformeru **7-2** smjer pružanja od supstituiranog do nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena poklapa se sa smjerom uzvojnice (*"cis*-like"), dok je u **7-1** usmjeren suprotno („*trans*-like") što detaljnije prikazuje Slika 62 (a dio). Kutovi χ u konformerima **10-1** i **10-2** približno su istih apsolutnih vrijednosti, ali suprotnih predznaka. Gotovo suprotni kutovi χ ukazali su na objašnjenje suprotnih predznaka Cottonovih efekata konformera **10-1** i **10-2**, a da bi se potvrdilo kako je predznak Cottonovog efekta uvjetovan vrijednošću kuta χ i kod konformera **10-1** i **10-2** morala je postojati preraspodjela elektronske gustoće na amidnoj skupini direktno vezanoj na ferocen, u elektronskom prijelazu valna duljina kojeg odgovara CD apsorpcijskom maksimumu ferocenskog kromofora. Iz prethodnog su razloga izračunate prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja za prvih šest elektronskih prijelaza u CD spektru. Slike 63 i 64 prikazuju prirodne prijelazne orbitale i razliku elektronske gustoća za četvrti elektronski prijelaz (apsorpcijski maksimum ferocenskog kromofora) konformera **10-1** i **10-2**. Slike prirodnih prijelaznih orbitala i razlika elektronskih gustoća svih izračunatih elektronskih prijelaza (šest) konformera **10-1** i **10-2** prikazane su u prilogu rada od slike P25 do slike P36.



Slika 63. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,7 nm) konformera **10-1** u cirkularnom dikroizmu.



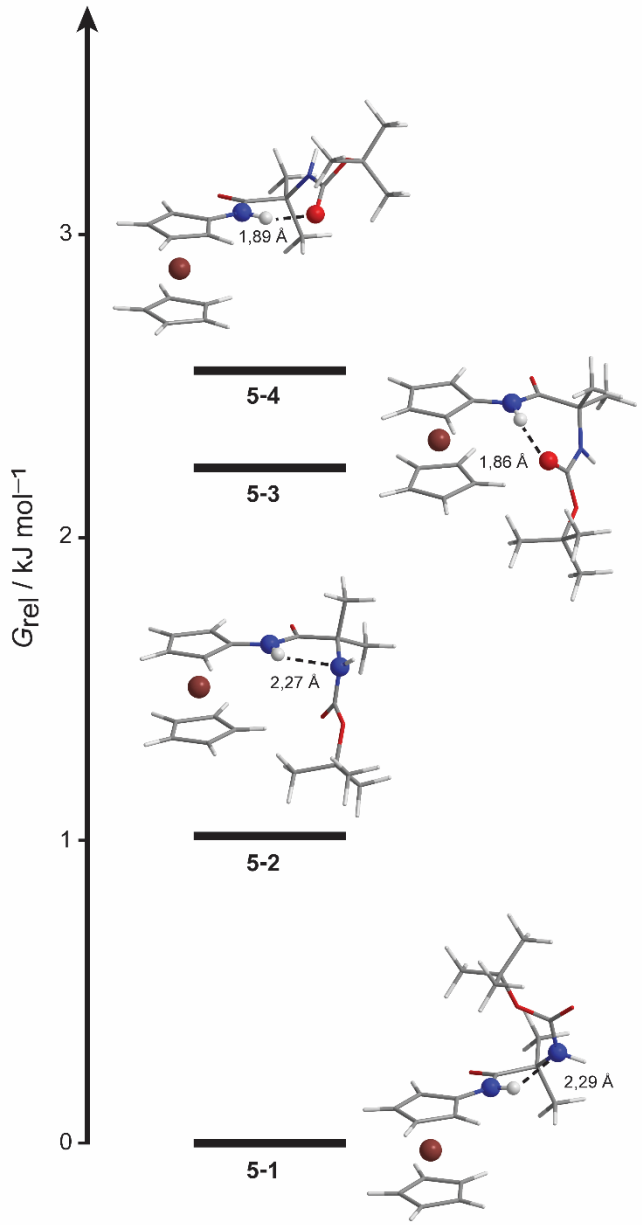
Slika 64. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,7 nm) konformera **10-2** u cirkularnom dikroizmu.

Prirodne orbitale prijelaza i razlika elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja četvrtog elektronskog prijelaza konformera **10-1** i **10-2** pokazali su da se kod oba prijelaza ferocenskog kromofora maksimalnog intenziteta elektronska gustoća preraspodjeljuje iz prostora oko jezgre željezova atoma na ciklopentadienilne prstenove te da do manje promjene elektronske gustoće dolazi u amidnoj skupini direktno vezanoj na ferocen. Informacija o središnjoj kiralnosti L-alanina je preko *P*-helične 3_{10} uzvojnice prenesena do ferocenskog kromofora, a on ovisno o relativnoj orijentaciji ferocenske jedinice i vezanog peptidnog lanca, što je definirano χ kutom,

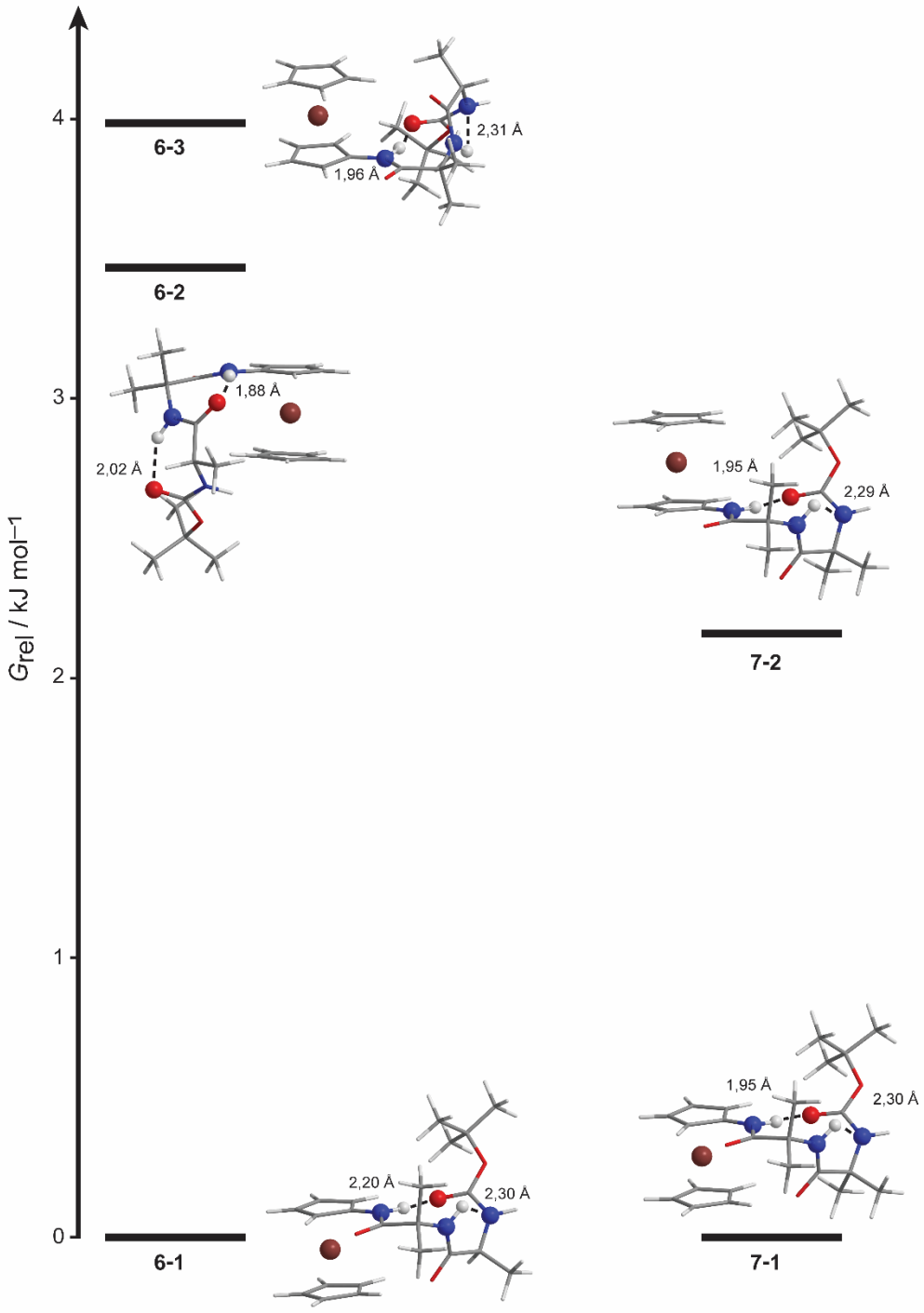
do njega prenesenu kiralnu informaciju osjeća na dva različita načina, što se pak odražava suprotnim Cottonovim efektima oko 470 nm.

4.3.3. Konformacijska analiza peptida Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc i Boc−(Aib)$_n$−NHFc, n = 1 − 2

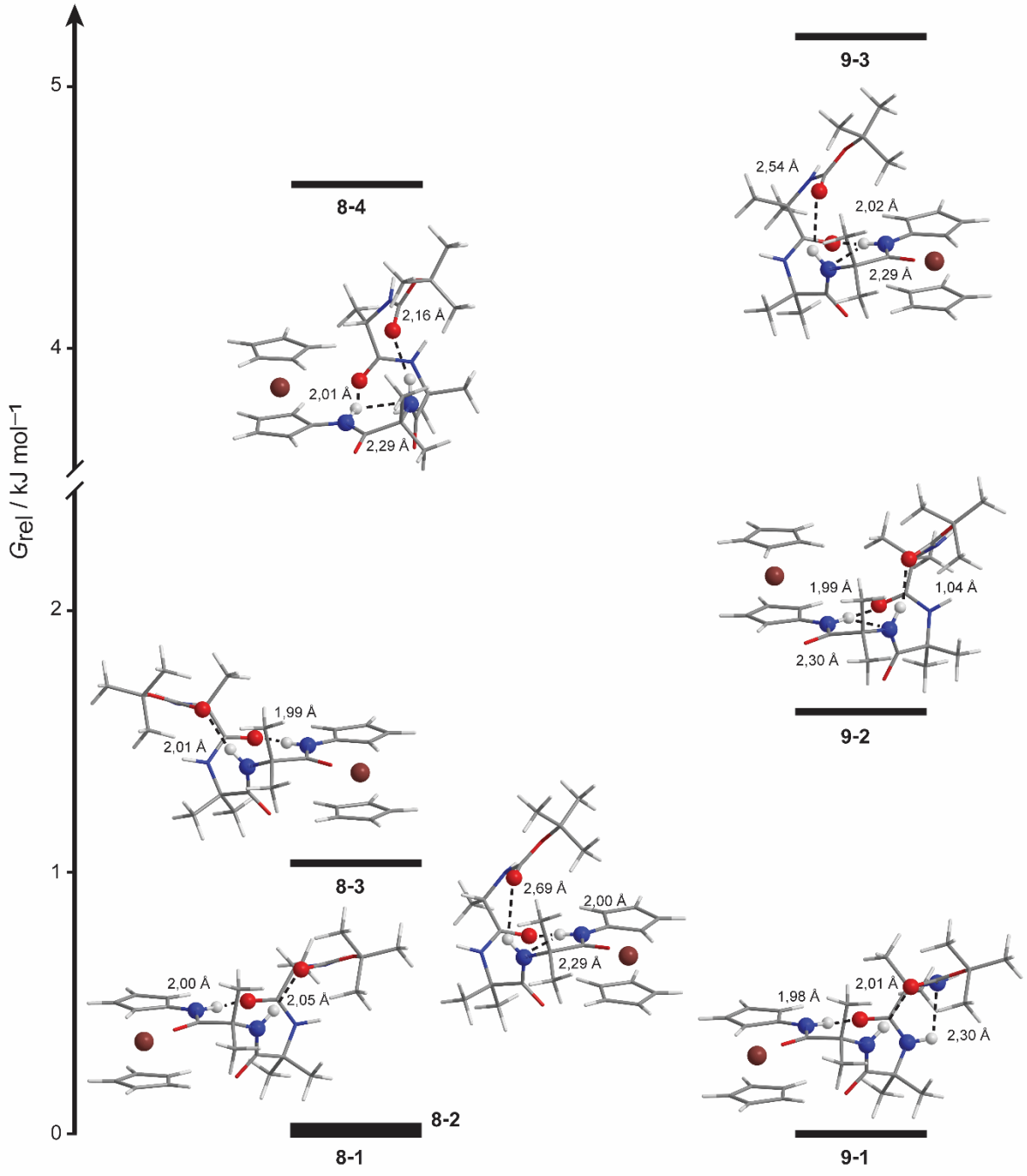
Slična analiza zatim je provedena i za ostale spojeve u skupini. Slike 65, 66 i 67 prikazuju energijsku raspodjelu konformera spojeva od **5** do **9** s pripadnim geometrijama konformera.



Slika 65. Geometrije najstabilnijih konformera spoja **5** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.



Slika 66. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **6** i **7** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.

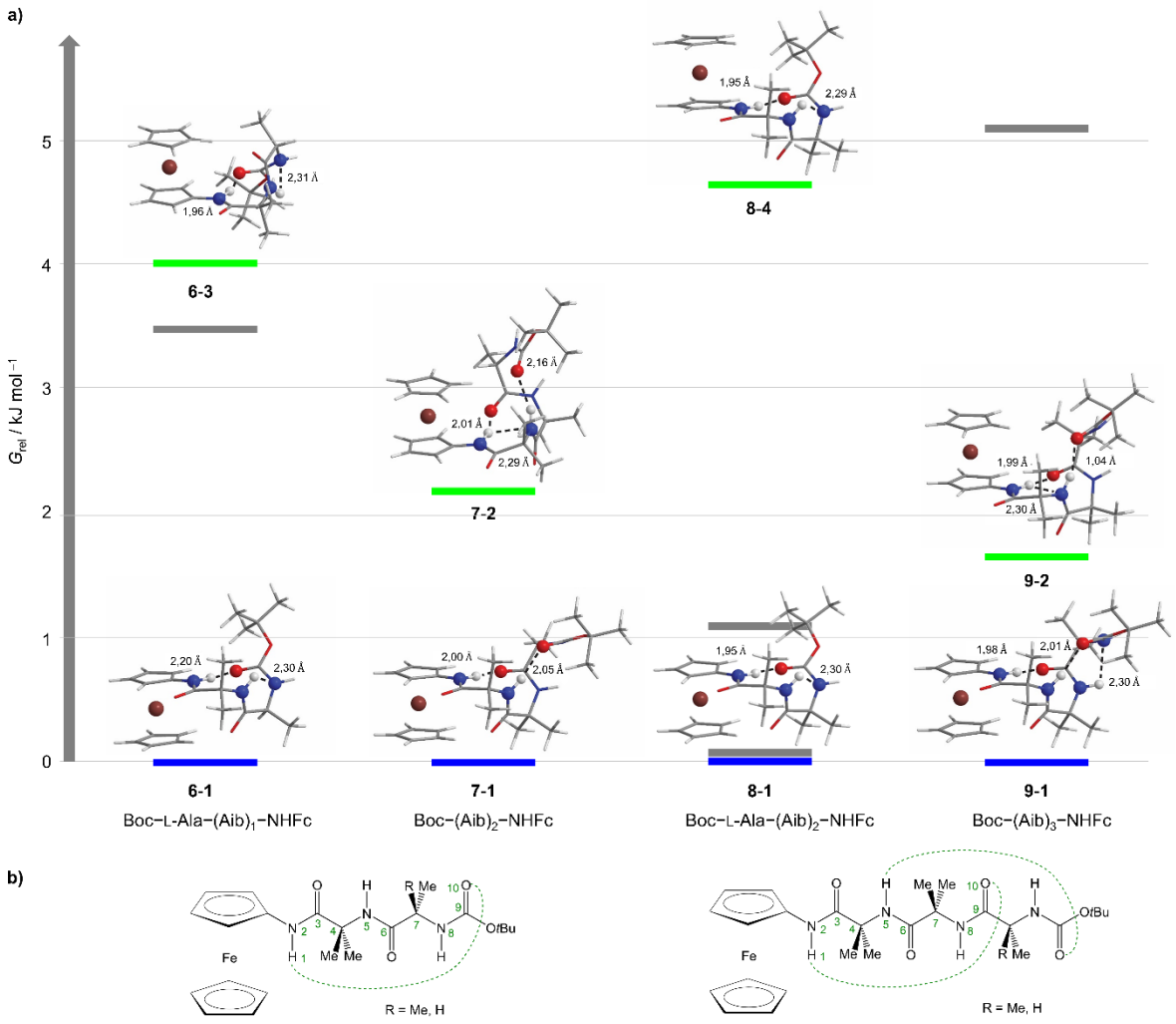


Slika 67. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **8** i **9** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.

Reduciranjem duljine poveznice, izgrađene od Aib-a, između ferocenskog kromofora i kiralne aminokiseline, s tri aminokiseline na niže, više ne postoji minimalni broj aminokiselina potreban za jedan okret 3_{10} uzvojnice, što je pak uzrokovalo da su za spojeve od **5** do **9** dobivene kompleksnije raspodjele konformera. Broj uzastopnih β-okreta sustavno se smanjuje za po jedan u sljedećem nizu **10** → **8**, **9** → **6**, **7**. Kompleksnije raspodjele konformera spojeva od **5** do **9** prikazuju slike 65, 66 i 67. Drugim riječima, iako spojevi s barem dva Aib-a dugom poveznicom imaju donor (amino-skupina aminoferocena) i akceptor protona (karbonilna skupina Boc zaštite) udaljen za dva aminokiselinska ostatka (sustav sličan peptidnom lancu četiriju aminokiselina), takvi sustavi nisu dominantno prisutni u jednom konformeru, kao što je bio slučaj za spoj **10**. U usporedbi s ovim spojevima, konfiguracijski izomeri spoja Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc (od **1** od **4)** također nisu imali dovoljan broj aminokiselina za formiranje jednog okreta 3_{10} uzvojnice.

Helične kiralnosti peptidnih lanaca konformera spojeva **8** i **6** nisu uniformne. Tako su peptidni lanci oba najstabilnija konformera *P* helične kiralnosti, oba sljedeća po stabilnosti konformera *M* helične kiralnosti i trećeg po stabilnosti konformera *P* helične kiralnosti kod spoja **6**, a *M* kod spoja **8**. Također, određena helična kiralnost peptidnih lanaca ne određuje jednoznačno kut χ. Spoj **6** većinski je prisutan u najstabilnijem konformeru (oko 70 %) iz čega proizlazi da poveznica Aib-a prilično jednoznačno prenosi kiralnu informaciju s aminokiseline na ferocenski kromofor. Spoj **8** pokazuje kako je dipeptid Aib-a puno problematičniji za primjenu u dizajnu CD ferocenskog senzora. Njegova po stabilnosti prva dva konformera vrlo su bliskih energija (time i udjela), a imaju suprotne kutove χ. Zato prijenos kiralne informacije s aminokiseline na ferocen putem dipeptida Aib-a nije jednoznačan te se ta poveznica (bez dodatnih strukturnih modifikacija) ne može koristiti za dizajn ferocenskog CD senzora. Konformacije s istim obrascem vodikovih veza i istom heličnom kiralnošću, ali suprotnim orijentacijama ferocenske jedinice (koja sliči *trans* i koja sliči *cis*) pronađene su i kod ostalih članova ove serije spojeva. Slika 68 za svaki od spojeva od **6** do **9** (kiralna i akiralna serija spojeva) daje usporedbu konformera istih obrazaca vodikovih veza i heličnih kiralnosti, ali suprotnih orijentacija ferocena.

Konformeri vrijednosti energija označenih plavim crtama imaju negativnu vrijednost kuta χ, dok oni energija označenih zelenim crtama imaju pozitivnu vrijednost χ kuta.

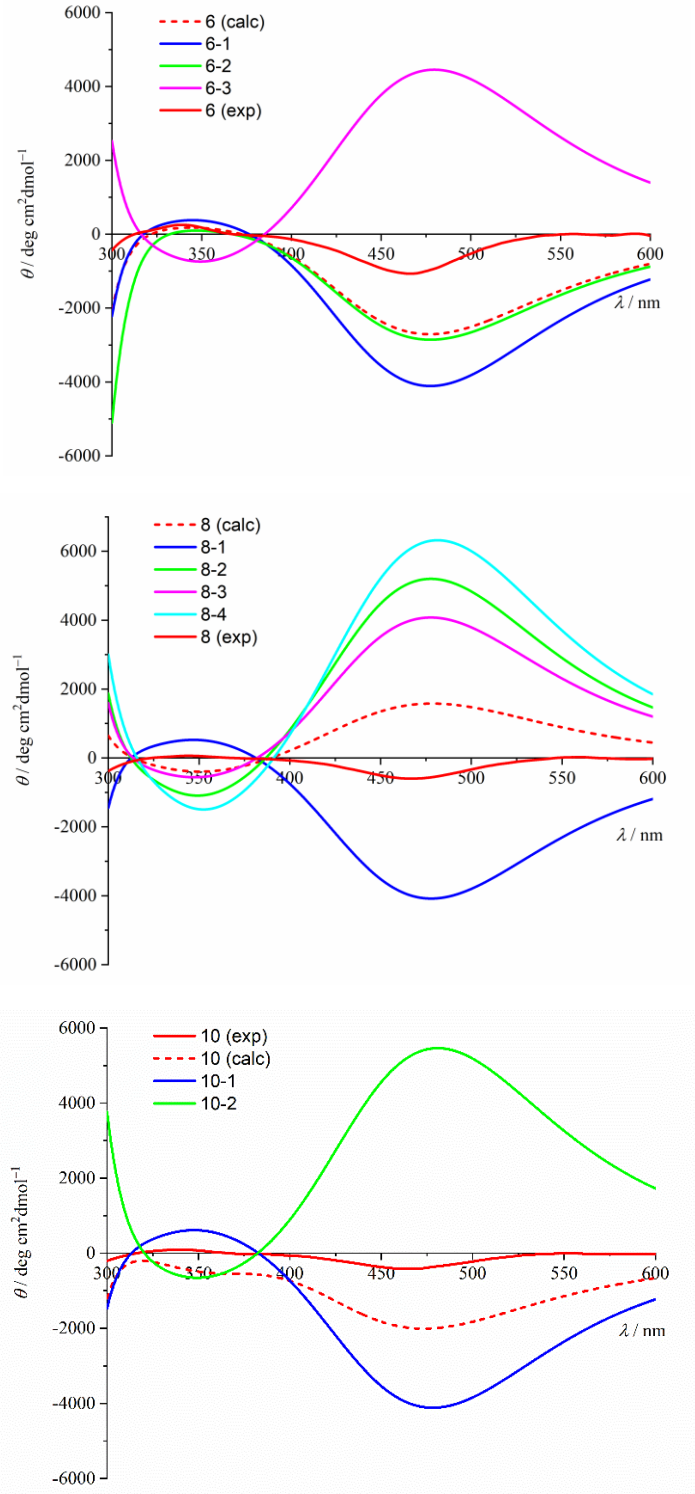


Slika 68. Energijski dijagram konformera koji sliče *cis* i koji sliče *trans* spojeva od **6** do **9**. Konformeri iste heličnosti peptidnog lanca, ali suprotne orijentacije relativno prema ferocenskom sustavu (engl. „*trans*-like“, „*cis*-like“, prikazani plavim i zelenim horizontalnim linijama) imaju približno suprotne vrijednosti χ kutova.

U slučaju sva četiri spoja stabilniji je konformer „*trans*-like“ orijentacije (χ < 0). Razlika energija konformera koji sliči na *trans* i koji sliči na *cis* povećava se kod ferocenskih peptida Aib-a i L-alanina (spoj **6**, **8** i **10**) s povećanjem duljine Aib-poveznice, odnosno u nizu: dipeptid **6** (3,98 kJ mol^{-1}) → tripeptid **8** (4,64 kJ mol^{-1}) → tetrapeptid **10** (8,16 kJ mol^{-1}). U akiralnoj seriji spojeva ferocena supstituiranog Aib-om (bez vezanog alanina) razlika energija konformera koji sliči na *trans* i koji sliči na *cis* smanjuje se u nizu dipeptid **7** (2,16 kJ mol^{-1}) → tripeptid **8** (1,17 kJ mol^{-1}). Uspoređivanje razlika energija konformera koji sliči na *trans* i koji sliči na *cis* između parova spojeva s istim brojem aminokiselina, što je par spojeva **6** i **7** i par spojeva **8** i **9**, pokazuje da su ova dva konformera „energetski“ odvojenija u kiralnim spojevima (**6** i **8**) u odnosu na akiralne spojeve.

4.3.4. Simulacija CD spektara peptida Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc, n = 1 − 2

Slika 69 prikazuje računalno izračunate CD spektre (kiralnih) spojeva **6**, **8** i **10**.



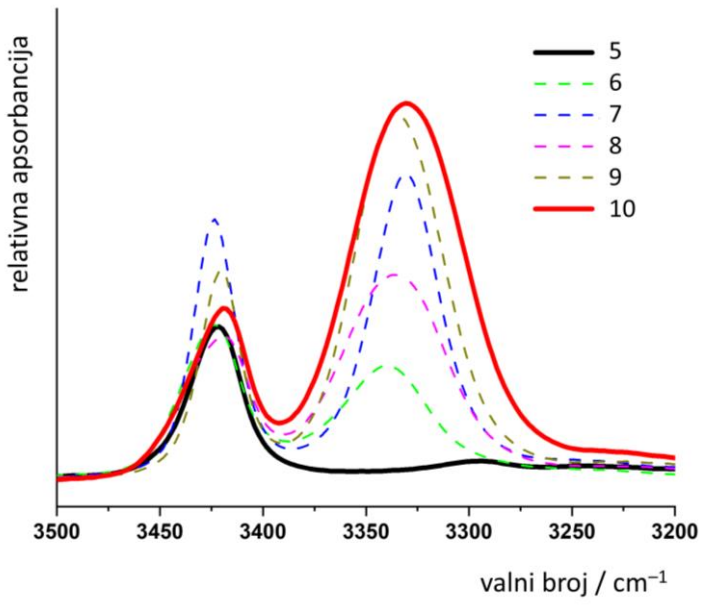
Slika 69. Pojedinačni CD spektri najstabilnijih konformera spojeva **6**, **8** i **10** izračunati metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranima funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD). Prosječni CD spektar (calc) izračunat je pri 298 K i uspoređen s eksperimentalnim (exp) spojeva snimljenih u diklormetanu.

Slaganje računalno izračunatih i eksperimentalno izmjerenih CD spektara (kiralnih) spojeva **6**, **8** i **10** poprilično je dobro. Računalno izračunati CD spektri spojeva **6** i **10** odlično prate predznak i oblik eksperimentalno izmjerenog Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Izračunati i izmjereni CD spektri spoja **8** razlikuju se u predznaku Cottonovog efekta. Pri eksperimentalnom određivanju CD spektra spoja **8** izrazito mali dodatak DMSO-a uzrokovao je promjenu predznaka Cottonovog efekta iz negativnog u pozitivni, što znači da su intramolekulske vodikove veze tog spoja jako osjetljive na polarnost otapala. Prva dva konformera spoja **8** vrlo su bliska u energiji (imaju slične udjele prema Boltzmannovoj raspodjeli), a predznaci Cottonovih efekata ferocenskih kromofora su im suprotni. Na njihove optimizirane geometrije, a time i energije, puno je izraženiji utjecaj odabrane računalne metode, kao i način modeliranja otapala (polarizabilni kontinuum), što lako može dovesti do inverzije energijskih razina, a time i značajno utjecati na predznak Cottonovog efekta.

4.3.5. Usporedba s eksperimentalnim rezultatima

Računalnim metodama dobiveni podaci uspoređeni su s eksperimentalnim rezultatima provedenim u suradnji s izv. prof. dr. sc. Mojcom Čakić Semenčić s Prehrambeno-biotehnološkog fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Slika 70 prikazuje IR spektre otopina spojeva od **5** do **10** u diklormetanu koncentracija c = 5,0 × 10^{-4} mol dm^{-3}.



Slika 70. Amidna regija vibracijskih spektara otopina spojeva od **5** do **10** u diklormetanu koncentracija c = 5,0 × 10^{-4} mol dm^{-3}.

Amidne regije IR spektara otopina spojeva od **6** do **10** u diklormetanu sadrže vrpce (< 3400 cm^{-1}) koje odgovaraju vibracijama NH veze amidne skupine čiji vodikov atom kao donor sudjeluje u vodikovoj vezi. Jedino spektar (otopine) spoja **5** nije pokazao vrpcu NH asocirane u vodikovu vezu. Vrpca vibracije vodikovih veza NH amidnih skupina spoja **6** podjednakog je intenziteta vibraciji slobodne NH skupine. IR spektri snimljeni su za relativno niske koncentracije spojeva ($c = 5 \times 10^{-4}$ mol dm^{-3}) stoga je pretpostavljeno da su vodikove veze opažene u spojevima od **6** do **10** intramolekulske vodikove veze. Prema odnosima apsorbancija NH vodikovih veza spojeva od **6** do **10** vidljivo je da udio vodikovih veza u spoju raste s brojem aminokiselina od kojeg je spoj izgrađen. Uretanska karbonilna skupina spojeva od **6** do **10** apsorbira oko valnog broja zračenja od 1700 cm^{-1} što ukazuje i na njezino sudjelovanje u vodikovim vezama. Koje točno NH skupine pojedinog spoja sudjeluju u tvorbi vodikovih veza te relativne jačine vodikovih veza određene su jednodimenzijskom i dvodimenzijskom NMR spektroskopijom te izučavanjem ovisnosti kemijskih pomaka o temperaturi i udjelu deuteriranog DMSO-a. Vodikovi atomi *N*-terminalnih amidnih skupina svih spojeva (od **5** do **10**) rezoniraju oko $\delta = 5$ ppm implicirajući da ti vodikovi atomi ne sudjeluju u tvorbi vodikovih veza. Iznos promjene kemijskog pomaka aminoferocenskih NH skupina spojeva od **6** do **10**, kao i kemijskog pomaka protona NH skupine Aib1 (smjer numeriranja od ferocena prema „slobodnom“ kraju peptidnog lanca) spojeva od **8** do **10** protona i NH skupine Aib2 spoja **10** uslijed dodatka DMSO-a ukazao je na sudjelovanje navedenih skupina u tvorbi vodikovih veza. Promjene kemijskih pomaka daje tablica 6. Za sve prethodno navedene NH skupine, odnosno spojeve, osim NH skupina Aib1 spojeva **8** i **10**, mala promjena kemijskog pomaka uslijed povećanja udjela DMSO-a do 23 % ukazala je na sudjelovanje tih skupina navedenih spojeva u jakim vodikovim vezama. U slučaju NH skupina Aib1 spojeva **8** i **10** promjena kemijskog pomaka uslijed dodatka DMSO-a (23 %) bila je nešto izraženija, što je ukazalo na sudjelovanje ovih skupina u nešto slabijim vodikovim vezama. Dodatak istog udjela DMSO-a uzrokovao je jako veliku promjenu kemijskog pomaka NH skupina N-terminalnih Aib-a u spojevima **7** i **9** te *N*-terminalnih alanina u spojevima **6**, **8** i **10**, što je ukazalo na nesudjelovanje navedenih skupina navedenih spojeva u vodikovim vezama, odnosno ukazalo je na njihovu izloženost otapalu. Iz promjena kemijskih pomaka i temperaturnih koeficijenata (tablica 6) preostalih (gore ne spomenutih) NH skupina zaključeno je i da NH skupine Aib1 spojeva **6** i **7**, Aib2 spojeva **8** i **9** te Aib3 spoja **10** također ne sudjeluju u formiranju vodikovih veza.

Tablica 6. Kemijski pomaci (δ / ppm) NH veza amidnih skupina spojeva od **6** do **10** izmjerenih ^{1}H NMR spektroskopijom u deuteriranom kloroformu pri koncentracijama $c = 1{,}0 \times 10^{-3}$ mol dm^{-3} (pozicije [a] u tablici). Na pozicijama [b] dane su razlike početnih kemijskih pomaka i onih za udio DMSO-a od 23 % ($\Delta\delta$ / ppm), a na pozicijama [c] temperaturni faktori ($\Delta\delta / \Delta T \times$ K ppb^{-1}).

	NH_{Fc} [a] ([b]; [c])	NH_{Aib1} [a] ([b]; [c])	NH_{Aib2} [a] ([b]; [c])	NH_{Aib3} [a] ([b]; [c])	NH_{Ala} [a] ([b]; [c])
6	8,38 (0,1; –3,2)	6,45 (0,8; –0,1)			5,11 (1,6; –2,1)
7	8,56 (0,1; –3,2)	6,39 (0,5; –0,1)	4,98 (1,79; –1,7)		
8	8,33 (0,2; –2,2)	7,04 (0,7; –4,8)	6,55 (0,6; –0,6)		5,10 (1,6; –1,9)
9	8,50 (0,2; –2,2)	7,55 (0,1; –3,7)	6,56 (0,8; –0,8)	4,13 (1,8; –1,8)	
10	8,51 (0,1; –2,8)	7,46 (0,4; –5,8)	7,39 (0,1; –6,3)	6,81 (1,0; –0,8)	5,55 (1,5; –0,8)

4.4. Pentapeptidi 2-amino-2-metilpropanske kiseline i L-alanina izvedeni iz ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline

Na temelju toga da je ferocen supstituiran tripeptidom građenim od Aib-a na koji je vezan i (kiralni) alanin, dominantno prisutan u obliku jednog konformera („*trans*-like“), pri čemu povećanje duljine poveznice (Aib) utječe na povećanje energijske razlike između „*cis*-like“ i „*trans*-like“ konfiguracija, dobivene su osnovne smjernice za daljnji razvoj ferocenskog CD senzora. U sljedećoj skupini spojeva korištena je poveznica tetrapeptida Aib-a na koju je na *N*- ili *C*-kraju vezana kiralna informacija (L-alanin). Takvi pentapeptidi L-Ala–$(Aib)_4$, odnosno $(Aib)_4$–L-Ala mogu biti vezani svojim *C*-krajem na ferocenamin, odnosno *N*-krajem na ferocenkarboksilnu kiselinu, što rezultira nastankom četiri nova spoja. U ovim spojevima želio se istražiti utjecaj dvaju mogućih načina vezanja ferocena i kiralne aminokiseline na poveznicu (odnosno vezanja ferocena putem ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline) kao i utjecaj izravnog vezanja kiralne aminokiseline na ferocenski kromofor preko *N*- ili *C*-kraja.

Pretraživanjem ploha konformacijskih potencijalnih energija spojeva ove skupine u MacroModelu, u dobivenom skupu konformera bile su prisutne konformacije s karbonilnim kisikovim atomima sa slobodnog kraja peptidnog lanca (kako CO skupine terminalne aminokiseline tako i CO skupina njoj susjednih aminokiselina) bliskim željezovu(II) ionu ferocena. Pentapeptidni lanac relativno je dugačak, zbog čega je moguće njegovo uvijanje prema ferocenskoj jedinici, a takve su konformacije bile stabilizirane, očito prejakim, opisom

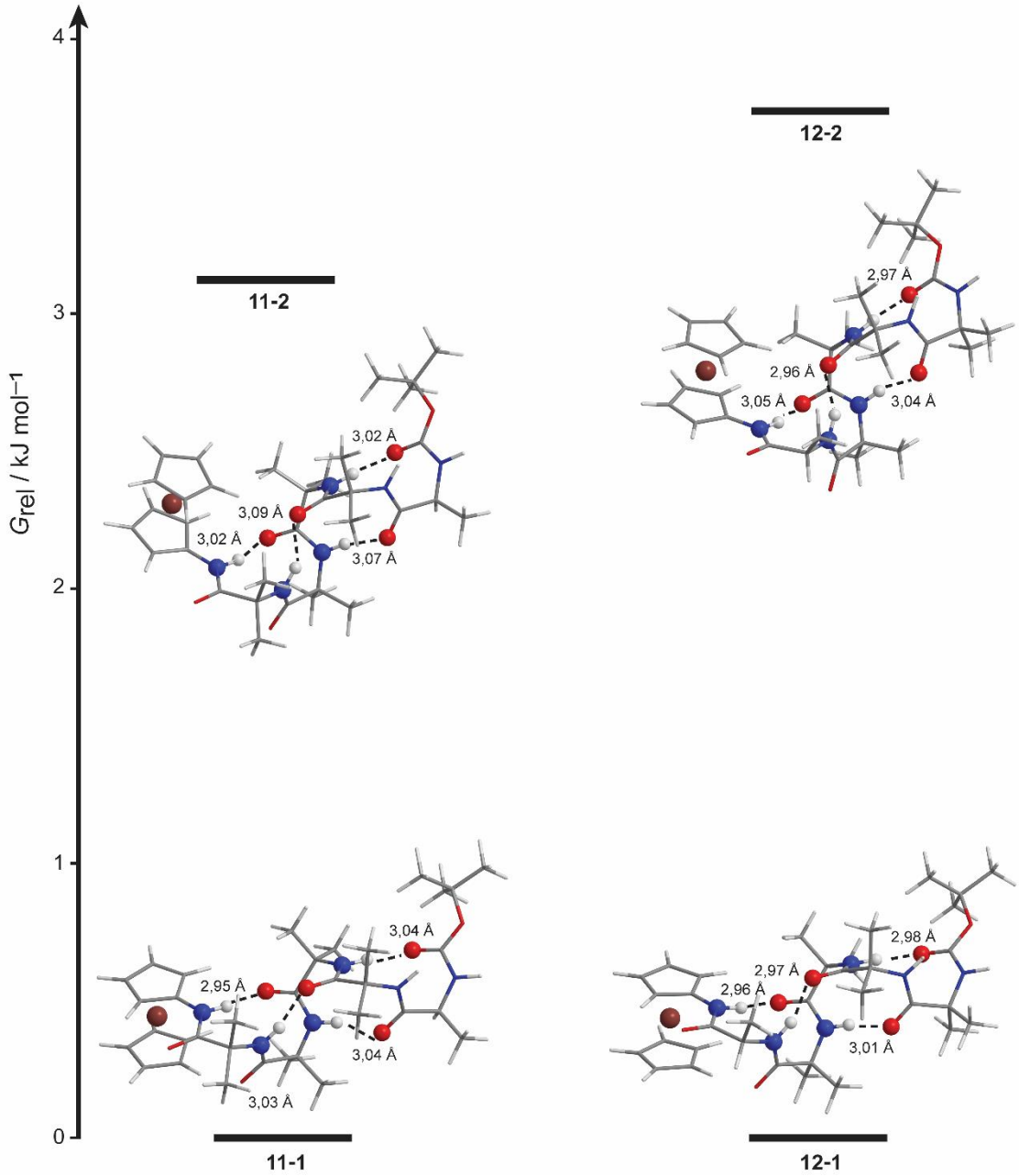
interakcije željezova(II) iona i karbonilnog kisikovog u okviru korištenog polja sila. Ova interakcija vjerojatno bi bila slabija u otapalu, međutim zbog nepostojanja parametra za željezov(II) ion u otapalu, kako u kloroformu tako ni u vodi, pretraživanje PES za određivanje konformera u otapalu nije bilo moguće. Dobivanje konformacija s koordiniranim željezovim(II) ionom karbonilnim skupinama s kraja peptidnog lanca pokušalo se ukloniti drukčijim načinom modeliranja ferocena. Ferocen je modeliran na analogan način dosadašnjem, uz razliku da je željezov(II) ion zamijenjen prividnim atomom. Micanjem željezova(II) iona iz sustava maknuta su dva pozitivna elementarna naboja pa su se ista dva morala dodati na neki drugi način da bi ferocenska jedinica i dalje ostala neutralna. Po jedan pozitivni elementarni naboj pripisan je svakom prividnom atomu u središtu ciklopentadienlinog prstena. Dakle, ferocen je ovom slučaju modeliran dvama ciklopentadienlinim prstenovima povezanima preko trećeg prividnog atoma linearne geometrije s dva koordinacijska mjesta. Udaljenosti prividnih atoma ciklopentadienilnih prstenova na kojoj leži i prividni atom što povezuje ligande postavljena je fiksna vrijednost i to ona koja je u prosjeku dobivana kvantno-mehaničkim optimizacijama prethodno proučavanih spojeva. Nažalost, skupovi konformera dobivenih pretraživanjem ploha konformacijskih potencijalnih energija ferocenskih pentapeptida uz modeliranje ferocena s pomoću tri prividna atoma (bez željezova iona) sadržavali su konformere s vodikovim atomima jako bliskim prividnim atomima ciklopentadienilnih prstenova, očito jer su prividni atomi bili pozitivno nabijeni.

Također je istražen utjecaj korištenja magnezocena ($MgCp_2$), umjesto ferocena ($FeCp_2$) na geometrijske parametre konformera skupa dobivenog pretraživanjem plohe konformacijske potencijalne energije. Pokazalo se da molekulska mehanika sustavno daje veće udaljenosti između ciklopentadienilnih prstenova i metal(II) iona od DFT računa. Naime, preliminarni rezultati pokazali su da konformacijska analiza provedena u MacroModelu na monosupstituiranom magnezocenu ($MgCp_2$) daje vrlo slične udaljenosti između ciklopentadienilnih prstenova onima dobivenim metodom DFT za ferocenske ($FeCp_2$) monopeptide, stoga zamjena Mg(II) s Fe(II) može ubrzati vrijeme optimizacije kvantno-mehaničkim metodama. Ujedno, optimizacijom molekulskom mehanikom metalocenskih peptida uz Mg^{2+} u metalocenu relativni broj krivih konformacija (metalni ion koordiniran karbonilnim skupinama sa slobodnog kraja peptidnog lanca) manji je nego u računima s Fe^{2+} u metalocenu jer očito polje sila interakciju magnezijevog iona i karbonilne skupine opisuje slabije nego u slučaju analogne interakcije s željezovim(II) ionom. Budući da su prijašnji

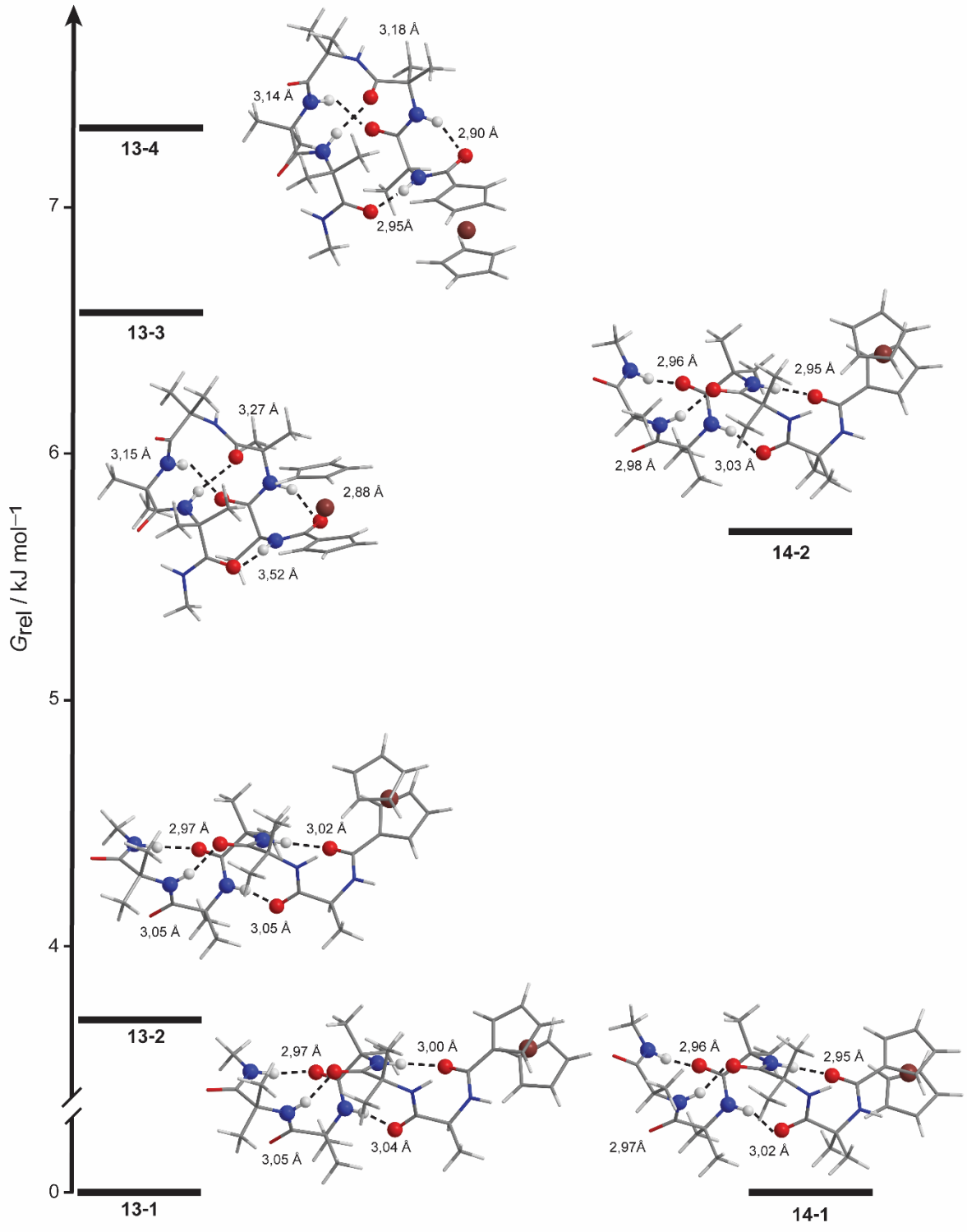
modeli koristili $FeCp_2$ sustav s dva ciklopentadienilna prstena koordinirana na željezov(II) ion preko prividnih atoma, radi usporedbe s prethodnim podacima, i u ovoj skupini spojeva korišten je dosadašnji pristup.

4.4.1. Konformacijska analiza

Slike 71 i 72 prikazuju dijagrame energijske raspodjele konformera spojeva od **11** do **14** s njihovim pripadnim geometrijama.



Slika 71. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **11** i **12** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.



Slika 72. Geometrije najstabilnijih konformera spojeva **13** i **14** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K.

Tablice 7 i 8 sistematiziraju parametre koji opisuju konformere spojeva od **11** do **14**.

Tablica 7. Relativna energija, diedarski kut χ, helična kiralnost, obrasci vodikovih veza i duljine vodikovih veza pojedinih konformera spojeva **11** i **12**. Smjer brojanja Aib-a je od *N*-kraja prema *C*-kraju peptida.

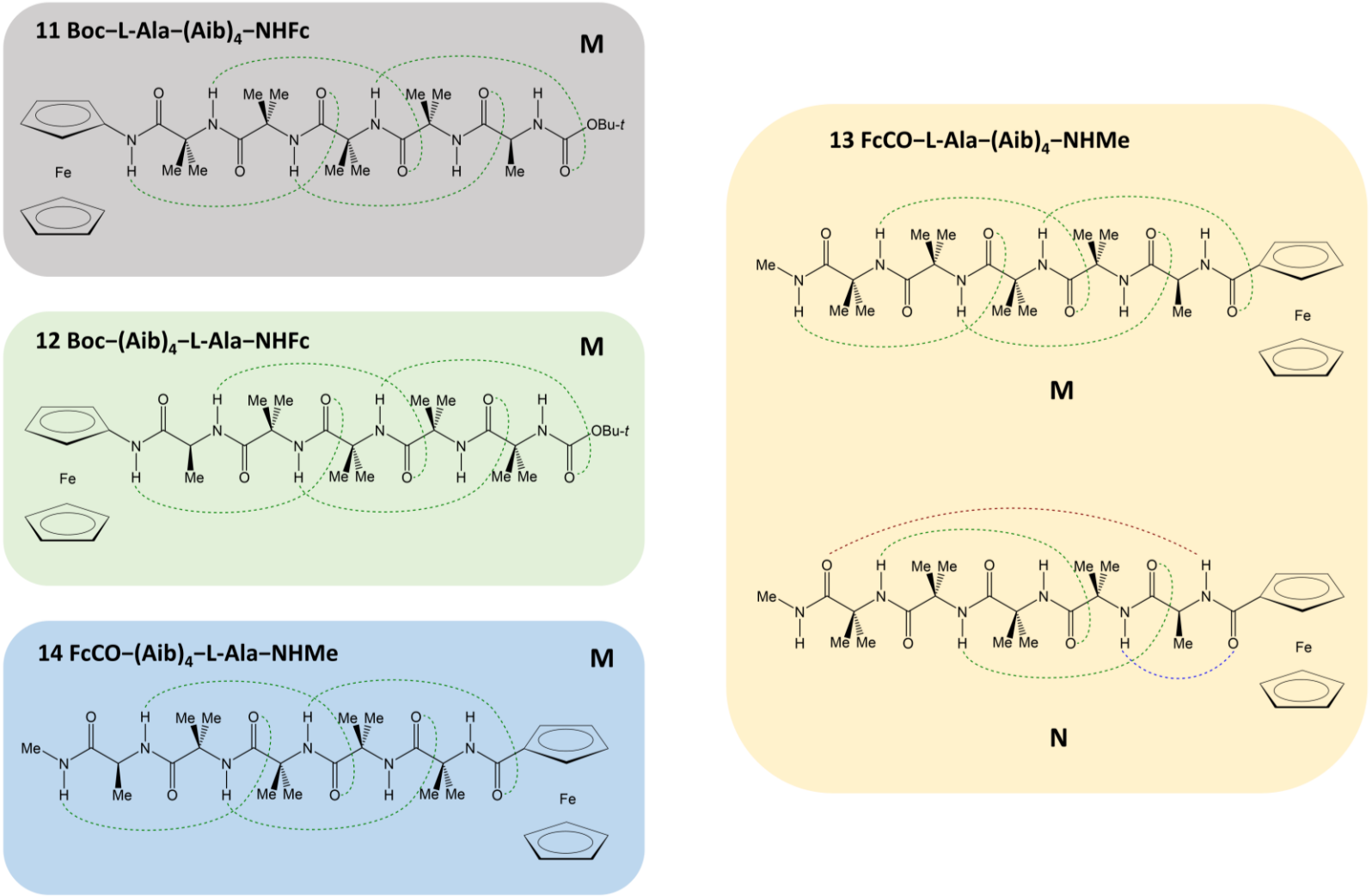
oznaka konformera	G_{rel} / kJ mol^{-1}	χ / °	helična kiralnost	obrazac vodikovih veza	duljina (X–H···Y) / Å						
					$NH_{Fc}\cdots OC_{Aib2}$ 10-eročlani	$NH_{Aib4}\cdots OC_{Aib1}$ 10-eročlani	$NH_{Aib3}\cdots OC_{Ala}$ 10-eročlani	$NH_{Aib2}\cdots OC_{Boc}$ 10-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{Aib3}$ 10-eročlani	$NH_{Ala}\cdots OC_{Aib2}$ 10-eročlani	$NH_{Aib3}\cdots OC_{Boc}$ 10-eročlani
spoj **11**											
11-1	0,00	–82,6	*P*	**M**	2,95	3,03	3,04	3,04			
11-2	3,12	82,9	*P*	**M**	3,02	3,09	3,07	3,02			
spoj **12**											
12-1	0,00	–88,2	*P*	**M**		3,01			2,96	2,97	2,98
12-2	3,75	78,9	*P*	**M**		3,04			3,05	2,95	2,97

Tablica 8. Relativna energija, diedarski kut χ, helična kiralnost, obrasci vodikovih veza i duljine vodikovih veza pojedinih konformera spojeva **13** i **14**. Smjer brojanja Aib-a je od *C*-kraja prema *N*-kraju peptida.

oznaka konformera	G_{rel} / kJ mol^{-1}	χ / °	helična kiralnost	obrazac vodikovih veza	duljina (X–H···Y) / Å						
					$NH_{Aib2}\cdots OC_{Fc}$ $NH_{Aib3}\cdots OC_{Fc}$ 10-eročlani	$NH_{Aib3}\cdots OC_{Ala}$ 10-eročlani	$NH_{Aib4}\cdots OC_{Aib1}$ 10-eročlani	$NH_{Me}\cdots OC_{Aib2}$ $NH_{Aib3}\cdots OC_{Me}$ 10-eročlani	$NH_{Aib1}\cdots OC_{Fc}$ 7-eročlani	$NH_{Ala}\cdots OC_{Aib4}$ 17-eročlani	$NH_{Ala}\cdots OC_{Aib2}$ 10-eročlani
spoj **13**											
13-1	0,00	93,7	*P*	**M**	3,00	3,04	3,05	2,97			
13-2	3,72	–83,3	*P*	**M**	3,02	3,05	3,05	2,97			
13-3	6,59	–99,6	*P*	**N**		3,15	3,27		2,88	2,93	
13-4	7,77	74,1	*P*	**N**		3,14	3,18		2,90	2,95	
spoj **14**											
14-1	0,00	94,0	*P*	**M**	2,95		3,02	2,96			2,97
14-2	5,69	–83,8	*P*	**M**	2,95		3,03	2,96			2,98

Slika 73. prikazuje obrasce vodikovih veza pronađene u konformerima spojeva od **11** do **14** pri analizi podataka dobivenih analizom QTAIM.

Topološki parametri analize dani su od tablice P11 do tablice P14 u prilogu rada.

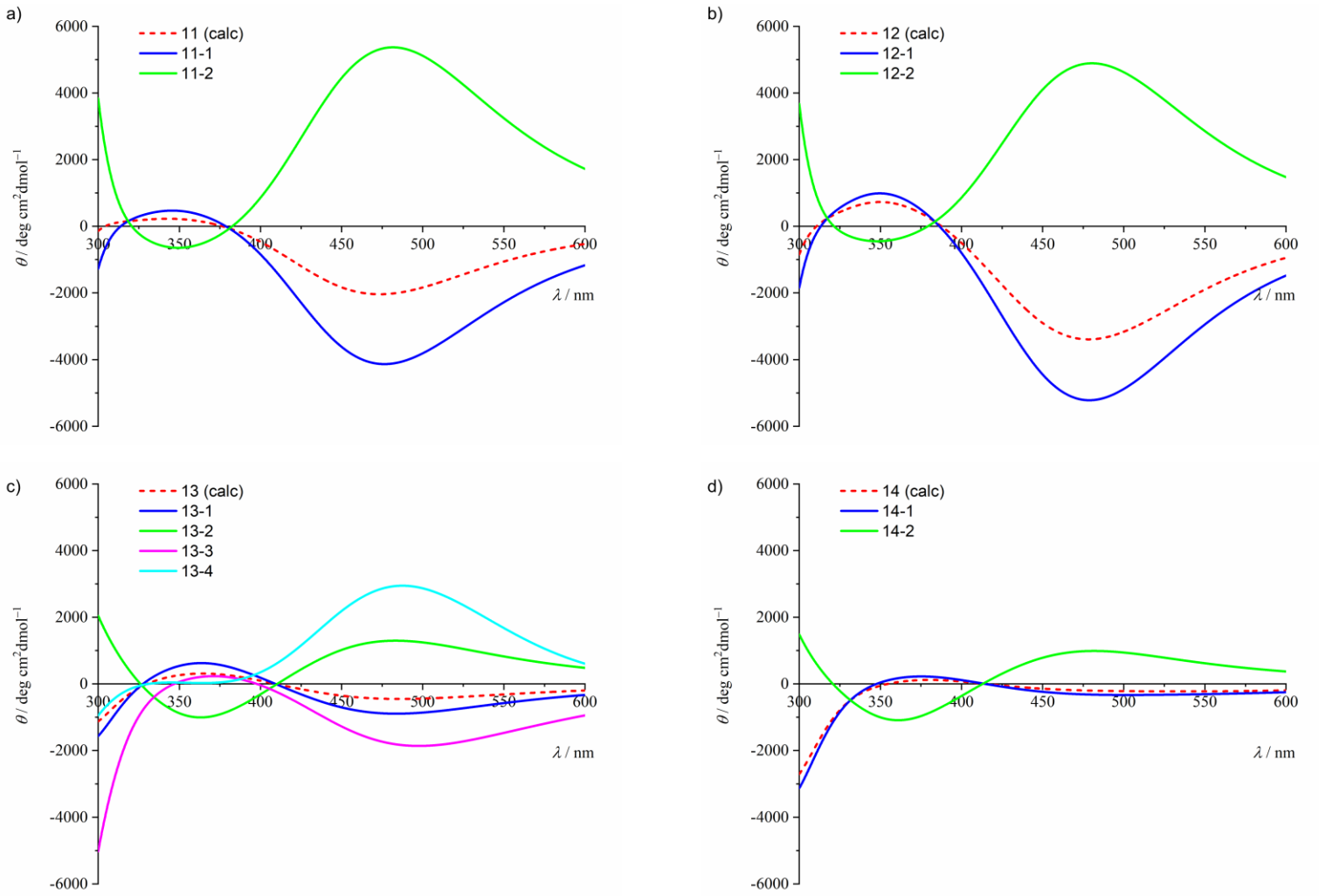


Slika 73. Obrasci vodikovih veza potvrđeni analizom QTAIM u optimiziranim geometrijama najstabilnijih konformera spojeva od **11** do **14**.

Hijerarhijskom konformacijskom analizom dobivena su po dva konformera u kloroformu (modeliranom SMD modelom) za sve spojeve (**11**, **12**, **14**) osim za spoj **13**, za koji su dobivena četiri. Struktura peptidnih lanaca oba spomenuta konformera jest 3_{10} uzvojnica (četiri β-okreta). Također, peptidni lanci oba konformera imaju i istu heličnu kiralnost (*P*), što znači da tetrapeptid Aib-a u slučaju kada se nalazi između kiralne aminokiseline L-alanina i ferocenskog kromofora (spojevi **11** i **14**) postiže jednoznačno nabiranje. Također, kiralna informacija pohranjena u aminokiselini vezanoj (direktno) na ferocen (spojevi **13** i **12**) jednoznačno određuje heličnu kiralnost tetrapeptida Aib-a nadovezanog na aminokiselinu vezanu na ferocen. Dva najstabilnija konformera spojeva od **11** do **14** razlikuju se po orijentaciji ferocenske jedinice s obzirom na peptidni lanac, odnosno ponovno se pojavljuju „*cis*-like“ i „*trans*-like“ (prevladava) konformacije. Osim što je prisutan u prethodno dva opisana konformera, spoj **13** prisutan je i u još dva konformera, puno manjih udjela, čiji peptidni lanci nisu nabrani isključivo β-okretima u 3_{10} uzvojnicu (obrazac vodikovih veza **N**: jedan sedmeročlani, dva deseteročlana i jedan 17-eročlani prsten); udio po stabilnosti prva dva konformera spoja **13** približno iznosi 90 %. Spoj **14** ima najveću razliku energije najstabilnijeg i drugog po redu u stabilnosti konformera, a iznosi 5,7 kJ mol^{-1}.

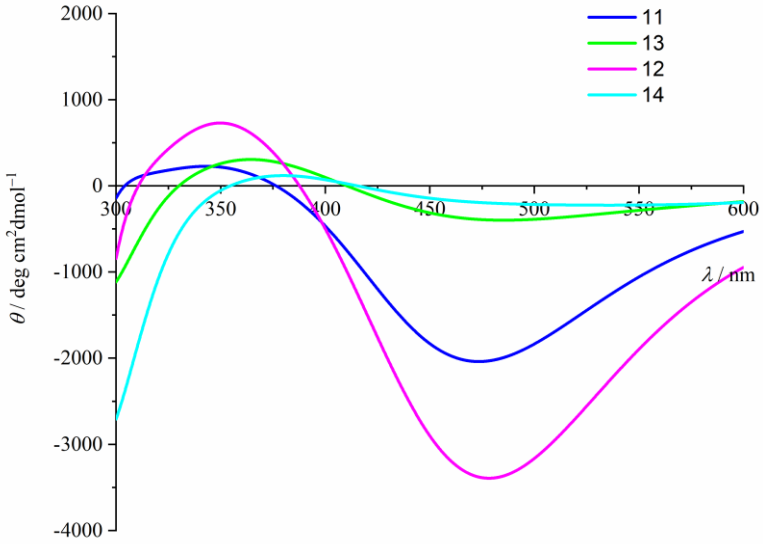
4.4.2. Simulacija CD spektara

Slika 74 prikazuje (izračunate) CD spektre pojedinih konformera spojeva od **11** do **14** kao i njihove prosječne CD spektre.



Slika 74. Pojedinačni CD spektri najstabilnijih konformera spojeva od **11** do **14** izračunati metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranim funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD). Prosječni CD spektar (calc) izračunat je pri 298 K.

Odnos kutova χ (tablica 7) i Cottonovih efekata konformera ferocenskih pentapeptida dobivenih izvođenjem iz aminoferocena, tj. konformera spojeva **11** i **12** (slika 74), prati ovisnosti Cottonovog efekta ferocenskog kromofora o kutu χ određenu na *N*-ferocenilacetamidu (slika 57). Slika 75 daje usporedbu izračunatih prosječnih CD spektara spojeva od **11** do **14**.



Slika 75. Prosječni CD spektri (pri 298 K) spojeva od **11** do **14** izračunatih metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranima funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD).

Molarna eliptičnost Cottonovog efekta izračunatog prosječnog CD spektra spoja **12** veća je od molarne eliptičnosti Cottonovog efekta izračunatog prosječnog CD spektra spoja **11** (predznak Cottonovog efekta isti je kod oba spoja). Najstabilniji konformer spoja **11** i spoja **12**, konformeri **11-1** i **12-1**, pokazuju isti odnos molarnih eliptičnosti Cottonovih efekata, a uzrok tome da su predznaci Cottonovih efekata spojeva **11** i **12** jednaki predznacima Cottonovih efekata njihovih najstabilnijih konformera taj je da su spojevi **11** i **12** većinski prisutni (većinski udjeli) u konformeru **11-1** odnosno konformeru **12-1** (isto vrijedi i slučaju spojeva **13** i **14**). Iz podatka o većoj molarnoj eliptičnosti Cottonovog efekta konformera **12-1** može se zaključiti da je utjecaj kiralne informacije veći kada je kiralna aminokiselina direktno vezana na ferocenski kromofor (spoj **12**). Konformeri **11-1** i **12-1** imaju bitno različite kutove χ (χ(**11-1**) = –82,6°; χ(**12-1**) = –88,2°), parametra čija vrijednost jednoznačno određuje iznos Cottonovog efekt, stoga je razlika Cottonovih efekata sigurno (i) posljedica razlike diedarskih kutova.

Izračunati Cottonovi efekti ferocenskih kromofora spojeva **13** i **14** puno su manjih molarnih eliptičnosti od Cottonovih efekata spojeva **11** i **12,** što pruža prednost vezanju ferocenske

jedinice putem aminoferocena u dizajnu ferocenskog CD senzora u usporedbi s vezanjem preko ferocenkarboksilne kiseline. Suprotno u odnosu na spojeve **11** i **12**, između spojeva **13** i **14** veći Cottonov efekt pokazuje spoj koji nema kiralnu aminokiselinu direktno vezanu na ferocenski kromofor (spoj **14**). Konformeri **13-1** i **14-1** pokazuju Cottonov efekt iste molarne eliptičnosti, što postaje vrlo jasno kada se uzme u obzir da ti konformeri imaju približno iste kutove χ (χ(**13-1**) = 93,7°; χ(**14-1**) = 94,0°). Također, prethodno pokazuje da je utjecaj kiralne informacije direktno vezane na ferocen moguć samo ako postoji razlika kutova χ. Kut χ za ferocenske peptide izvedene iz ferocenkarboksilne kiseline definiran je preko dva centroida ciklopentadienilnih prstenova te ugljikovog atoma (karbonilna skupina) i dušikovog atoma amidne skupine direktno vezane na ferocen (Cg_{Cp2}−Cg_{Cp1}−C−N). Iz prethodnog proizlazi da je prijenos kiralne informacije s aminokiseline na ferocenski kromofor neovisan o tome je li aminokiselina vezana direktno na kromofor ili je vezana preko akiralne poveznice.

Konformeri spoja **14**, i po stabilnosti prva dva konformera spoja **13** ne prate ovisnost (predznaka) Cottonovog efekta o kutu χ određenu na *N*-ferocenilacetamidu. Budući da su spojevi **11** i **12** derivati ferocenamina, a spojevi **13** i **14** ferocenkarboksilne kiseline, veza amidne skupine s ciklopentadienilnim prstenom ostvarena je preko karbonilnog ugljikova atoma karbonilne skupine u spojevima **13** i **14** te je bilo potrebno simulirati i utjecaj rotacije tako vezane amidne skupine na signal ferocenskog kromofora u CD spektru.

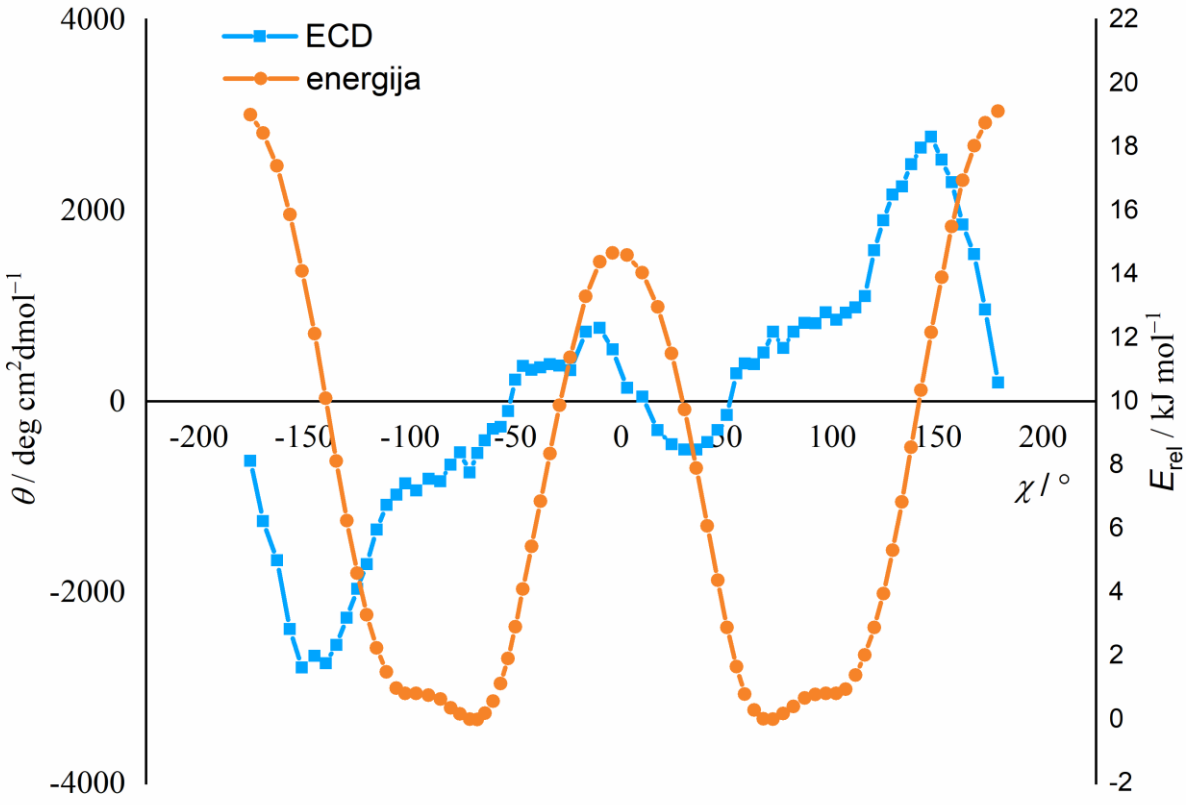
4.4.3. Simulacija CD spektra N-metilferocenamida

Prethodno je pokazano da na amidnoj skupini direktno vezanoj na ciklopentadienilni prsten dolazi do preraspodjele elektronske gustoće pri elektronskom prijelazu čija valna duljina odgovara maksimumu Cottonovog efekta ferocenskog kromofora, stoga se moglo pretpostaviti da na Cottonov efekt, preko diedarskog kuta χ, utječe i način vezanja amidne skupine preko dušikovog ili karbonilnog ugljikovog atoma. U tu je svrhu izračunata i ovisnost Cottonovog efekta ferocenskog kromofora o kutu χ na još jednom modelnom spoju, *N*-metilferocenamidu (FcCONHMe), u kojem su ferocen i amidna skupina povezani preko karbonilnog ugljikovog atoma amidne skupine.

Prvo je kao i kod *N*-ferocenilacetamida (FcNHCOMe) generirano 36 struktura – rotacija (početnog) kuta χ u najstabilnijem konformeru za 10° i njegove višekratnike sve do 360° – te su generirane geometrije optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u otapalu kloroformu

modeliranom polarizabilnim kontinuumom (PCM). Dobivena ovisnost molarne eliptičnosti Cottonovih efekata ferocenskih kromofora optimiziranih geometrija o kutu χ (Cg_{Cp2}–Cg_{Cp1}–C–N) nije bila kontinuirana kao što je to bio slučaj kod *N*-ferocenilacetamida, stoga su rotacijom kuta χ za po 5° do prolaska punog kuta generirane 72 geometrije. U ovom slučaju također nije dobivena kontinuirana ovisnost, ali se mogao uočiti jasan trend ovisnosti CD signala ferocenskog kromofora o diedarskom kutu χ. Valja spomenuti da su dobivene geometrije dobivene djelomičnom relaksacijom geometrije takve da je kut χ zadržan konstantnim.

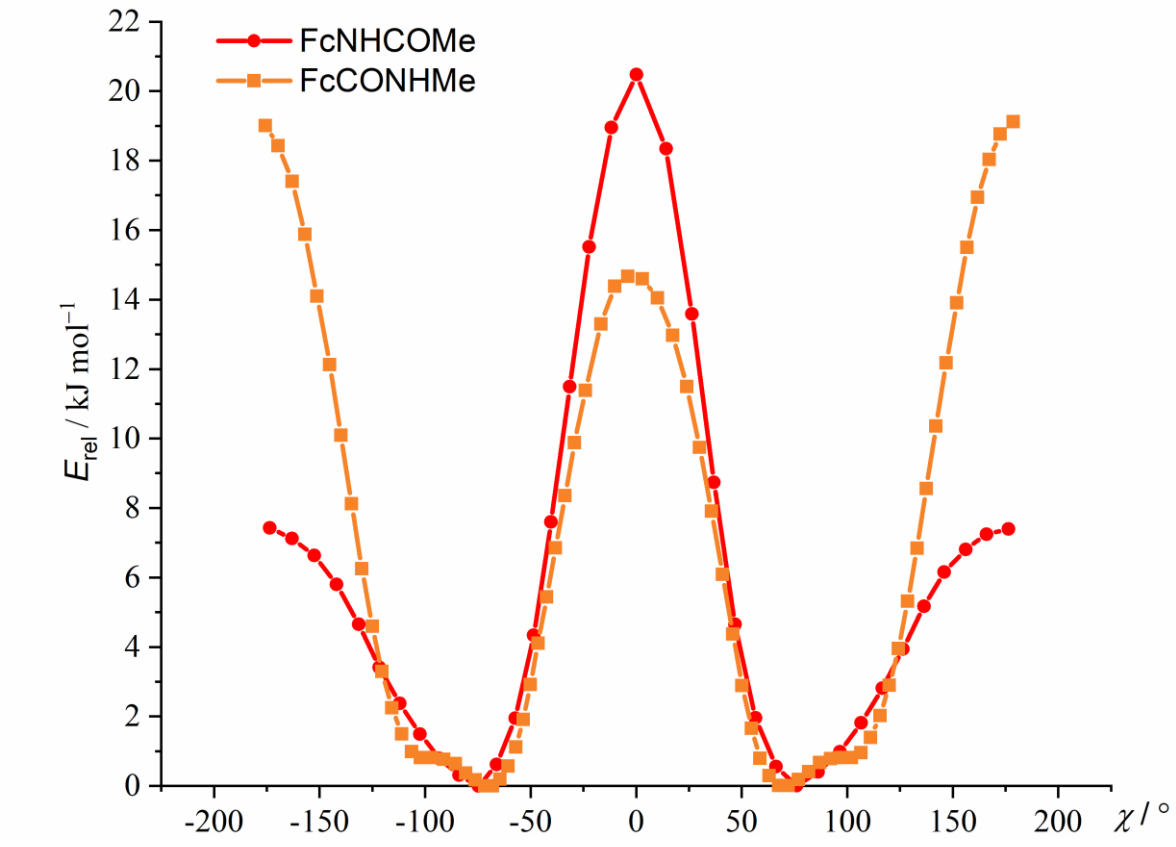
Geometrije i CD spektri modelirani funkcionalom CAM-B3LYP dali su slični oblik spektra kao i funkcional B3LYP-D3. Slika 76 prikazuje ovisnost Cottonovog efekta ferocenskog kromofora *N*-metilferocenamida o kutu χ modeliranom funkcionalom B3LYP-D3.



Slika 76. Ovisnost energije (desna ordinata, narančaste točke) *N*-metilferocenamida o χ kutu izračunata funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM model). Ovisnost molarne eliptičnosti (lijeva ordinata, svijetloplave točke) Cottonovog efekta ferocenskog kromofora ($\lambda \approx 450$ nm) *N*-metilferocenamida o kutu χ izračunata metodom TDB3LYP.

Ovisnost molarne eliptičnosti (slika 76) u rasponu diedarskih kutova od –175° i –97° te od 87° do 178° poprilično je kontinuirana, dok u preostalom rasponu diedarskih kutova nije

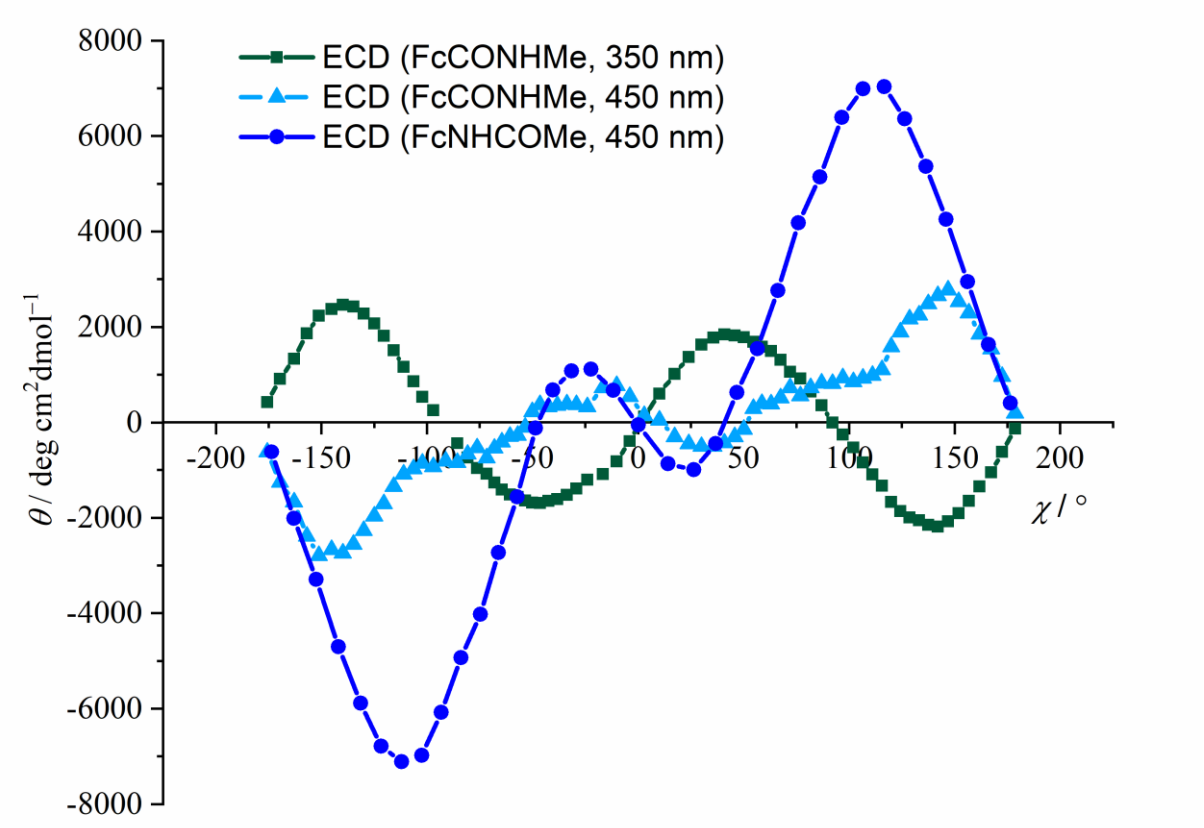
kontinuirana. Usporedbu ovisnosti relativne energije o kutu χ, $E(\chi)$, za *N*-ferocenilacetamid i *N*-metilferocenamid prikazuje slika 77, pri čemu je relativna energija svakog od dvaju skupova podataka izračunata s obzirom na najmanju energiju u tom skupu podataka.



Slika 77. Usporedba ovisnost energija *N*-ferocenilacetamida (crvene točke) i *N*-metilferocenamida (narančaste točke) o χ kutu izračunata funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (PCM).

Na slici 77 lako je vidljivo da ovisnosti energija o kutu χ modelnih spojeva *N*-ferocenilacetamida i *N*-metilferocenamida postižu maksimume pri istim kutovima χ, za koje su ravnine ciklopentadienilnog prstena i amidne skupine međusobno okomite (χ = 0° , ±180°). U slučaju *N*-metilferocenamida i drugi maksimum, s obzirom na prvi, ima relativno visoku energiju.

Kako ovisnost molarne eliptičnosti o χ, $\theta(\chi)$, za *N*-metilferocenamid pri valnoj duljini od približno 450 nm nije kontinuirana, a ferocenski kromofor ima i vrpcu i na $\lambda \approx 350$ nm, istražena je ovisnost molarne eliptičnosti o χ za *N*-metilferocenamid pri $\lambda \approx 350$ nm. Ovisnost molarne eliptičnosti pri $\lambda \approx 350$ nm pokazala se kontinuiranom, a prikazuje ju slika 78 zajedno s ovisnosti $\theta(\chi)$ pri $\lambda \approx 470$ nm.



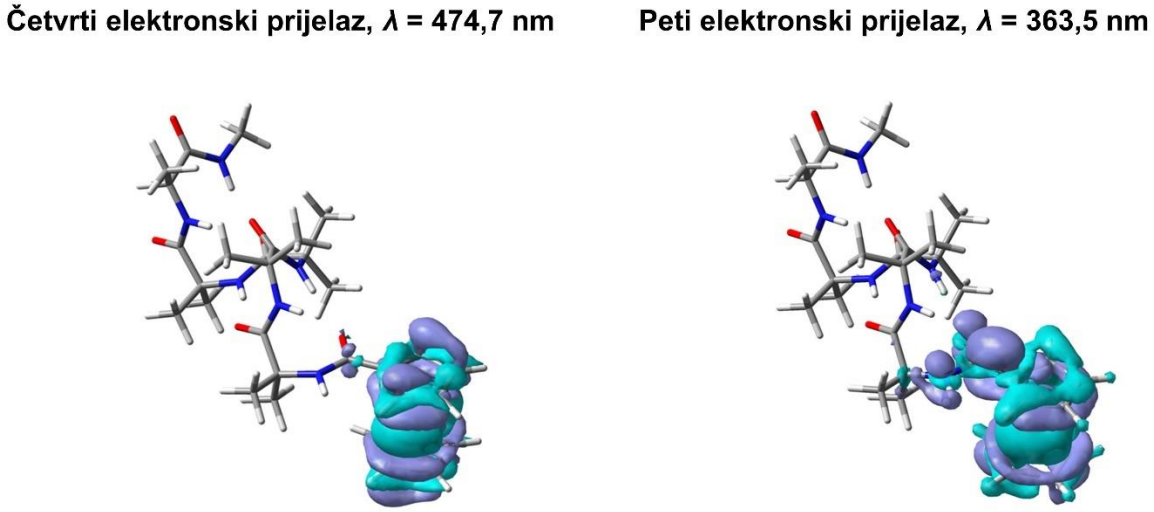
Slika 78. Usporedba ovisnost molarne eliptičnosti Cottonovog efekta ferocenskog kromofora *N*-metilferocenamida pri $\lambda \approx 350$ nm (zelene točke) i $\lambda \approx 450$ nm (svijetloplave točke) i ferocenskog kromofora *N*-ferocenilacetamida (tamnoplave točke) o χ kutu izračunatih metodom TDB3LYP uz osnovni skup 6-311+G(d,p), LanL2DZ za željezov atom, u kloroformu (PCM).

Apsolutne vrijednosti molarnih eliptičnosti Cottonovih efekata ($\lambda \approx 470$ nm) *N*-ferocenilacetamida puno su veće od apsolutnih vrijednosti molarnih eliptičnosti Cottonovih efekata *N*-metilferocenamida što još jednom ukazuje na to da je akiralne poveznice za prijenos kiralne informacije do ferocena, bolje vezati s aminoferocenom, nego ferocenkarboksilnom kiselinom.

Iako je $\theta(\chi)$ pri $\lambda \approx 350$ nm kontinuirana, predznaci dobivenih vrijednosti ne poklapaju se s predznacima diedarskih kutova χ za dva najstabilnija konformera spoja **13** i **14**. Ovo nepoklapanje ukazivalo je na to da vjerojatno postoji još neki geometrijski faktor o kojem ovisi (predznak) Cottonov(og) efekta ferocenskih monopeptida izvedenih iz ferocenkarboksilne kiseline.

4.4.4. Proučavanje razlika elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja

Kako bi se otkrilo koji bi još geometrijski parametri u ferocenskim monopeptidima izvedenima iz ferocenkarboksilne kiseline mogao utjecati na Cottonovog efekta ferocenskog kromofora ovih spojeva, izračunata je razlika elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja za prvih šest elektronskih prijelaza (CD) konformera **14-1**. Slika 79 prikazuje razlike elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti ($\lambda \approx 470$ nm) i peti ($\lambda \approx 360$ nm) elektronski prijelaz. Razlike elektronskih gustoća svih izračunatih elektronskih prijelaza konformera **14-1** prikazane su u prilogu rada od slike P40 do slike P42.

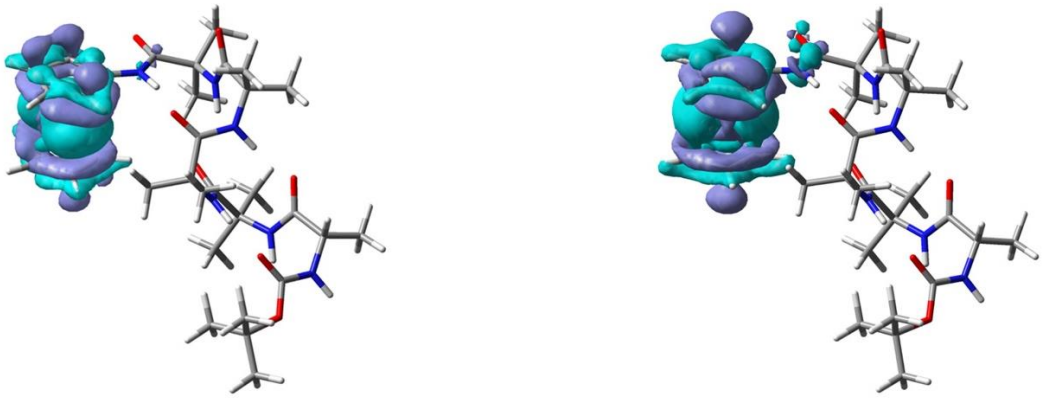


Slika 79. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja četvrtog, $\lambda \approx 470$ nm (lijevi dio slike), i petog, $\lambda \approx 360$ nm (desni dio slike), elektronskog prijelaza ferocenskog kromofora konformera **14-1** simuliranom CD spektru.

Usporede li se slika 63 i P29 (prilog rada), razlike elektronskih gustoća četvrtog i petog elektronskog prijelaza konformera **10-1**, sa slikom 79, vidljivo je da četvrti elektronski prijelaz konformera **14-1** (poput četvrtog elektronskog prijelaza u konformeru **10-1**) obuhvaća preraspodjelu elektronske gustoće na ferocenskoj jedinici i isključivo na atomu direktno vezanom na ferocen. Međutim, postoji bitna razlika između preraspodjela elektronskih gustoća petih elektronskih prijelaza najstabilnijih konformera spojeva **10-1** i **14-1**. Pri petom prijelazu konformera **14-1** (za razliku od elektronskog prijelaza u konformeru **10-1**) uz preraspodjelu elektronske gustoće na ferocenskom kromoforu i na njega izravno vezanom atomu, dolazi i do značajnije preraspodjele elektronske gustoće i na sljedećoj vezi okosnice peptidnog lanca,

N_{Aib1}–$C_{\alpha,Aib1}$, (i njezinim supstituentima). Do promjene elektronske gustoće, ali puno manje, dolazi i na dušikovom atomu trećeg po redu Aib-a (Aib3) u peptidnom lancu. U svrhu potvrđivanja pretpostavke da do ovih „dodanih" preraspodjela (konformer **14-1**) elektronskih gustoća ne dolazi i kod veze $C_{CO,Aib4}$–$C_{\alpha,Aib4}$ i karbonilnog kisikovog atoma trećeg po redu Aib-a ferocenskih pentapeptida izvedenih iz aminoferocena (konformer **11-2**), izračunata je razlika elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvih šest elektronskih prijelaza konformera **11-2**. Slika 80 prikazuje razlike elektronske gustoće za četvrti i peti elektronski prijelaz konformera **11-2**. Razlike elektronskih gustoća svih izračunatih elektronskih prijelaza konformera **11-2** prikazane su u prilogu rada od slike P37 do slike P39.

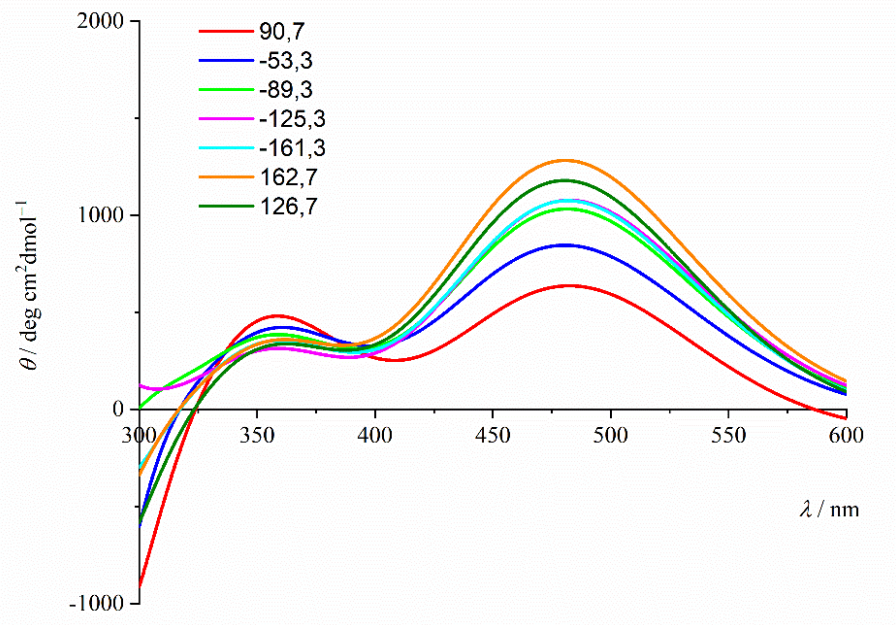
Četvrti elektronski prijelaz, λ = 477,0 nm **Peti elektronski prijelaz, λ = 356,9 nm**



Slika 80. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja četvrtog, $\lambda \approx 470$ nm (lijevi dio slike) i petog, $\lambda \approx 360$ nm (desni dio slike) elektronskog prijelaza ferocenskog kromofora konformera **11-2** u simuliranom CD spektru.

Zaista, razlika elektronske gustoće pobuđenog i osnovnog stanja petog elektronskog prijelaza konformera **11-2** pokazala je (slika 80) da kod ferocenskih pentapeptida izvedenih iz aminoferocena ne dolazi do („dodatnih") preraspodjela elektronske gustoće oko veze $C_{CO,Aib4}$–$C_{\alpha,Aib4}$ i karbonilnog kisikovog atoma trećeg po redu Aib-a. Na temelju prethodnih opažanja pretpostavljeno je da bi i torzijski kut koji opisuje rotaciju oko veze N_{Aib1}–$C_{\alpha,Aib1}$ također mogao imati utjecaj na iznos Cottonovog efekta ferocenskog kromofora u ferocenskim peptidima izvedenima iz ferocenkarboksilne kiseline. Pretpostavka je istražena postupnim rotiranjem torzijskog kuta koji opisuje rotaciju metilne (definiran atomima C_{CO}–N–C_{CH3}–H) skupine u *N*-metilferocenamidu za fiksni inkrement, pri čemu je kutu χ fiksirana konstantna

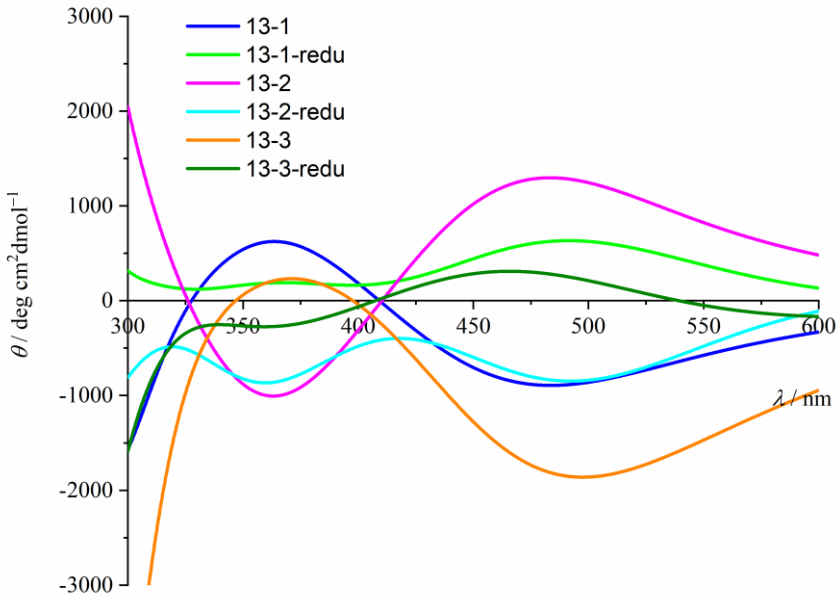
vrijednost (optimizacija s djelomičnom relaksacijom). Optimiziranim geometrijama izračunat je CD spektar te je istraženo postojanje korelacije između torzijskog kuta koji opisuje rotaciju metilne skupine i Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Prethodni postupak ponovljen je i za spoj dobiven zamjenom jednog vodikovog atoma metilne skupine *N*-metilferocenamida (drugom) metilnom skupinom (dobiva se *N*-**etil**ferocenamid). Zamjenom vodikovog atoma metilnom skupinom dobivena je dodatna C−C veza u okosnici polipeptidnog lanca, a ona je analog veze susjedne vezi N_{Aib1}−$C_{\alpha,Aib1}$ u spojevima **13** i **14** (na njoj isto dolazi do promjene elektronske gustoće u CD spektru ferocena). Slika 81 prikazuje ovisnost Cottonovog efekta ferocenskog kromofora *N*-etilferocenamida, fiksnog kuta χ, o torzijskom kutu (definiran atomima N−C_{CH2}−C_{CH3}−H_{CH3}) koji opisuje rotaciju metilne skupine. Torzijski kut određen atomima N−C_{CH2}−C_{CH3}−H_{CH3} rotiran je u inkrementima od 36°.



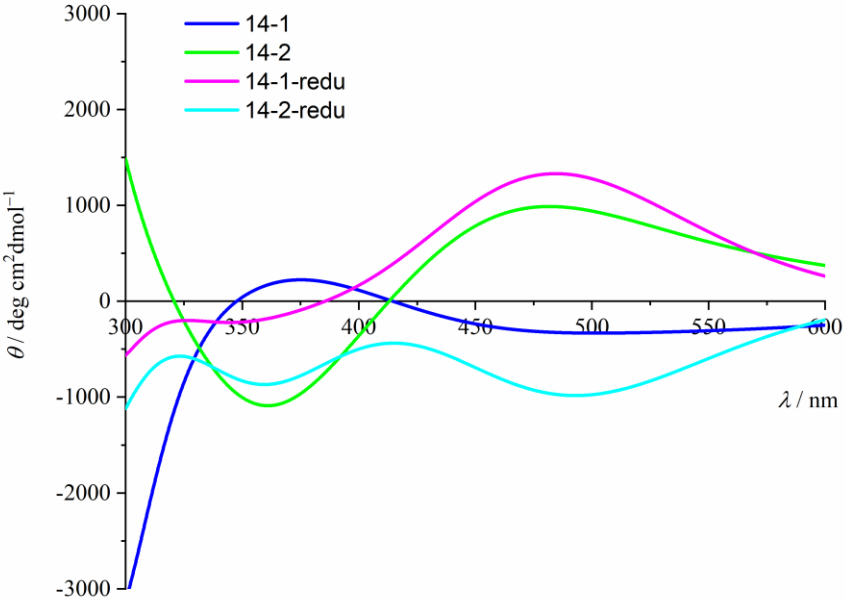
Slika 81. CD spektri *N*-etilferocenamida, fiksnog kuta χ (85,1°), metilnih skupina zarotiranih za različite torzijske kutove (navedene u legendi grafa u stupnjevima) izračunati metodom TDB3LYP u kloroformu (PCM).

Cottonov efekt ferocenskog kromofora ferocenskih peptida izvedenih iz ferocenkarboksilne kiseline pokazao se ovisnim o torzijskom kutu koji opisuje rotaciju oko veze N_{Aib1}−$C_{\alpha,Aib1}$, ali ni približno u tolikoj mjeri da bi se time mogli protumačiti suprotni Cottonovi efekti dvaju najstabilnijih konformera spojeva **13** i **14** u odnosu na ovisnost Cottonovog efekta o kutu χ *N*-metilferocenamida. Preostala je mogućnost da „obrtanje“ predznaka Cottonovog efekta

ferocenskih peptida izvedenih iz ferocenkarboksilne kiseline u odnosu na modelni spoj uzrokuje dušikov atom Aib3, na kojemu dolazi do manje promjene elektronske gustoće, a nije prisutan u modelnom spoju. Ideja za provjeru pretpostavke da dušikov atom Aib3 uzrokuje promjenu predznaka (i iznosa) Cottonovog efekta ferocenskog kromofora bila je uzeti geometrije konformera spojeva **13** i **14** (za njih je već izračunat CD spektar), izbrisati izabrani dio peptidnog lanca (zajedno s dušikovim atomom Aib3), tako dobivenom fragmentu izračunati CD spektar te ga usporediti s CD spektrom početnog spoja. U slučaju da dušikov atom trećeg Aib-a utječe na CD spektar, originalni CD spektri konformera i CD spektri pripadnog fragmenta dobivenog brisanjem dijela peptidnog lanca trebali su se razlikovati. U konformerima spoja **14** atomi peptidnog lanca izbrisani su do α-C atoma prvog po redu Aib-a. Analogijom su u konformerima spoja **13** atomi peptidnog lanca izbrisani do α-C atoma alanina. Nepopunjena valencija ugljikovog atoma dobivena brisanjem dijela peptidnih lanaca popunjena je dodavanjem vodikovog atoma pod kutovima koje je zatvarao izbrisani susjedni atom. Peptidni lanci nisu izbrisani tako da popunjavanjem vodikovim atomom geometrije dobivene brisanjem preostane geometrija *N*-metilferocenamida, već da ostanu jedna ili dvije dodatne metilne (ovisno je li na ferocen bio vezan alanin ili Aib) skupine budući da je razlika elektronske gustoće osnovnog i pobuđenog stanja pokazala da manjim dijelom i na (tim) metilnim skupinama dolazi do preraspodjele elektronske gustoće. Geometrije dobivene brisanjem dijela peptidnog lanca u konformerima spojeva **13** i **14** te nadopunjavanjem prazne valencije vodikovim atomom optimizirane su tako da su svim atomima, osim dodanom vodikovom, fiksirani položaji. Na taj je način zadržana geometrija (svih atoma osim „dodanog“ vodikovog) kao u spoju iz kojeg su dobiveni, a da je optimiziran položaj dodanog vodikovog atoma. Slike 83 i 82 prikazuje usporedbu CD spektara konformera spojeva **13** i **14** s CD spektrima geometrija dobivenih brisanjem dijela peptidnog lanca spomenutih konformera.



Slika 82. Usporedba CD spektara konformera spoja **13** i spektara geometrija dobivenih brisanjem dijela strukture tih konformera (**13-1-redu** i **13-2-redu**) izračunatih metodom TDB3LYP za geometrije optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD).

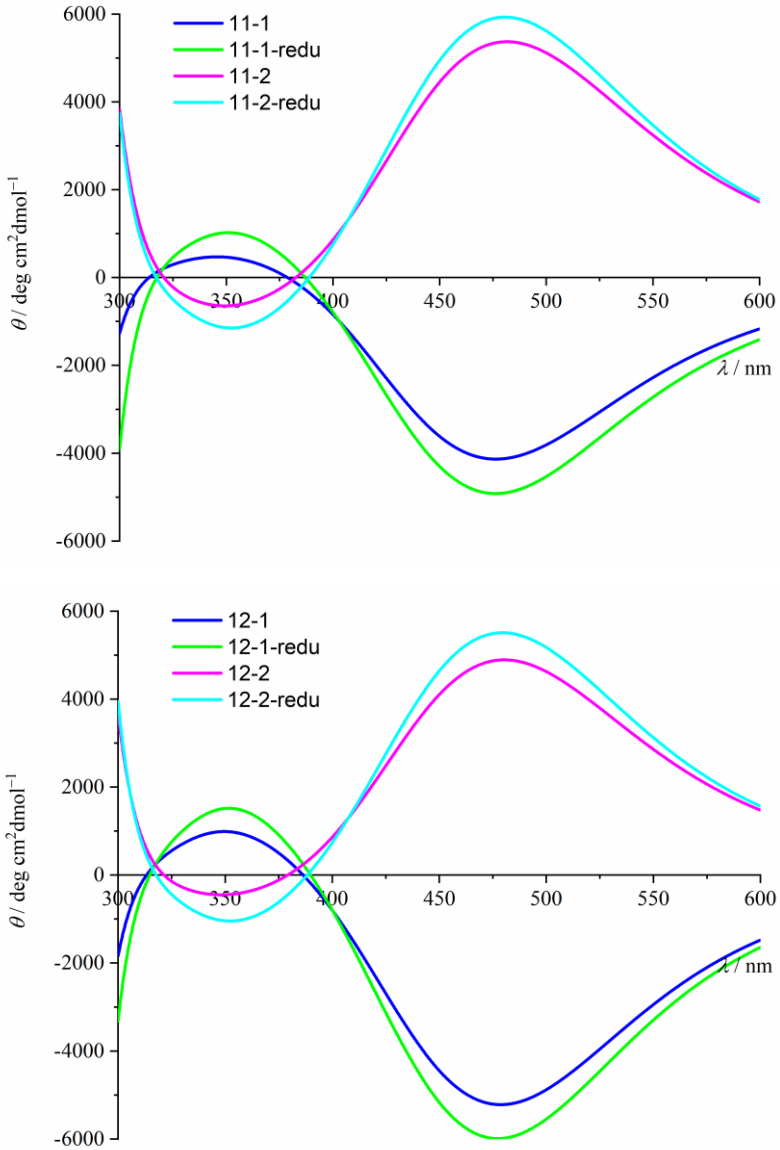


Slika 83. Usporedba CD spektara konformera spoja **14** i spektara geometrija dobivenih brisanjem dijela strukture tih konformera (**14-1-redu** i **14-2-redu**) izračunatih metodom TDB3LYP za geometrije optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD).

Cottonovi efekti ($\lambda \approx 470$ nm) geometrija dobivenih brisanjem dijela peptidnih lanaca razlikuju se u predznaku (i intenzitetu) od Cottonovih efekata ferocenskih kromofora geometrija iz kojih su dobiveni. Konformeri, kako **13-1** i **13-2**, tako i **14-1** i **14-2**, imaju istu strukturu peptidnog

lanca (3_{10} uzvojnica), što znači da su dušikov atom Aib-a na kojem u petom elektronskom prijelazu dolazi do preraspodjele elektronske gustoće i kisikov atom ferocenkarboksilne kiseline (spomenuti dušikov i kisikov atom sudionici su određene vodikove veze) međusobno u istom geometrijskom odnosu u oba konformera. Budući da se promjenom kuta χ ne mijenja geometrijski odnos prethodno spomenutih atoma, proizlazi da preraspodjela elektronske gustoće između Aib-ovog dušika i ferocenskog karbonilnog kisika u ovom slučaju ne ovisi o njihovom geometrijskom odnosu nego o geometrijskom odnosu ferocenske jedinice prema vodikovoj vezi $CO_{Fc}\cdots HN_{Aib3}$ (konformeri **14-1** i **14-2**) / $CO_{Fc}\cdots HN_{Aib2}$ (konformeri **13-1** i **13-2**). Promjenom kuta χ u peptidima izvedenima iz ferocenkarboksilne kiseline i tetrapeptida Aib-a istovremeno se mijenja i geometrijski odnos ferocena i na njega vezane amidne skupine, kao i geometrijski odnos ferocena i vodikove veze u kojoj sudjeluje karbonilni atom amidne skupine direktno vezane na ferocen. Time je otkriveno da, općenito, za peptide ferocenkarboksilne skupine (ne samo za one s Aib-om) Cottonov efekt ferocenskog kromofora ne ovisi samo o kutu χ nego i o geometrijskom odnosu (kada kut χ ne određuje jednoznačno taj geometrijski odnos – u slučaju peptida različitih struktura) ferocenske jedinice i vodikove veze u kojoj sudjeluje karbonilna skupina amidne skupine direktno vezane na ferocen.

Konformerima spojeva **11** i **12** također je izbrisan dio peptidnog lanca da bi se i njihov CD spektar usporedio sa CD spektrima spojeva iz kojih su dobiveni tj. da bi se provjerila pretpostavka da kod ferocenskih pentapeptida izvedenih iz aminoferocena, karbonilni kisikov atom drugog (spoj **11**), odnosno trećeg po redu Aib-a (spoj **12**), ne utječe na Cottonov efekt ferocenskog kromofora. Atomi peptidnog lanca izbrisani su do α-C atoma alanina u konformerima **12-1** i **12-2**, odnosno do α-C atoma četvrtog po redu Aib-a u konformerima **11-1** i **11-2**. Naravno, prazna valencija ponovno je popunjena vodikovim atomom te je optimiziran položaj vodikovog atoma (optimizacija uz fiksirane položaje svih atoma osim dodanog vodikovog).



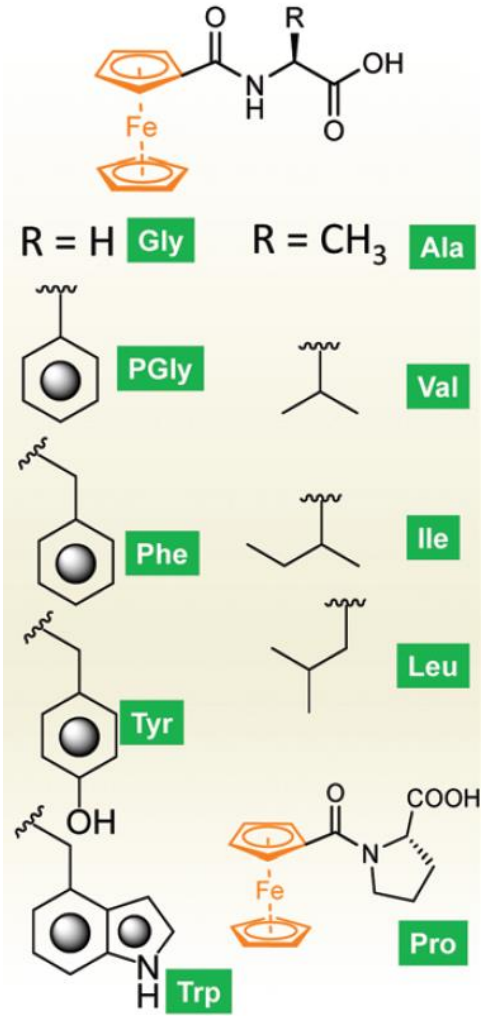
Slika 84. Usporedba CD spektara konformera spoja **11** (gore)/spoja **12** (dolje) i CD spektara geometrija dobivenih brisanjem dijela strukture tih konformera izračunatih metodom TDB3LYP za geometrije optimizirane razinom teorije B3LYP-D3/6-311+G(d,p), LanL2DZ za željezov atom, u kloroformu (SMD).

Slika 84 pokazuje da se CD spektri spojeva **11** i **12** skoro u potpunosti poklapaju sa spektrima geometrija dobivenih iz njih što je potvrdilo pretpostavku da karbonilni kisikov atom drugog (spoj **11**), odnosno trećeg po redu Aib-a (spoj **12**), ne utječe na Cottonov efekt ferocenskog kromofora ferocenskih monopeptida izvedenih iz aminoferocena.

4.4.5. Usporedba s literaturnim podacima

Prethodno opisani pentapeptidi sadrže najdulji proučavani peptidni lanac vezan na ferocensku jedinicu ne samo preko amino-, već i preko karboksilne skupine. Provedeno je nekoliko preliminarnih pokušaja sinteze ovih spojeva, a te su se pokazale zahtjevnijima nego za ostale skupine spojeva te se od daljnje sinteze odustalo i krenulo na sljedeću skupinu spojeva koji sadrže kraće peptidne lance, a čija se sinteza pokazala jednostavnijom. Međutim, neki rezultati dobiveni za pentapeptide uspoređeni su s postojećim literaturnim podacima o sličnim derivatima ferocena.

U citiranom znanstvenom radu opisana je veza između relativne orijentacije karbonilne skupine i ciklopentadienilnog prstena te predznaka Cottonovog efekta ferocenskog kromofora konjugata izvedenih iz ferocenkarboksilne kiseline i aminokiselina.[95] Autori su proučavali povezanost struktura peptida ferocenkarboksilne kiseline i određenih aminokiselina s predznakom eksperimentalno određenog Cottonovog efekta otopina pripravljenih peptida u kloroformu. Iako nije provedena detaljna konformacijska analiza, pretpostavljen je dio struktura čija je geometrija uspoređivana sa simuliranim Cottonovim efektima izračunatima na DFT optimiziranim geometrijama, dok je drugi dio struktura dobiven eksperimentalno difrakcijom rendgenskih zraka na uzorcima jediničnih kristala. Potrebno je napomenuti da se geometrija molekula u kristalnoj strukturi ne mora poklapati s geometrijom najstabilnijeg konformera u otopini. Uspoređivanjem struktura i njihovih Cottonovih efekata autori rada zaključili su da karbonilna skupina direktno vezana na ferocen orijentirana „prema dolje“ u odnosu na ferocen (ova orijentacija odgovara pozitivnim vrijednostima u ovoj disertaciji definiranog kuta χ, slika 55) uzrokuje pozitivan Cottonovog efekt dok karbonilna skupina orijentirana „prema gore“ (odgovara negativnim vrijednostima u ovoj disertaciji definiranog kuta χ, slika 55) uzrokuje negativan Cottonov efekt. Za ovu disertaciju od interesa su eksperimentalno određene strukture (peptidi ferocenkarboksilne kiseline s Val/Ala/PGly/Phe/Pro; PGly je dobiven zamjenom jednog vodikovog atom na α-C atomu Gly fenilnom skupinom) i njihovi (eksperimentalni) CD spektri jer su to eksperimentalni podaci s kojima se može usporediti ovisnost Cottonovog efekta o kutu χ za *N*-metilferocenamida pri 450 nm (slika 76). Slika 85 prikazuje strukturne formule spojeva dobivenih stvaranjem peptidne veze između L-Val/L-Ala/ L-PGly/ L-Phe/ L-Pro i ferocenkarboksilne kiseline.



Slika 85. Strukturne formule spojeva dobivenih stvaranjem peptidne veze između L-Val/L-Ala/L-PGly/L-Phe/L-Pro i ferocenkarboksilne kiseline.[95]

Naime, zbog relativno kratkih lanaca u istraživanim strukturama peptida ferocenkarboksilne kiseline s Val/Ala/PGly/Phe/Pro (relativna konfiguracija L) karbonilna skupina direktno vezana na ferocen ne sudjeluje u tvorbi vodikove veze s amino-skupinom udaljenog aminokiselinskog ostataka, stoga je bilo za očekivati da bi odnosi njihovih kutova χ i Cottonovih efekata trebali pratiti ovisnosti Cottonovog efekta o kutu χ određenu na modelnom spoju, *N*-metilferocenamidu, proučavanom u ovoj disertaciji. Kristalne strukture peptida ferocenkarboksilne kiseline s Val/Ala/PGly/Phe/Pro preuzete su iz kristalografske baze podataka CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*) te im je očitan kut χ. Za očitane vrijednosti diedarskih kutova pronađeni su predznaci Cottonovog efekta prema ovisnosti $\theta(\chi)$ za *N*-metilferocenamida pri 450 nm (slika 76) te su uspoređeni s predznacima eksperimentalnih Cottonovih efekata iz citiranog rada.[95] Tablica 9 prikazuje očitane χ kutove peptida ferocenkarboksilne kiseline s Val/Ala/PGly/Phe/Pro i predznake eksperimentalnih Cottonovih

efekata tih peptida. Odnosi kutova χ i predznaka Cottonovih efekata ferocenskih kromofora (450 nm) svih peptida ferocenkarboksilne kiseline s Val/Ala/PGly/Phe/Pro poklapaju se s ovisnost Cottonovog efekta o kutu χ određenoj na *N*-metilferocenamidu u ovoj disertaciji. Iako su autori citiranog rada primijetili povezanost relativne orijentacije ferocena i na njega direktno vezane karbonilne skupine s predznakom Cottonovog efekta, u smislu da karbonilna skupina orijentirana „prema gore" daje negativan Cottonov efekt, a karbonilna skupina orijentirana „prema dolje" pozitivan, ovisnost $\theta(\chi)$ za *N*-metilferocenamida dobivena u našim istraživanjima pokazuje da to nužno ne mora biti tako. Slika 76 pokazuje da geometrije oko minimuma energije mogu imati različiti Cottonov efekt ferocenskog kromofora (unutar energija oko minimuma dolazi do promjene predznaka Cottonovog efekta).

Tablica 9. Kutovi χ peptida ferocenkarboksilne kiseline s L-Val/L-Ala/ L-PGly/ L-Phe/ L-Pro i predznaci njihovih eksperimentalnih Cottonovih efekata.[95]

	χ / °	θ
Val	81,6	> 0
Ala	66,6	> 0
PGly	88,1	> 0
Phe	92,4	> 0
Pro	–114	< 0

4.5. Aminoferocenski peptidi 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline

4.5.1. Konformacijska analiza

Posljednja proučavana skupina spojeva Boc−L-AK−Ac6c−NHFc (AK = L-Ala/L-Val/L-Phe) sadržavala je akiralnu poveznicu 1-aminocikloheksankarboksilnu kiselinu (Ac6c) za prijenos kiralne informacije s jedne od tri odabrane aminokiseline na ferocenski kromofor. Spojevi od **15** do **17** građeni su od dvije aminokiseline čime su amino-skupina aminoferocena (donor protona) i karbonilna skupinu Boc (akceptor protona) udaljeni za dva aminokiselinska ostatka (udaljenost donora i akceptora protona u β-okretu), na osnovu čega se očekivalo da će takav robustni strukturni motiv biti i pronađen u najstabilnijim konformerima. U usporedbi s Aib-om, koji na α-ugljikovom atomu ima vezane dvije metilne skupine, 1-aminocikloheksilkarboksilna

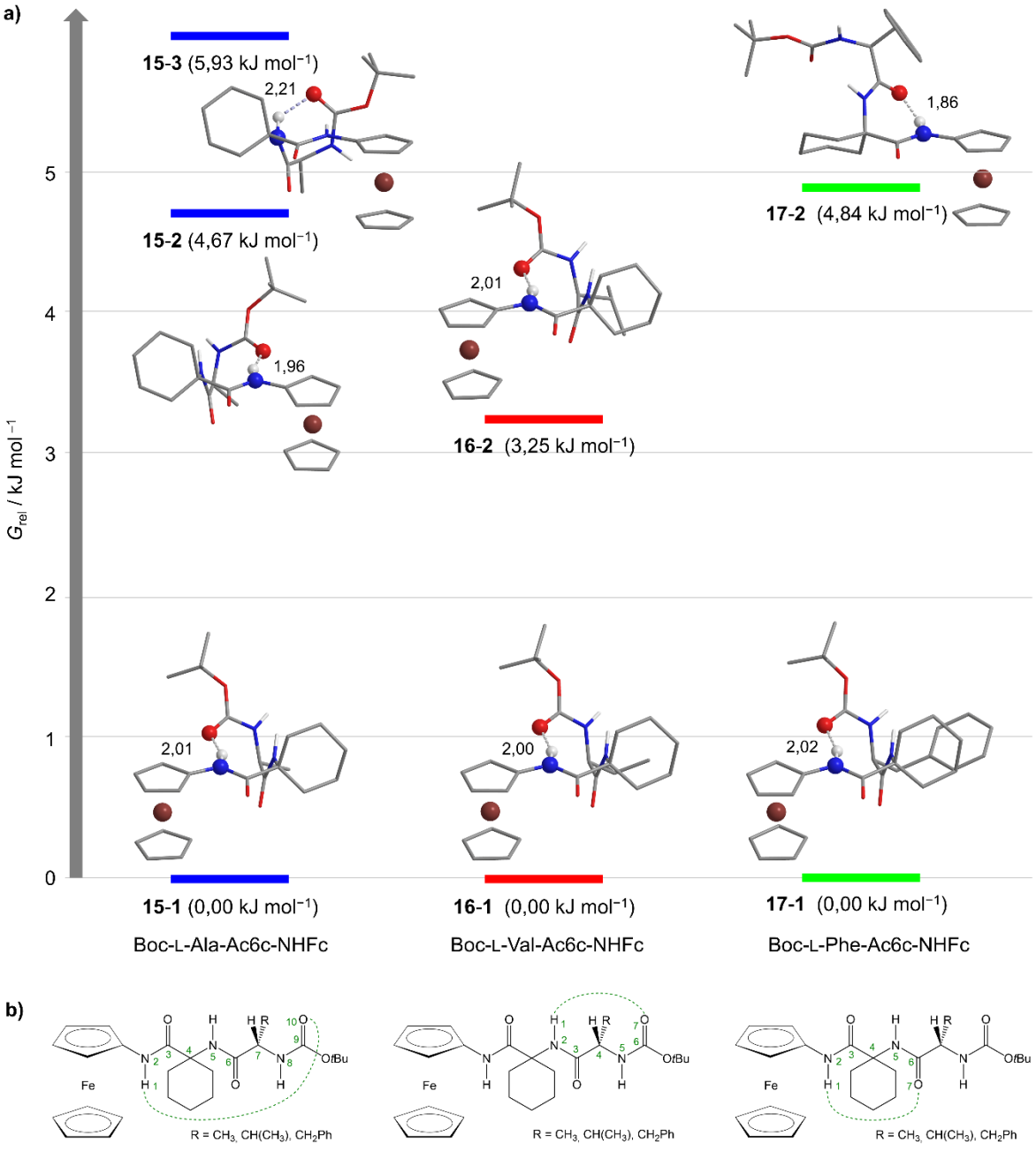
kiselina (Ac6c) sadrži šesteročlani prsten čiji je jedan od atoma upravo α-ugljikov atom. Za ovakvu na ferocen izravno vezanu akiralnu poveznicu koja sadrži relativno veliki cikloheksanski prsten u usporedbi s metilnom/metilnim skupinama, pretpostavilo se da će inicirati nastajanje dominantno „*trans*-like“ konfiguracije zbog steričkih smetnji u kojima se odbija od drugog ciklopentadienilnog prstena. Hijerarhijskim pristupom provedena konformacijska analiza spojeva od **15** do **17** dala je nekoliko konformera pri čemu je udio najstabilnijeg konformera svakog od spojeva veći od 75 % pri 298 K. Energije konformera spojeva od **15** do **17** dobivenih hijerarhijskom konformacijskom analizom te duljine vodikovih veza u tim konformerima određene kvantnom teorijom atoma u molekulama daje tablica 10. Topološki parametri analize QTAIM dani su od tablice P15 do tablice P17 u prilogu rada.

Tablica 10. Relativna energija, diedarski kut χ i duljine vodikovih veza pojedinih konformera spojeva od **15** do **17**.

oznaka konformera	G_{rel} / kJ mol^{-1}	χ / °	duljina (X–H···Y) / Å		
			$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$ 10-eročlani	$NH_{Fc}\cdots OC_{AA}$ 7-eročlani	$NH_{Ac6c}\cdots OC_{Boc}$ 7-eročlani
spoj **15**					
15-1	0,00	−82,4	2,99		
15-2	4,67	90,2	2,94		
15-3	5,93	77,7			3,02
15-4	8,83	−86,8	2,98		
15-5	9,48	−81,3		2,84	
15-6	9,72	−74,8		2,82	2,94
spoj **16**					
16-1	0,00	−83,4	2,98		
16-2	3,25	−78,9	2,99		
16-3	9,67	−71,0		2,80	
spoj **17**					
17-1	0,00	−84,5	3,00		
17-2	4,84	83,9		2,81	
17-3	8,62	−68,5		2,84	2,95
17-4	8,80	69,2		2,84	2,85
17-5	9,31	−144,6		2,85	
17-6	9,39	−81,6		2,82	

Pretpostavka o nabiranju peptidnih lanaca spojeva od **15** do **17** β-okretom (vodikova veza zatvara 10-eročlani prsten atoma) pokazala se točnom za svaki od analiziranih konformera odabranog skupa. Ne samo da najstabilniji konformeri imaju isti obrazac vodikove veze, nego imaju i istu heličnu kiralnost (*P*) peptidnog lanca iz čega proizlazi da se strukturno vrlo malo razlikuju. Slika 86 prikazuje nekoliko najstabilnijih konformera spojeva od **15** do **17**. U

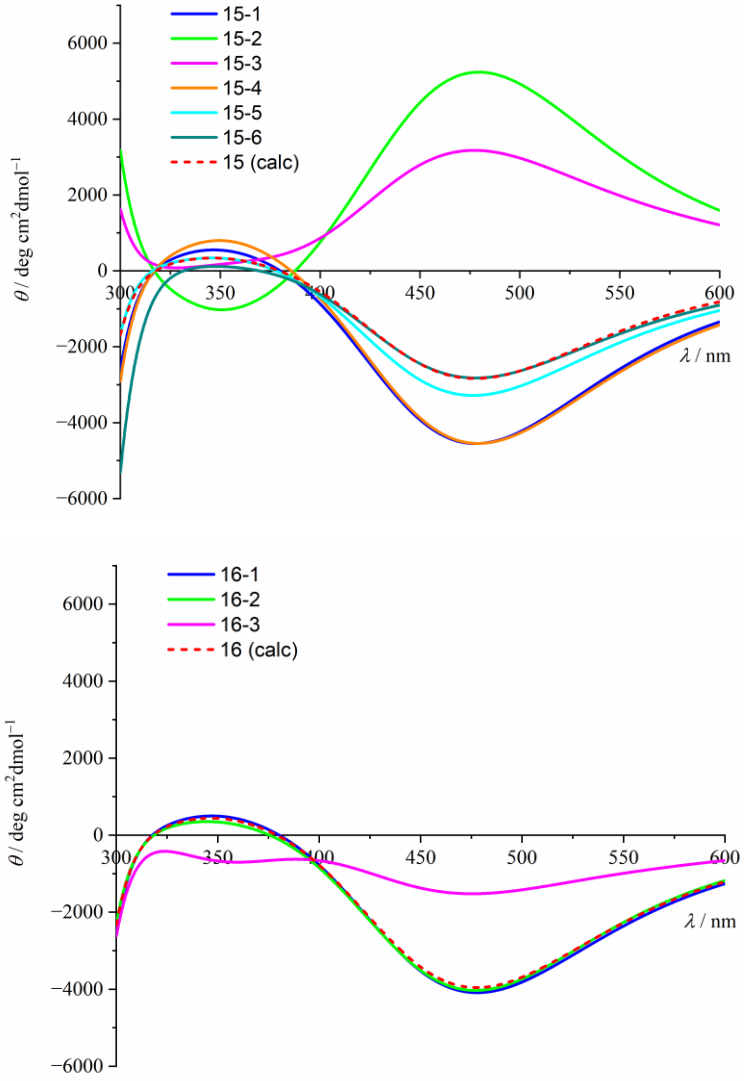
ostalima, energijski manje povoljnim konformerima, pojavljuju se i drugačiji obrasci vodikovih veza (tablica 10). Manje stabilni konformeri, koji nisu stabilizirani β-okretom, stabilizirani su jednom ili dvjema vodikovim vezama koje zatvaraju sedmeročlani prsten atoma (γ-okret): $NH_{Fc}\cdots OC_{AA}$ i/ili $NH_{Ac6c}\cdots OC_{Boc}$; AA = L-Ala/L-Val/L-Phe.



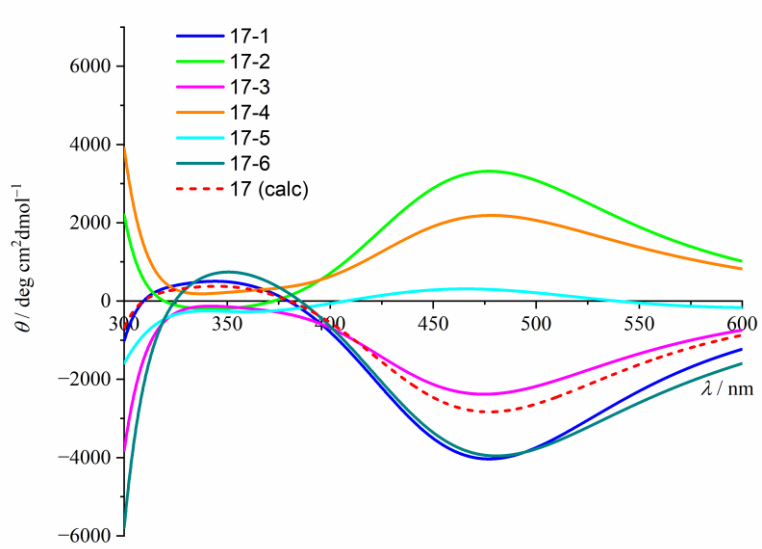
Slika 86. a) Geometrije najstabilnijih konformera spojeva od **15** do **17** optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) poredane prema relativnim (Gibbsovim) energijama pri 298 K. b) Prikaz vodikovih veza pronađenih u konformerima spojeva od **15** do **17**.

4.5.2. Simulacija CD spektara

Iako peptidni lanci konformera pojedinih spojeva nemaju uvijek istu konformaciju, zbog čega daju kutove χ suprotnih predznaka, spojevi su većinski prisutni (barem 75 %) u najstabilnijem konformeru, a on u svim slučajevima daje isti obrazac vodikove veze i istu relativnu orijentaciju ferocena spram peptidnog lanca (koja sliči *trans*) pa je bilo za očekivati da će poveznica 1-aminocikloheksankarboksilne kiseline poprilično jednoznačno prenositi kiralnu informaciju od aminokiseline do ferocenskog kromofora. Svi konformeri spoja **16** imaju isti predznak kuta χ pa je i za očekivati da će imati isti predznak Cottonovog efekta. Izračunate prosječne CD spektre spojeva od **15** do **17**, zajedno s CD spektrima njihovih (najzastupljenijih) konformera prikazuju, slika 87 i 88.

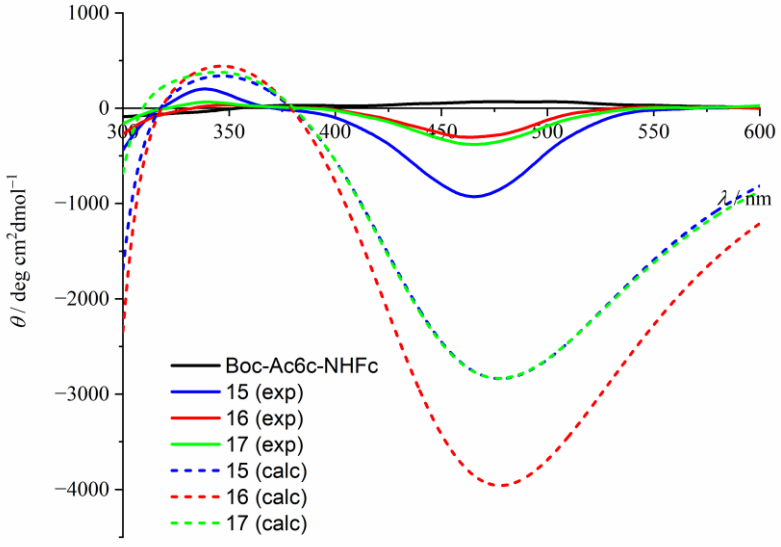


Slika 87. Pojedinačni CD spektri najstabilnijih konformera spojeva **15** i **16** izračunati metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranim funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD). Prosječni CD spektar (calc) izračunat je pri 298 K.



Slika 88. Pojedinačni CD spektri najstabilnijih konformera spoja **17** izračunati metodom TDB3LYP na geometrijama optimiziranim funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD). Prosječni CD spektar (calc) izračunat je pri 298 K.

Odnosi kutova χ i Cottonovih efekata svih konformera spojeva od **15** do **17** prate ovisnost Cottonovog efekta predviđenu na temelju analize modelnog spoja, *N*-ferocenilacetamida, i rezultata istraživanja provedenih na derivatima aminoferocena. Predznak izračunatog prosječnog Cottonovog efekta isti je za sve spojeve (od **15** do **17**) što je u skladu s time da svi spojevi imaju vezanu aminokiselinu iste relativne konfiguracije (L). Usporedbu izračunatih prosječnih CD spektara s pripadnim eksperimentalnim CD spektrima prikazuje slika 89.



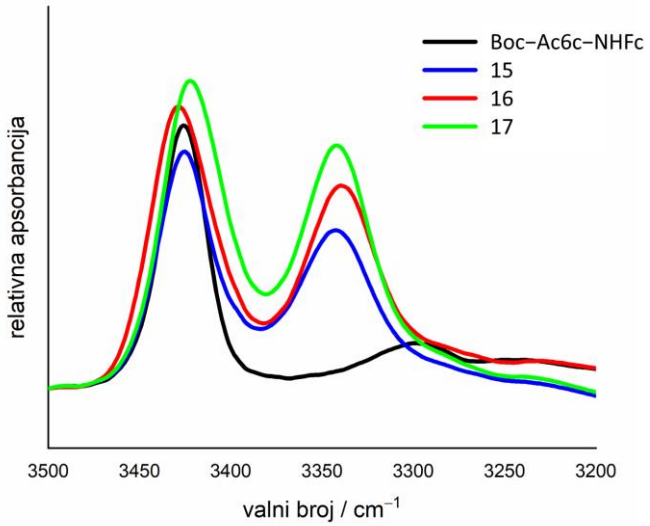
Slika 89. Usporedba eksperimentalnog (exp) CD spektra u diklormetanu i izračunatog prosječnog (calc) CD spektra spoja Boc−Ac6c−NHFc i spojeva od **15** do **17**. Spektri su izračunati metodom TDB3LYP za geometrije optimizirane funkcionalom B3LYP-D3 u kloroformu (SMD) na temperaturi od 298 K.

Eksperimentalni CD spektar spoja Boc−Ac6c−NHFc, spoja s akiralnim supstituentom na ferocenu, očekivano je približno jednak nuli. Predznaci eksperimentalno određenih Cottonovih efekata ferocenskih kromofora spojeva od **15** do **17** poklapaju se s predznacima pripadnih izračunati Cottonovih efekata. Također, izračunati Cottonovi efekti prate oblik eksperimentalnih Cottonovih efekata.

4.5.3. Usporedba s eksperimentalnim podacima

Računalnim metodama dobiveni podaci uspoređeni su s eksperimentalnim rezultatima provedenim u suradnji s izv. prof. dr. sc. Mojcom Čakić Semenčić s Prehrambeno-biotehnološkog fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Slika 90 prikazuje IR spektre otopina spoja Boc−Ac6c−NHFc i spojeva od **15** do **17** u diklormetanu.



Slika 90. Amidna regija vibracijskih spektara otopina, c = 1,0 × 10^{-3} mol dm^{-3}, spoja Boc−Ac6c−NHF i spojeva od **15** do **17** u diklormetanu.

Amidno područje u IR spektrima spojeva od **15** do **17** sadrži dvije vrpce. Vrpce pri valnim brojevima manjima od 3400 cm^{-1} odgovaraju amidnim skupinama NH asociranima u vodikove veze, dok vrpce pri valnim brojevima većim od 3400 cm^{-1} odgovaraju slobodnim NH vezama amidne skupine. Vrpca vodikove veze slabijeg je intenziteta od vrpce slobodne amidne skupine jer jedna NH skupina sudjeluje u tvorbi vodikove veze, dok su dvije NH skupine slobodne. Vrpca vodikove veze spoja Boc−Ac6c−NHFc zanemarivog je intenziteta, a kako taj spoj ne može tvoriti β-okret, nego vodikove veze koje zatvaraju maksimalno sedmeročlani prsten, prethodni podaci ukazuju na to da su spojevi od **15** do **17** stabilizirani β-okretom. Veći kemijski

pomak ($\delta \approx 8{,}40$) ferocenskih NH protona u spojevima od **15** do **17** u odnosu na spoj Boc−Ac6c−NHFc ($\delta = 7{,}99$) ukazuje na sudjelovanje ferocenskih NH skupina u vodikovim vezama, odnosno također ukazuju na stvaranje β-okreta u spojevima od **15** do **17**.

5. ZAKLJUČAK

Konformacijska analiza provedena hijerarhijskim pristupom na četiri skupine monosupstituiranih konjugata izvedenih iz ferocenamina i ferocenkarboksilne kiseline omogućila je mapiranje konformacijskog prostora i obrazaca vodikovih veza ključnih za njihovo smatanje. Analizom geometrijskih parametara izračunatih za najstabilnije konformere svake serije spojeva i njihovih Cottonovih efekata objašnjena je veza između predznaka i veličine diedarskog kuta χ (kojim je opisan otklon amidne ravnine od ravnine ciklopentadienilnog prstena) te predznaka i intenziteta maksimalnog Cottonova efekta ferocenskog kromofora (valna duljina oko 470 nm) u CD spektrima.

Konformacijska analiza konfiguracijskih izomera ferocenskog peptida Boc−Pro−Pro−Ala−NHFc (od **1** do **4**) potvrdila je postojanje skupa monosupstituiranih aminoferocenskih peptida dominantno nabranih u β-okrete (10-eročlani prstenovi). Cottonov efekt ferocenskog kromofora u CD spektru ne ovisi samo o sekundarnoj strukturi i/ili heličnoj kiralnosti vezanog peptida, nego primarno o diedarskom kutu χ(Cg_{Cp2}−Cg_{Cp1}−N−C) kojim je indirektno opisan otklon ravnine amidne skupine na ferocen izravno vezanog peptidnog lanca i ravnine ciklopentadienilnog prstena. Analiza provedena na jednostavnom modelnom spoju, *N*-ferocenilacetamidu, potvrdila je da se maksimumi (apsolutne vrijednosti) molarne eliptičnosti Cottonovog efekta ferocenskog kromofora pri 470 nm približno postižu za geometrije koje odgovaraju energijskim minimumima, što omogućava korištenje ferocenskog kromofora kao kirooptičkog senzora za određivanje središnje kiralnosti aminokiselina i helične kiralnosti kratkih peptidnih lanaca. Uočeno je da vrijednosti diedarskih kutova χ između −110° i −70° odgovaraju negativnom Cottonovom efektu, a one od 70° do 110° pozitivnom Cottonovim efektu.

Kiralnost vezanih aminokiselina utječe na nastajanje obrazaca vodikovih veza, a time i heličnost peptidnog lanca vezanog na jedan ciklopentadienilni prsten. U prvoj skupini spojeva (od **1** do **4**) uočeno je da peptidni lanac iste helične kiralnosti može biti usmjeren suprotno od nesupstituiranog (nalikuju *trans* konfiguraciji, tzv. „*trans*-like“), odnosno prema nesupstituiranom ciklopentadienilnom prstenu (nalikuju *cis* konfiguraciji, tzv. „*cis*-like“), što se očituje suprotnim vrijednostima kuta χ, a time i suprotnim predznacima Cottonovih efekata

u CD spektrima pri 470 nm, pogotovo ako su ovakve dvije konfiguracije energijski vrlo bliske, a time i podjednako zastupljene u otopini.

Predložene strukturne modifikacije uključivale su uvođenje akiralnih premosnica kojima bi se razdvojile energijski bliske „*trans*-like“ i „*cis*-like“ konfiguracije te uzrokovala dominantna prisutnost jednog konformera, a time i gotovo jednoznačan prijenos kiralne informacije od kiralne aminokiseline i/ili kiralnog aminokiselinskog slijeda i/ili kratkog peptidnog lanca do ferocenskog kromofora.

Konformacijska analiza druge skupine spojeva (od **5** do **10**) čije su poveznice građene od (2-amino)-2-metilpropanske kiseline (Aib) uključivala je i kiralne derivate Boc−L-Ala−(Aib)$_n$−NHFc (n = 1−3). Utvrđeno je da je tetrapeptid Boc−L-Ala−(Aib)$_3$−NHFc najmanji oligomer Aib-a koji gotovo jednoznačno prenosi kiralnu informaciju s kiralne aminokiseline na ferocenski kromofor jer rezultira nastankom dominantno jednog konformera s 3_{10} uzvojnicom točno određene helične kiralnosti ovisno o konfiguraciji vezane kiralne aminokiseline. U slučaju vezanog L-alanina najstabilniji konformer spoja **10** „*trans*-like“ konfiguracije (prema Boltzmannovoj raspodjeli zastupljen više od 96 % pri 298 K) formira *P*-heličnu uzvojnicu, pri čemu kut χ od −86° odgovara negativnom Cottonovom efektu ferocenskog kromofora. Smanjenje duljine akiralne poveznice s tri na dva Aib-a dovodi do približavanja energijskih nivoa između konformera pri čemu ukupni CD spektar počinje ovisiti o većem broju konformera koji mogu poprimiti suprotne vrijednosti kuta χ, a time i Cottonovih efekata.

Konformacijska analiza kiralnog pentapeptida Boc−L-Ala−(Aib)$_4$−NHFc (**11**) pokazala je vrlo sličnu raspodjelu konformera kao i za jednostavniji analog **10**, ali je dominantni „*trans*-like“ konformer prema Boltzmannovoj raspodjeli bio zastupljen oko 78 % pri 298 K. Promjena redoslijeda vezanja L-alanina u Boc−(Aib)$_4$−L-Ala−NHFc (**12**) nije bitno utjecala na raspodjelu konformera, a time ni na CD spektar, što znači da kiralno vezani L-alanin potiče nastajanje istog strukturnog motiva, stabilne 3_{10} uzvojnice, bez obzira je li na ferocen vezan kao prvi ili posljednji u aminokiselinskom slijedu.

Konformacijskom analizom kiralnih pentapeptida FcCO−L-Ala−(Aib)$_4$−NHMe (**13**) i FcCO−(Ala)$_4$−L-Ala−NHMe (**14**) istražena je mogućnost korištenja derivata ferocenkarboksilne kiseline kao kirooptičkog senzora. Peptidi ferocenkarboksilne kiseline pokazuju značajno manje molarne eliptičnosti Cottonovih efekata ferocenskog kromofora od peptida izvedenih iz aminoferocena, zbog čega su manje prikladni za određivanje kiralnosti aminokiselina i kratkih peptidnih lanaca od derivata izvedenih iz ferocenamina.

Ovisnost molarne eliptičnosti Cottonovog efekta o kutu $\chi(Cg_{Cp2}-Cg_{Cp1}-C-N)$ određena je i na modelnom spoju izvedenom iz ferocenkarboksilne kiseline, *N*-metilferocenamidu, pri čemu nije dobivena kontinuirana raspodjela pri 470 nm kao za *N*-ferocenilacetamid izveden iz ferocenamina. U ovom slučaju kut χ nije jedini geometrijski parametar koji određuje predznak i iznos Cottonovog efekta ferocenskog kromofora. Iako Cottonov efekt primarno ovisi o kutu χ, u elektronskim prijelazima ne dolazi samo do preraspodjele elektronske gustoće na amidnoj skupini izravno vezanoj na ciklopentadienilni prsten nego i na donoru vodikovog atoma s kojim karbonilna skupina direktno vezana na ferocen tvori vodikovu vezu. Budući da ferocenski peptidi izvedeni iz ferocenkarboksilne kiseline pokazuju puno složeniju ovisnost (i manje intenzitete) Cottonovog efekta ferocenskog kromofora od ferocenskih peptida izvedenih iz aminoferocena, potrebno je dalje istražiti njihovu potencijalnu primjenu kao kirooptičkih senzora.

Konformacijska analiza kiralnih dipeptida Boc−AA−Ac6c−NHFc (AA = L-Ala, L-Val i L-Phe; od **15** do **17**) s akiralnom poveznicom 1-aminocikloheksankarboksilnom kiselinom rezultirala je Boltzmannovom raspodjelom pri 298 K u kojoj je dominantno prisutan jedan konformer s udjelom većim od 75 % i β-okretom. Neovisno o vezanoj L-aminokiselini potvrđena je korelacija između predznaka kuta χ (od −82° do −85°) i negativnog predznaka Cottonovog efekta ferocenskog kromofora.

Rezultati dobiveni u sklopu ovog istraživanja potvrdili su postavljenu hipotezu da je Cottonov efekt ferocenskog kromofora iz monosupstituiranih ferocena povezan s heličnom kiralnošću na ferocen vezanog peptida ili središnjom kiralnošću aminokiseline vezane na ferocen akiralnom poveznicom, a ovisi o diedarskom kutu (χ) kojim je definiran otklon amidne ravnine od ravnine ciklopentadienilnog prstena. Ovisno o uvedenoj poveznici (tripeptid Aib-a ili 1-aminocikloheksankarboksilna kiselina), preferirano može nastati jedan konformer u kojem je zavijeni peptidni lanac usmjeren suprotno od nesupstituiranog ciklopentadienilnog prstena ferocenske jedinice zbog čega je moguć gotovo jednoznačan prijenos kiralne informacije na ferocenski kromofor koji je lako detektirati u CD spektru. Dobiveni rezultati mogli bi se iskoristiti u dizajnu nove skupine selektivnih kirooptičkih senzora temeljenih na ferocenskom kromoforu za određivanje središnje kiralnosti aminokiselina i helične kiralnosti kratkih peptidnih lanaca.

6. POPIS KRATICÂ

- Ac6c – 1-aminocikloheksankarboksilna kiselina
- Aib – 2-amino-2-metilpropanska kiselina
- Ala – alanin
- Boc – *tert*-butiloksikarbonil
- CD – elektronski cirkularni dikroizam
- CIP – Cahn-Ingold-Prelogovo pravilo
- Cp – ciklopentadienilni prsten
- Cp^- – ciklopentadienilni anion
- DFT – teorija funkcionala gustoće (engl. *Density functional theory*)
- DMSO – dimetil-sulfoksid
- Fc – ferocen
- HF – Hartree-Fockova teorija
- IR – vibracijska spektroskopija
- LMOD – metoda Low-mode sampling
- NMR – spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije
- NTO – prirodne prijelazne orbitale (engl. *Natural Transition Orbitals*)
- ORD – spektroskopija optičke rotacijske disperzije
- *p*BrBz – *p*-brombenzamidna zaštitna skupina
- PCM – model polarizabilnog kontinuuma (engl. *Polarizable Continuum Model*)
- PES – ploha potencijalne energije
- PGly – aminokiselina dobivena zamjenom jednog vodikovog atom α-C atomu Gly fenilnom skupinom
- Phe – fenilalanin
- Pro – prolin
- QTAIM – kvantna teorija atoma u molekulama (engl. *Quantum Theory of Atoms in Molecules*)
- SMD – solvatacijski model baziran na elektronskoj gustoći (engl. *Solvation Model Based on Density*)

- TDDFT – vremenski ovisna teorija funkcionala gustoće (engl. *Time-dependent density functional theory*)
- Val – valin

7. LITERATURNI IZVORI

1. Lubert Stryer Jeremy M. Berg John L. Tymoczko with, J. W. Gregory J. Gatto, *Biochemistry* (2012).
2. J. Clayden, N. Vassiliou, *Org. Biomol. Chem.* **4** (2006) 2667–2678.
3. I. Warnke, F. Furche, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2** (2012) 150–166.
4. D. M. McCann, P. J. Stephens, J. R. Cheeseman, *J. Org. Chem.* **69** (2004) 8709–8717.
5. D. Astruc, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017** (2017) 6–29.
6. V. Kovač, M. Čakić Semencic, I. Kodrin, S. Roca, V. Rapić, *Tetrahedron* **69** (2013) 10497–10506.
7. M. Čakić Semenčić, I. Kodrin, L. Barišić, M. Nuskol, A. Meden, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017** (2017) 306–317.
8. T. J. Kealy, P. L. Pauson, *Nature* **168** (1951) 1039–1040.
9. C. T. Walsh, S. Garneau-Tsodikova, G. J. Gatto, *Angew. Chemie Int. Ed.* **44** (2005) 7342–7372.
10. R. B. Corey, L. Pauling, *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **141** (1953) 10–20.
11. J. A. van der Sluijs, R. J. B. Sakkers, J. A. H. M. Bronswijk, *Voet* (2009).
12. V. Rapić, M. Kovaèević, *Kem. u Ind. Chem. Chem. Eng.* **61** (2012) 71–120.
13. I. Jerić, *Kem. u Ind. Chem. Chem. Eng.* **53** (2004) 495–504.
14. M. Kahn, *Synlett* **1993** (1993) 821–826.
15. M. Muttenthaler, G. F. King, D. J. Adams, P. F. Alewood, *Nat. Rev. Drug Discov.* **20** (2021) 309–325.
16. M. T. Weinstock, J. N. Francis, J. S. Redman, M. S. Kay, *Biopolymers* **98** (2012) 431–442.
17. O. Ovadia, S. Greenberg, B. Laufer, C. Gilon, A. Hoffman, H. Kessler, *Expert Opin. Drug Discov.* **5** (2010) 655–671.
18. R. W. Cheloha, A. Maeda, T. Dean, T. J. Gardella, S. H. Gellman, *Nat. Biotechnol.* **32** (2014) 653–655.
19. J. Chatterjee, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **52** (2013) 254–269.

20. H. F. Stähelin, *Experientia* **52** (1996) 5–13.
21. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **46** (2001) 3–26.
22. Q. Psychology, *Jstage.Jst.Go.Jp* **7** (2015) 101–104.
23. C. Toniolo, G. M. Bonora, V. Barone, A. Bavoso, E. Benedetti, B. Di Blasio, P. Grimaldi, F. Lelj, V. Pavone, C. Pedone, *Macromolecules* **18** (1985) 895–902.
24. B. Pengo, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo, G. M. Bonora, Q. B. Broxterman, J. Kamphuis, M. Saviano, R. Iacovino, F. Rossi, E. Benedetti, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1998) 1651–1657.
25. J. Clayden, A. Castellanos, J. Solà, G. A. Morris, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **48** (2009) 5962–5965.
26. R. A. Brown, T. Marcelli, M. De Poli, J. Solà, J. Clayden, *Angew. Chemie* **124** (2012) 1424–1428.
27. C. Wolf, K. W. Bentley, *Chem. Soc. Rev.* **42** (2013) 5408–5424.
28. G. Pescitelli, L. Di Bari, N. Berova, *Chem. Soc. Rev.* **40** (2011) 4603–4625.
29. J. T. Yang, K. H. Chau, *Methods Enzymol.* **27** (1973) 736–750.
30. S. G. Telfer, T. M. McLean, M. R. Waterland, *Dalt. Trans.* **40** (2011) 3097–3108.
31. G. A. Hembury, V. V. Borovkov, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **108** (2008) 1–73.
32. C. Toniolo, F. Formaggio, M. Crisma, H. E. Schoemaker, J. Kamphuis, *Tetrahedron: Asymmetry* **5** (1994) 507–510.
33. S. A. Miller, J. A. Tebboth, J. F. Tremaine, *J. Chem. Soc.* (1952) 632–635.
34. G. Wilkinson, M. Rosenblum, M. C. Whiting, R. B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.* **74** (1952) 2125–2126.
35. E. O. Fischer, W. Pfab, *Zeitschrift Fur Naturforsch. - Sect. B J. Chem. Sci.* **7** (1952) 377–379.
36. D. M. P. Mingos, *J. Organomet. Chem.* **635** (2001) 1–8.
37. F. Wang, N. Mohammadi, S. P. Best, D. Appadoo, C. T. Chantler, *Radiat. Phys. Chem.* **188** (2021) 109590.
38. A. Haaland, J. E. Nilsson, T. Olson, T. Norin, *Acta Chem. Scand.* **22** (1968) 2653–2670.
39. S. Coriani, A. Haaland, T. Helgaker, P. Jørgensen, *ChemPhysChem* **7** (2006) 245–249.
40. C. Valerio, J. L. Fillaut, J. Ruiz, J. Guittard, J. C. Blais, D. Astruc, *J. Am. Chem. Soc.*

119 (1997) 2588–2589.

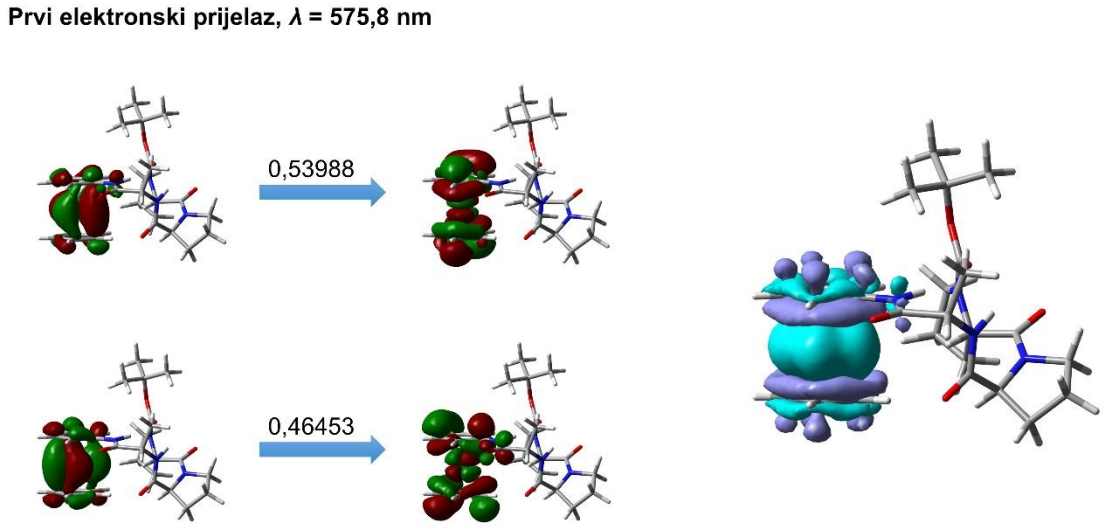
41. C. J. Yu, Y. Wan, H. Yowanto, J. Li, C. Tao, M. D. James, C. L. Tan, G. F. Blackburn, T. J. Meade, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 11155–11161.
42. A. E. G. Cass, G. Davis, G. D. Francis, H. Allen, O. Hill, W. J. Aston, I. J. Higgins, E. V. Plotkin, L. D. L. Scott, A. P. F. Turner, *Anal. Chem.* **56** (1984) 667–671.
43. Z. Zong, Z. Cao, A. Hao, P. Xing, *J. Mater. Chem. C* **9** (2021) 12191–12200.
44. S. I. Kirin, H. Kraatz, N. Metzler-Nolte, *Chem. Soc. Rev.* **35** (2006) 348–354.
45. L. Barišić, M. Dropučić, V. Rapić, H. Pritzkow, S. I. Kirin, N. Metzler-Nolte, *Chem. Commun.* (2004) 2004–2005.
46. L. Barišić, M. Čakić, K. A. Mahmoud, Y. Liu, H.-B. Kraatz, H. Pritzkow, S. I. Kirin, N. Metzler-Nolte, V. Rapić, *Chem. - A Eur. J.* **12** (2006) 4965–4980.
47. A. Nomoto, T. Moriuchi, S. Yamazaki, A. Ogawa, T. Hirao, *Chem. Commun.* **1** (1998) 1963–1964.
48. T. Moriuchi, A. Nomoto, K. Yoshida, A. Ogawa, T. Hirao, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 68–75.
49. S. Chowdhury, K. A. Mahmoud, G. Schatte, H.-B. Kraatz, *Org. Biomol. Chem.* **3** (2005) 3018.
50. M. Kovačević, I. Kodrin, M. Cetina, I. Kmetič, T. Murati, M. Č. Semenčić, S. Roca, L. Barišić, *Dalt. Trans.* **44** (2015) 16405–16420.
51. G. Chang, W. C. Guida, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989) 4379–4386.
52. E. S. Shubina, L. M. Esptein, T. V. Timofeeva, Y. T. Struchkov, A. Z. Kreindlin, S. S. Fadeeva, M. I. Rybinskaya, *J. Organomet. Chem.* **346** (1988) 59–66.
53. R. Blom, A. Hammel, A. Haaland, J. Weidlein, T. V. Timofeeva, Y. T. Struchkov, *J. Organomet. Chem.* **462** (1993) 131–139.
54. X. De Hatten, Z. Cournia, I. Huc, J. C. Smith, N. Metzler-Nolte, *Chem. - A Eur. J.* **13** (2007) 8139–8152.
55. F. M. Menger, M. J. Sherrod, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 8606–8611.
56. J. M. Rudziński, E. Õsawa, *J. Phys. Org. Chem.* **5** (1992) 382–394.
57. T. V. Timofeeva, J. H. Lii, N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 7452–7459.
58. T. N. Doman, B. Bosnich, C. R. Landis, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 7264–7272.
59. B. Bosnich, *Chem. Soc. Rev.* **23** (1994) 387–395.
60. K. Capelle, *Brazilian J. Phys.* **36** (2006) 1318–1343.

61. P. Echenique, J. L. Alonso, *Mol. Phys.* **105** (2007) 3057–3098.
62. C. Noguez, F. Hidalgo, *Chirality* **26** (2014) 553–562.
63. C. A. Ullrich, Z. Yang, *Brazilian J. Phys.* **44** (2014) 154–188.
64. F. Neese, *Coord. Chem. Rev.* **253** (2009) 526–563.
65. C. A. Ullrich, I. V. Tokatly, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* **73** (2006) 1–15.
66. M. Thiele, E. K. U. Gross, S. Kümmel, *Phys. Rev. Lett.* **100** (2008) 153004.
67. F. Jensen, *Introd. to Comput. Chem. 2nd Ed.* (2007).
68. A. V Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 6378–6396.
69. L. David, M. Wenlock, P. Barton, A. Ritzén, *ChemMedChem* **16** (2021) 2669–2685.
70. J. Tomasi, B. Mennucci, E. Cancès, *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **464** (1999) 211–226.
71. B. Mennucci, *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2** (2012) 386–404.
72. C. J. Cramer, D. G. Truhlar, *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 8305–8311.
73. P. Popelier, *Atoms Mol. An Introd.* (2000) 164.
74. U. Koch, P. L. A. Popelier, *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 9747–9754.
75. I. Rozas, I. Alkorta, J. Elguero, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 11154–11161.
76. J. A. Robinson, *Synlett* (2000) 429–441.
77. R. M. Hughes, M. L. Waters, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **16** (2006) 514–524.
78. M. Doi, A. Asano, E. Komura, Y. Ueda, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **297** (2002) 138–142.
79. Maestro, version 9.7; Schrödinger: New York, 2014.
80. MacroModel, version 10.3; Schrödinger: New York, 2014.
81. MacroModel User Manual
82. C. Parish, R. Lombardi, K. Sinclair, E. Smith, A. Goldberg, M. Rappleye, M. Dure, *J. Mol. Graph. Model.* **21** (2002) 129–150.
83. Gaussian, Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y.

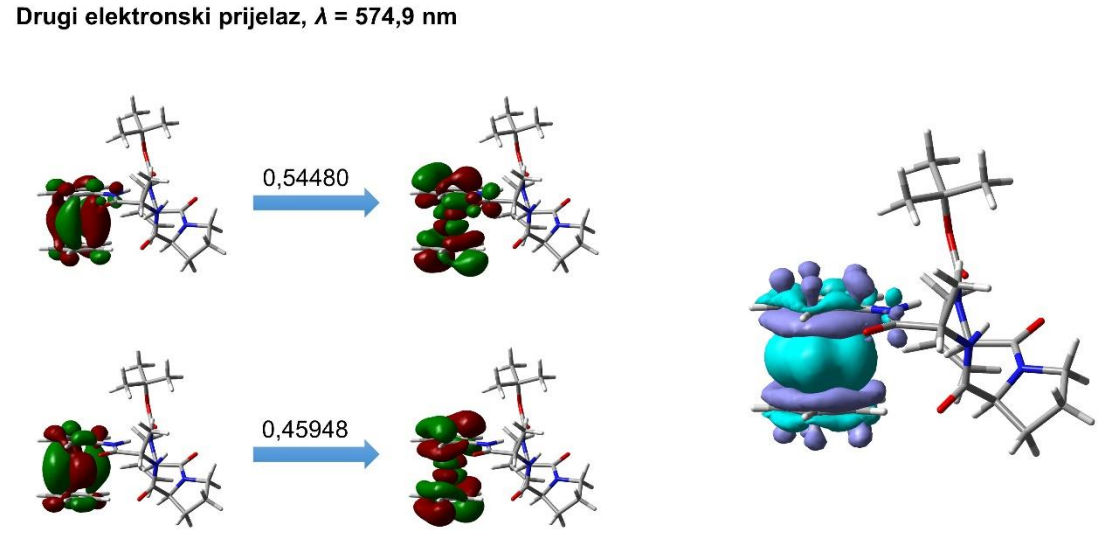
Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

84. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **132** (2010) 154104.
85. S. Grimme, S. Ehrlich, L. Goerigk, *J. Comput. Chem.* **32** (2011) 1456–1465.
86. Keith, T. A. AIMAll, version 17.11.14; TK Gristmill Software: Overland Park, KS, 2017
87. R. L. Martin, *J. Chem. Phys.* **118** (2003) 4775–4777.
88. M. Kovačević, I. Kodrin, S. Roca, K. Molčanov, Y. Shen, B. Adhikari, H. B. Kraatz, L. Barišić, *Chem. - A Eur. J.* **23** (2017) 10372–10395.
89. V. S. Ananthanarayanan, T. S. Cameron, *Int. J. Pept. Protein Res.* **31** (2009) 399–411.
90. C. Halsey-Moore, P. Jena, J. T. McLeskey, *Comput. Theor. Chem.* **1162** (2019) 112506.
91. U. Salzner, *J. Chem. Theory Comput.* **9** (2013) 4064–4073.
92. G. Angelici, M. Górecki, G. Pescitelli, N. Zanna, M. Monari, C. Tomasini, *Pept. Sci.* **110** (2018) 1–8.
93. V. Diemer, J. Maury, B. A. F. Le Bailly, S. J. Webb, J. Clayden, *Chem. Commun.* **53** (2017) 10768–10771.
94. L. Pal, G. Basu, P. Chakrabarti, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **48** (2002) 571–579.
95. Z. Zong, H. Zhang, A. Hao, P. Xing, *Dalt. Trans.* **50** (2021) 9695–9699.

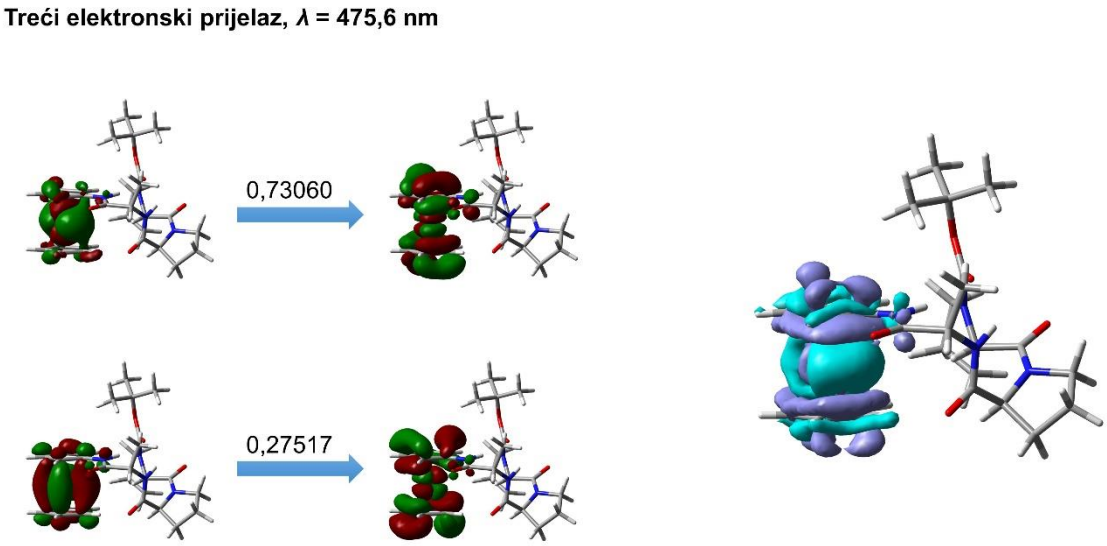
8. PRILOZI



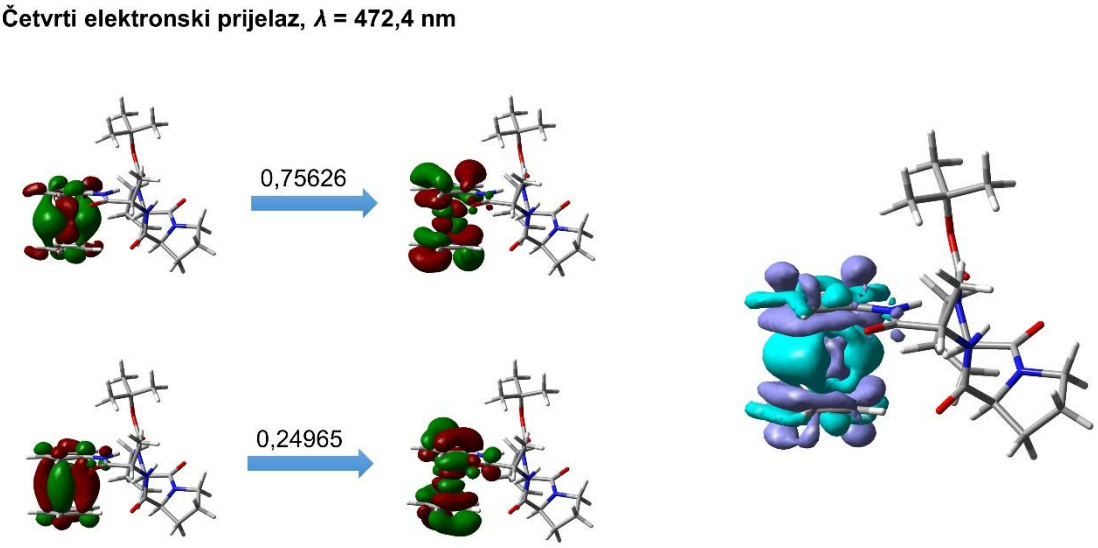
Slika P1. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 575,8 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



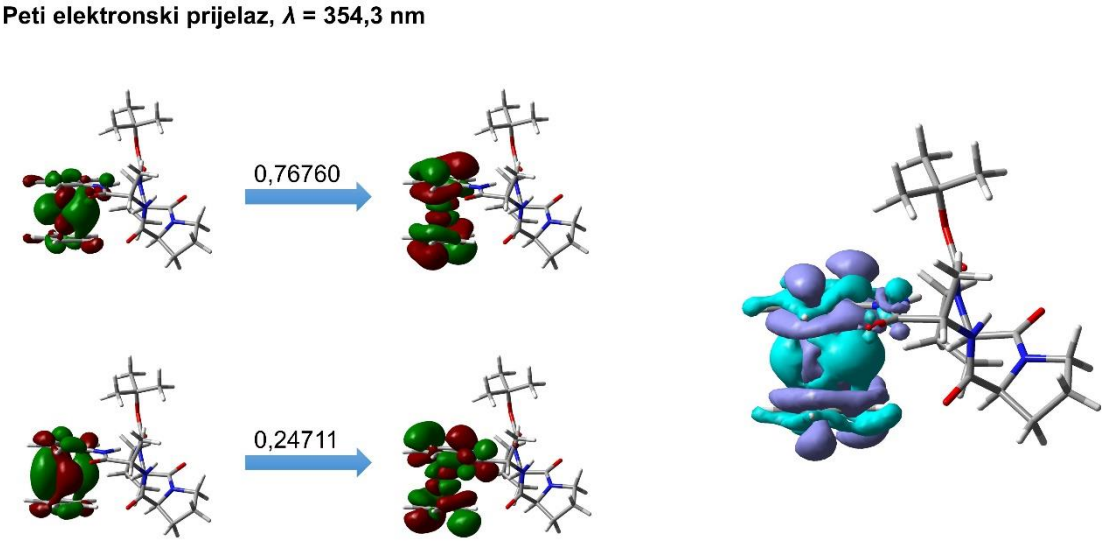
Slika P2. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 574,9 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



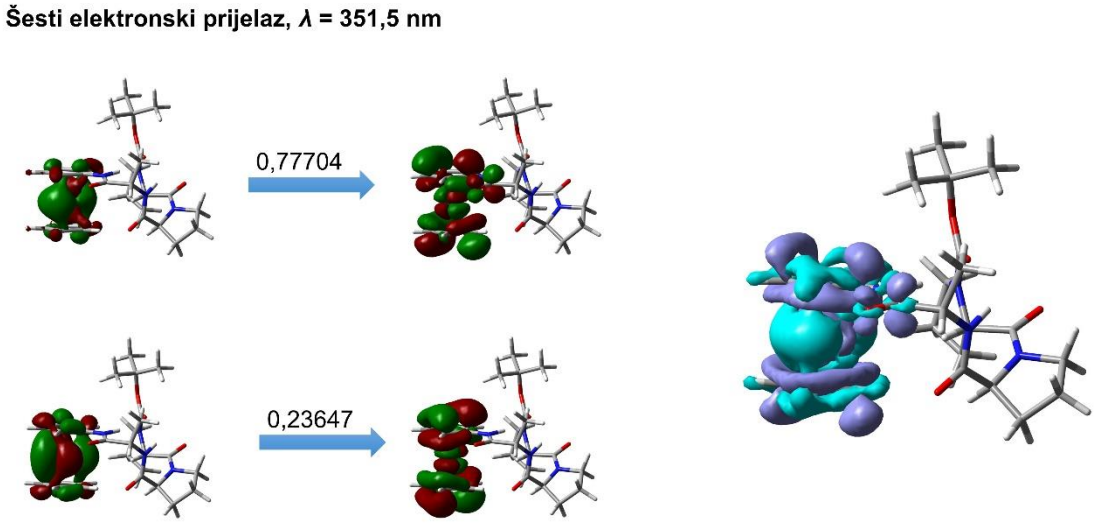
Slika P3. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 475,6 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



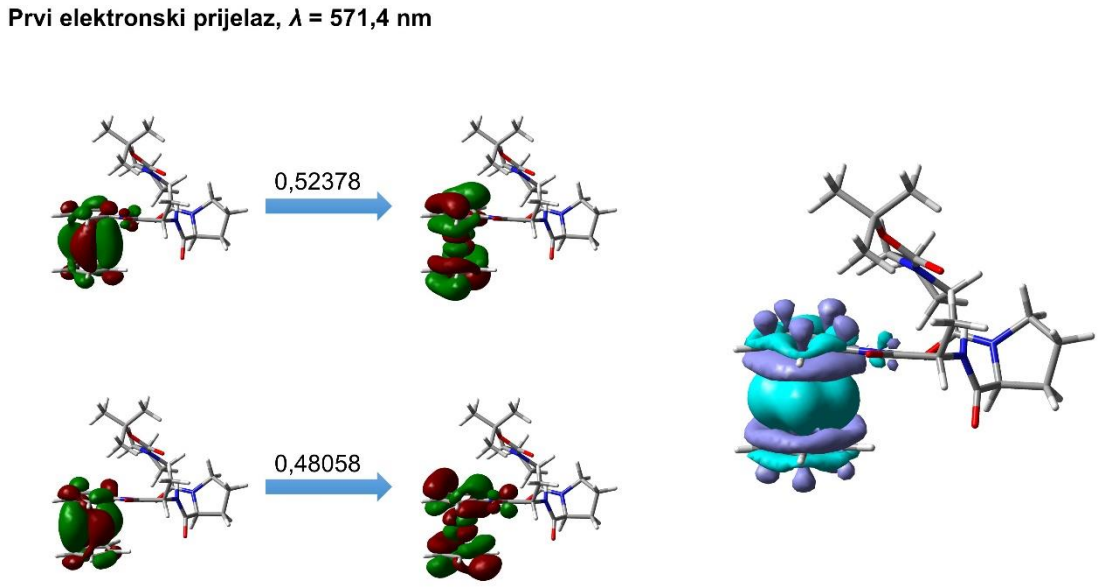
Slika P4. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 472,4 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



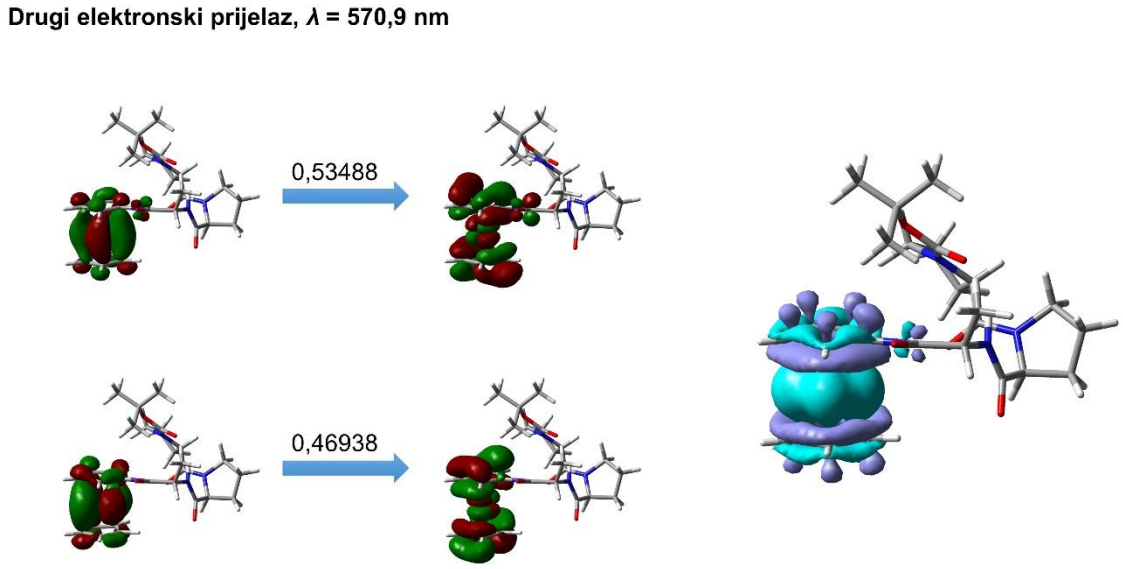
Slika P5. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 354,3 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



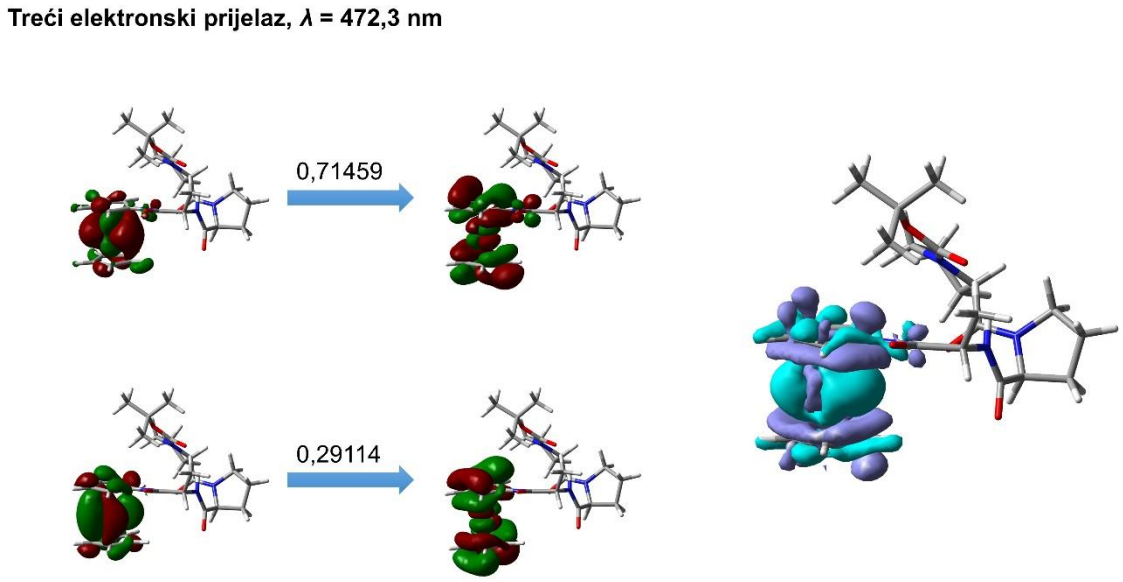
Slika P6. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **1-1** u simuliranom CD spektru.



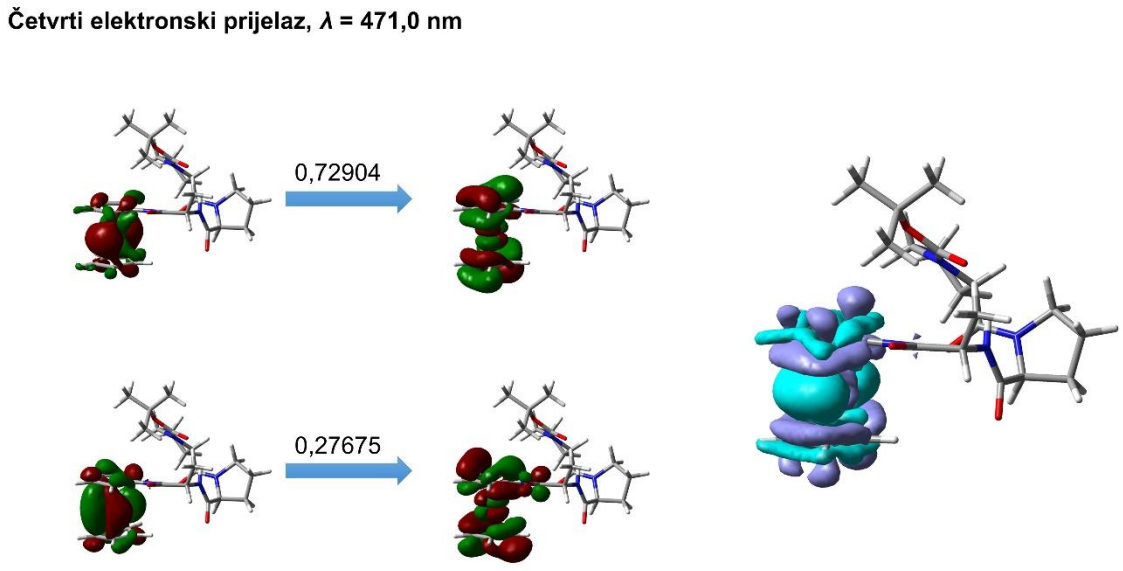
Slika P7. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 571,4 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



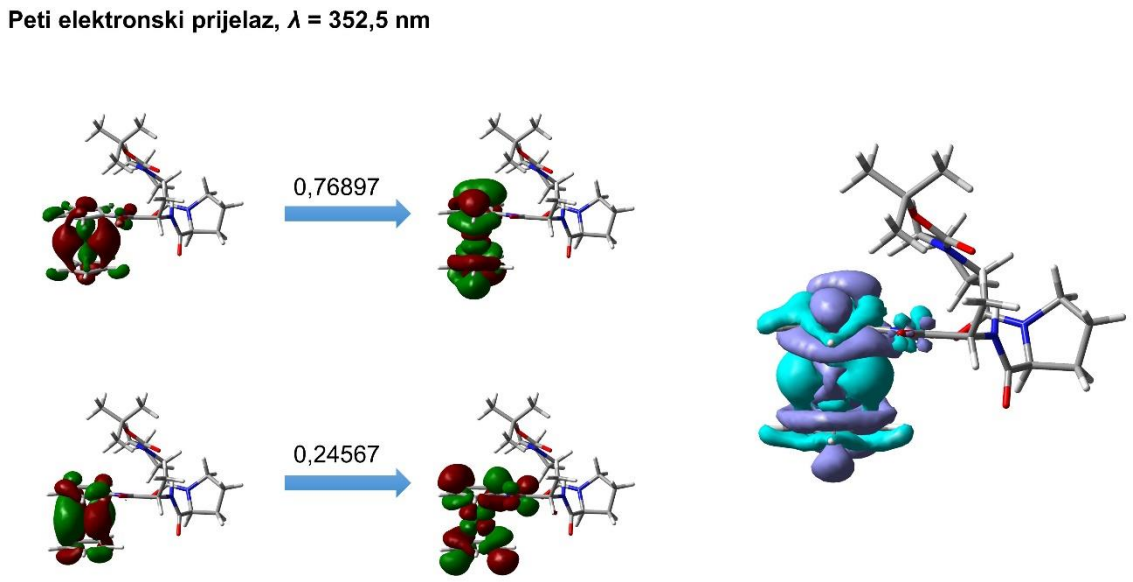
Slika P8. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 570,9 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



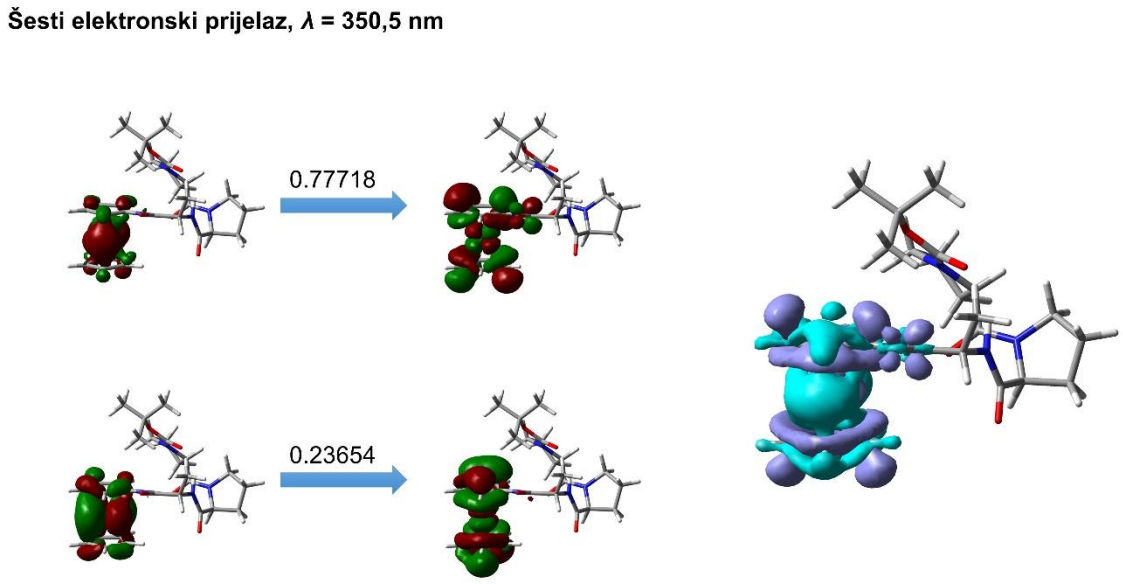
Slika P9. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 472,3 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



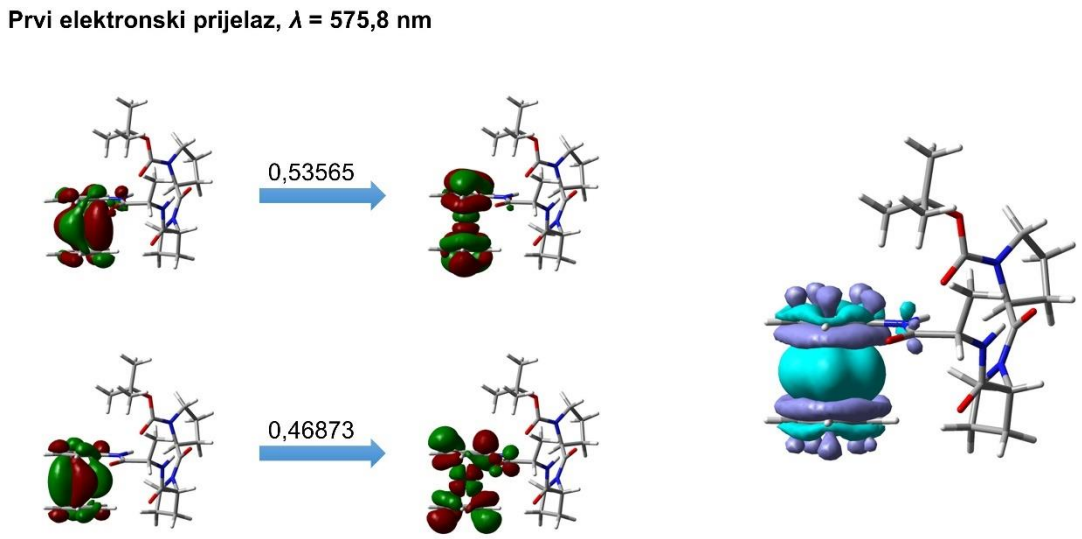
Slika P10. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 471,0 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



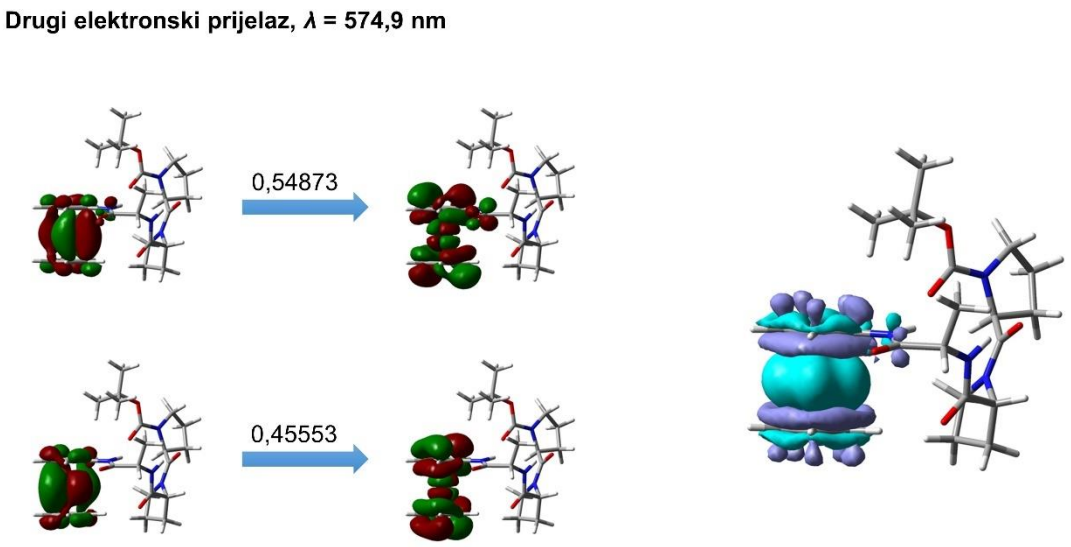
Slika P11. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 352,5 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



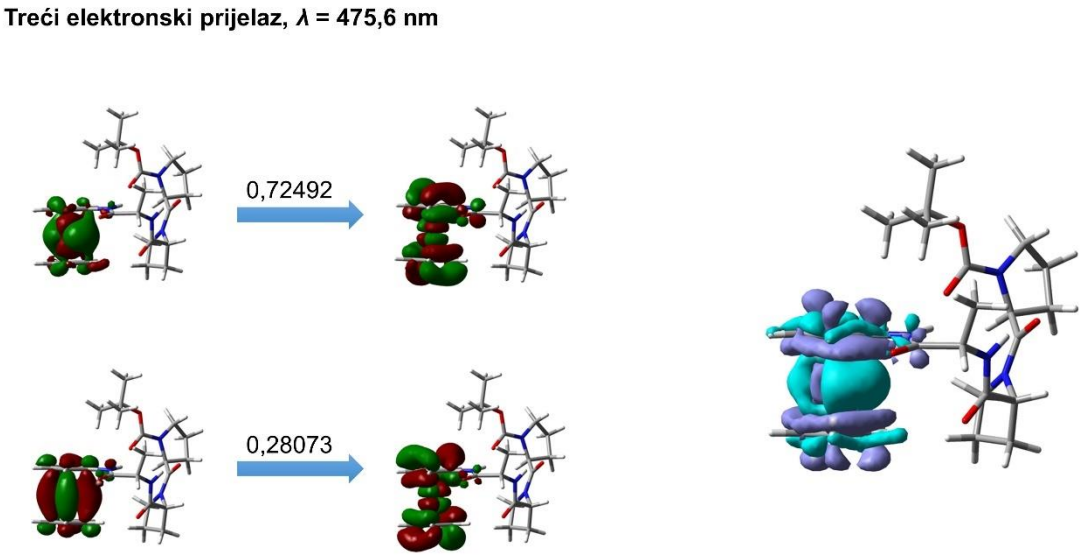
Slika P12. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 350,5 nm) konformera **2-1** u simuliranom CD spektru.



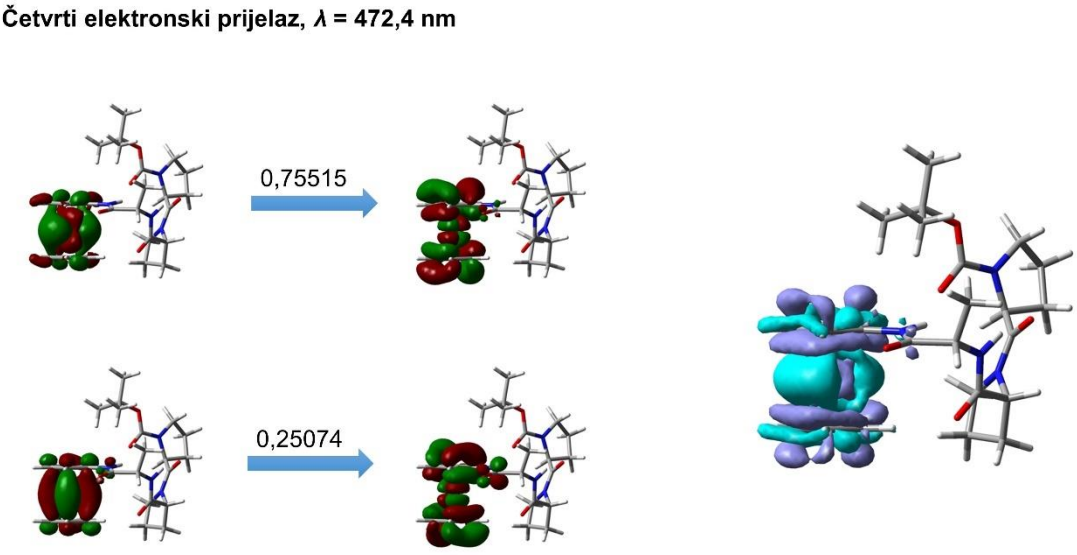
Slika P13. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 575,8 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



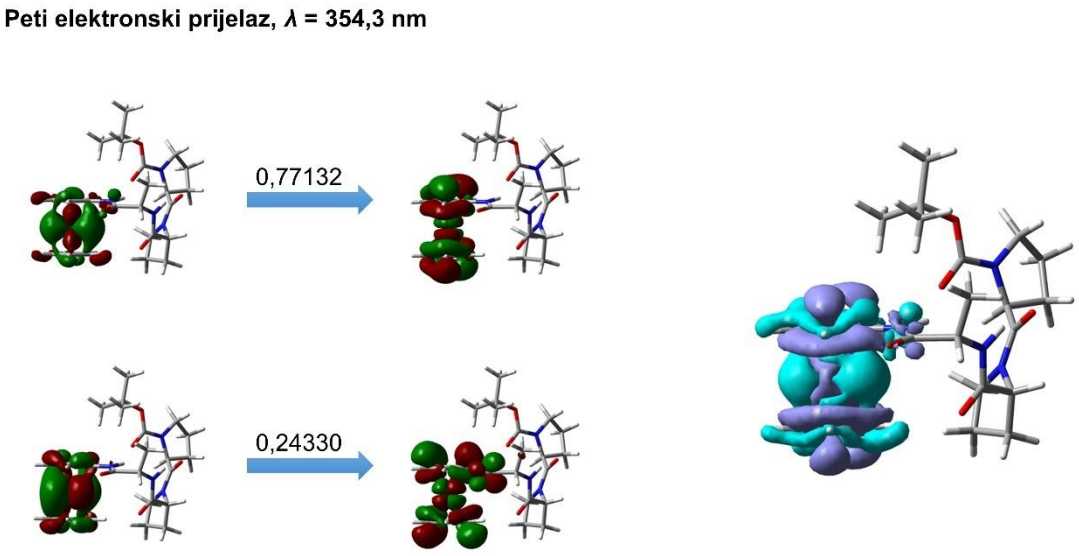
Slika P14. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 574,9 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



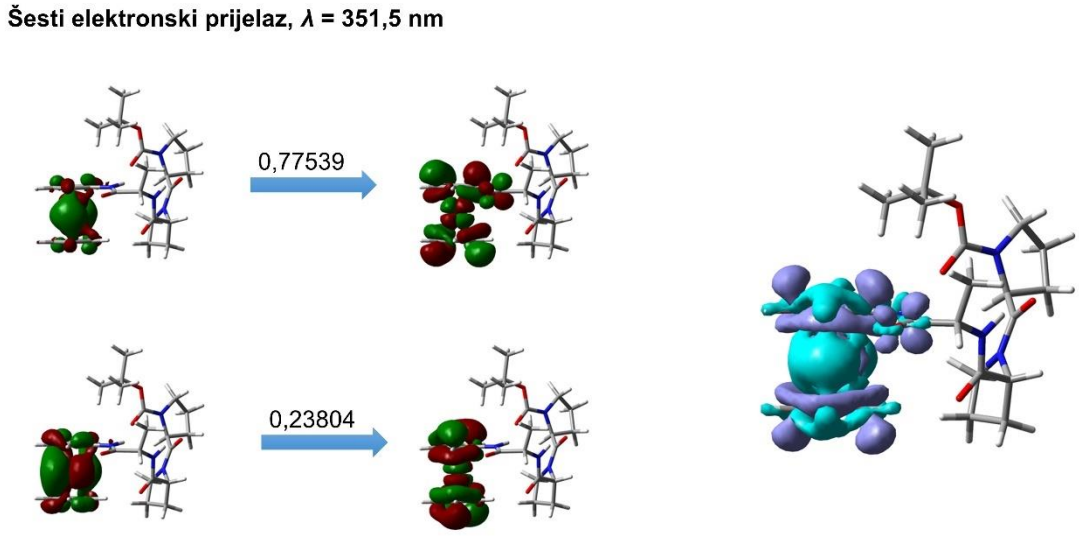
Slika P15. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 475,6 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



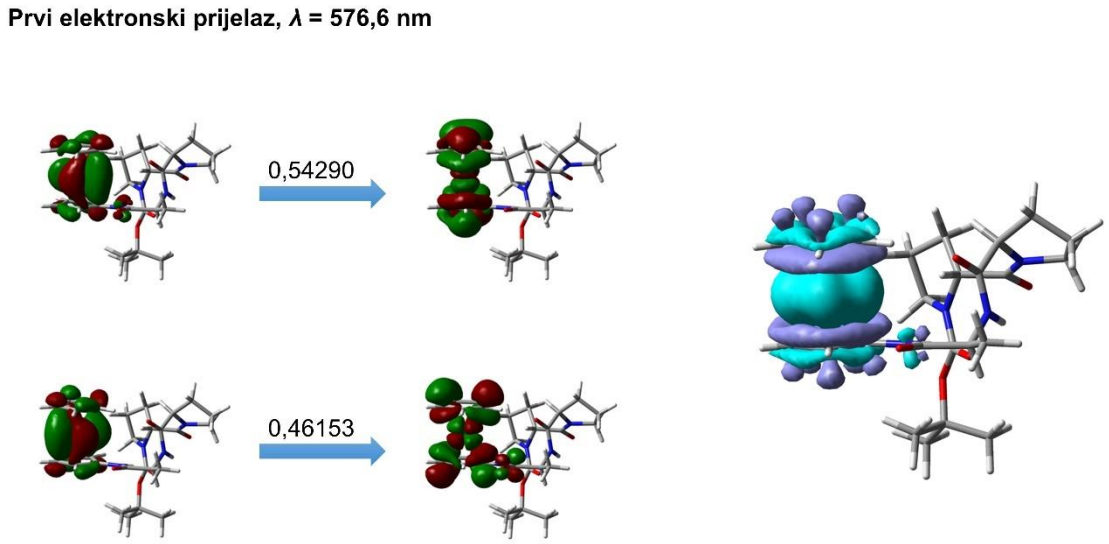
Slika P16. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 472,4 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



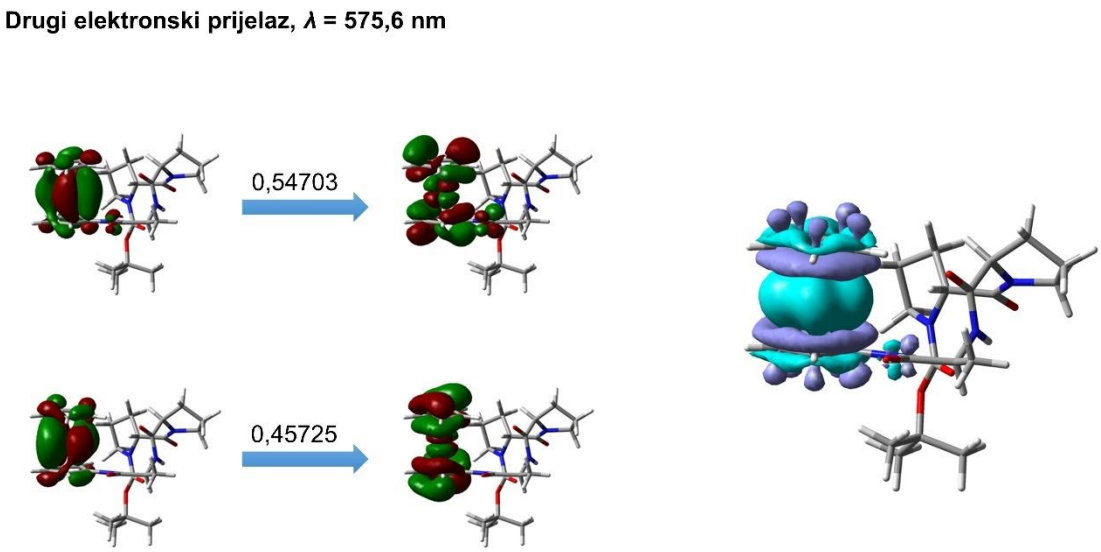
Slika P17. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 354,3 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



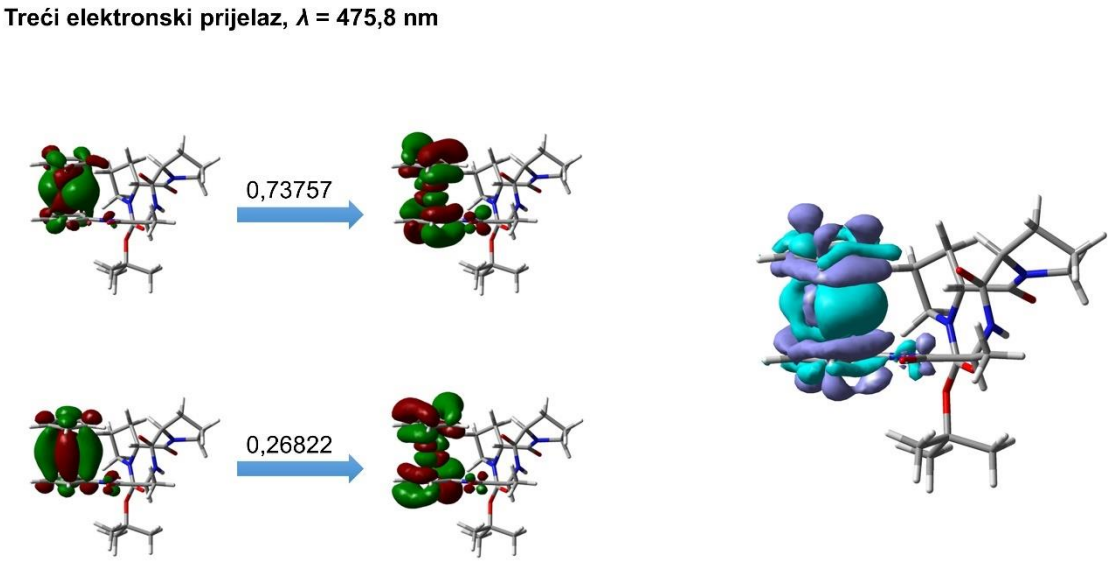
Slika P18. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **3-1** u simuliranom CD spektru.



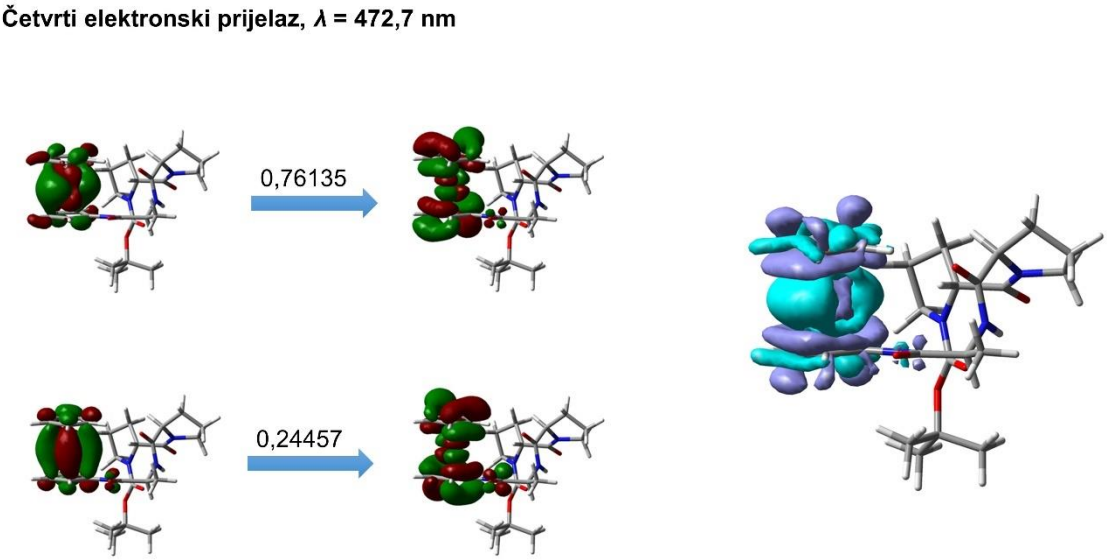
Slika P19. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



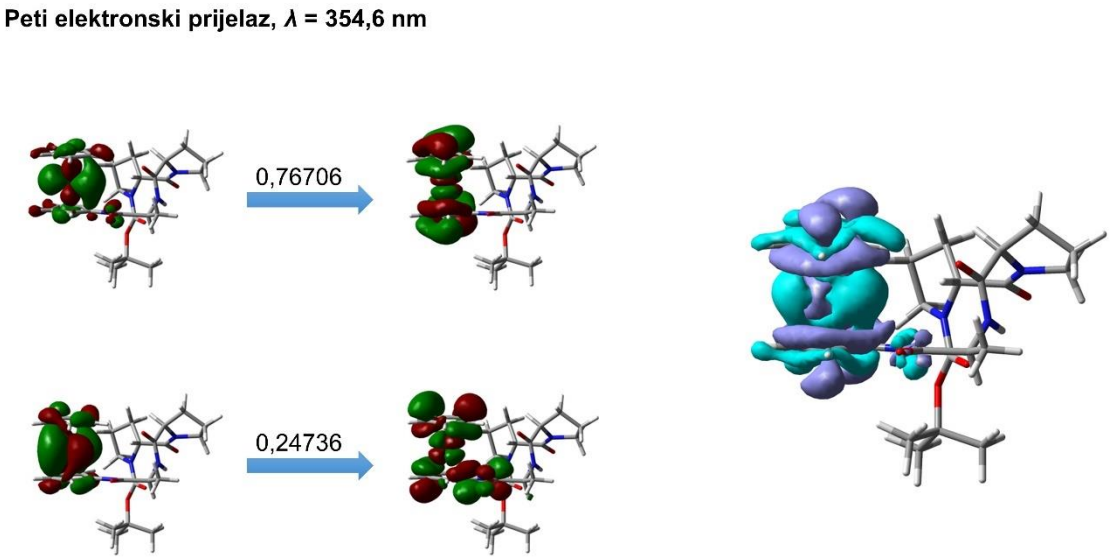
Slika P20. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



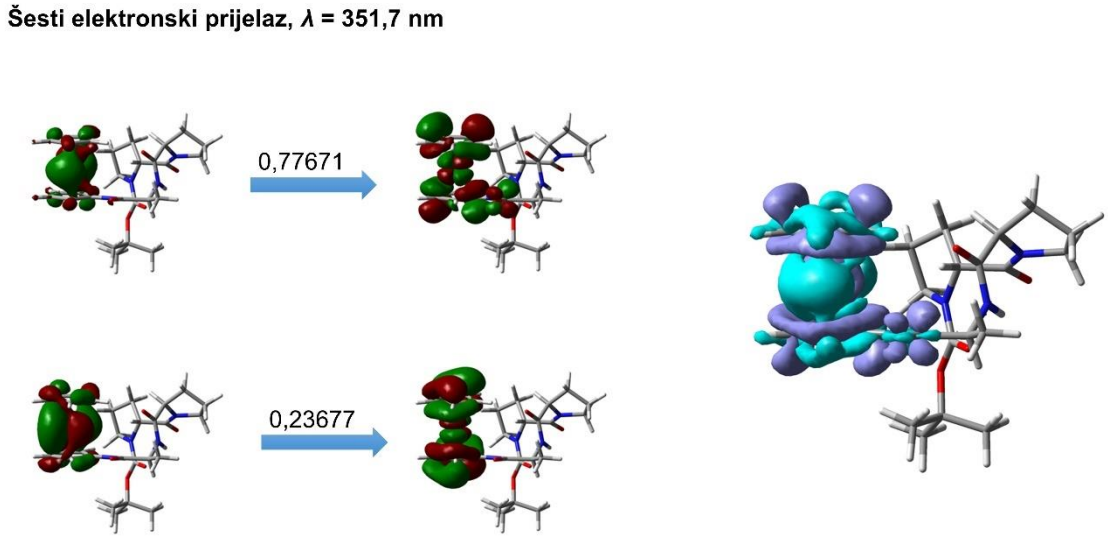
Slika P21. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



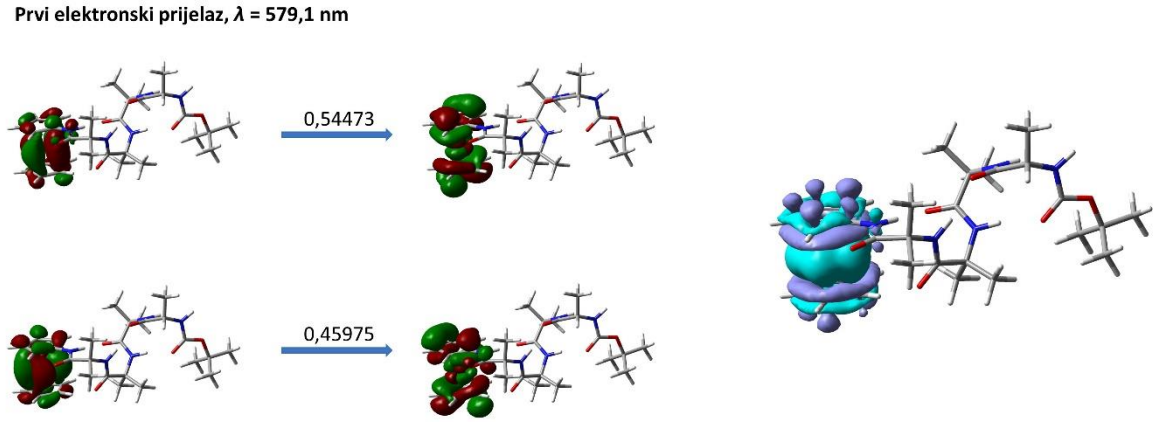
Slika P22. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



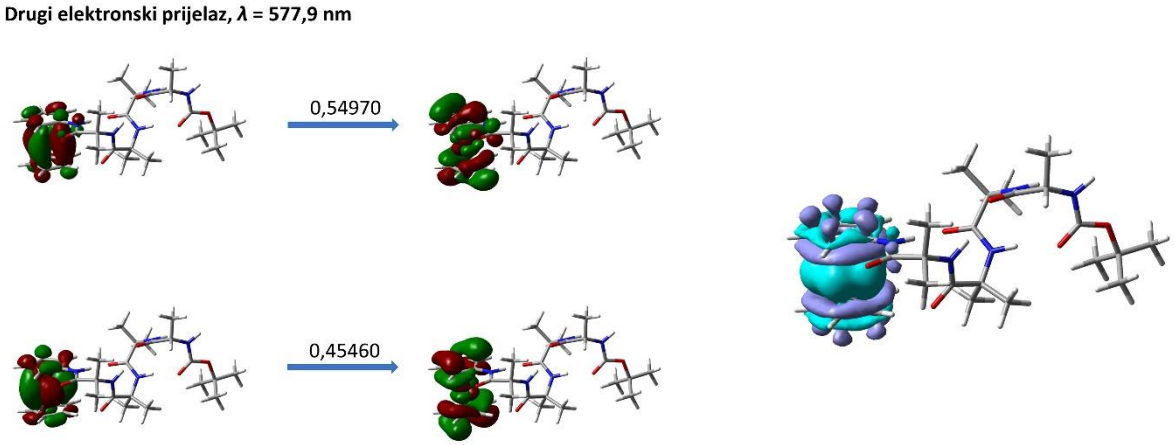
Slika P23. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



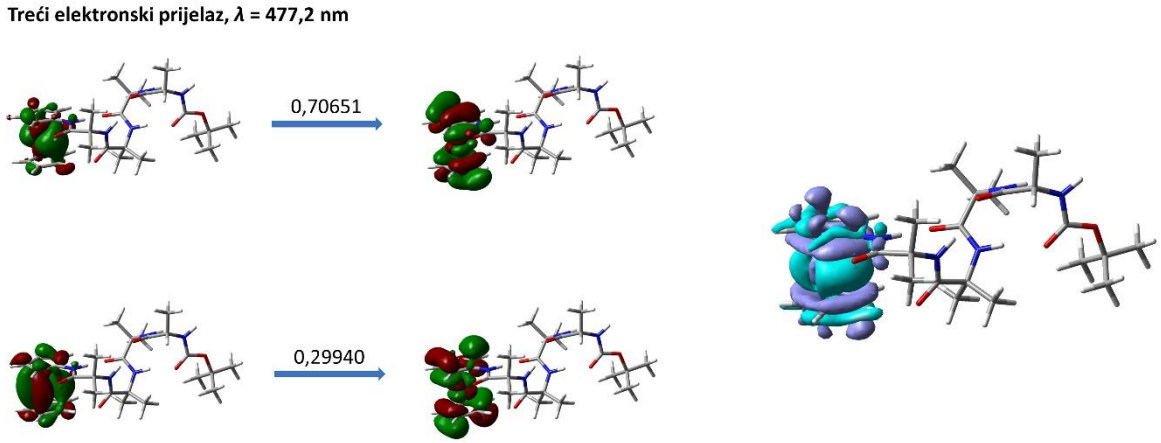
Slika P24. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 351,5 nm) konformera **4-1** u simuliranom CD spektru.



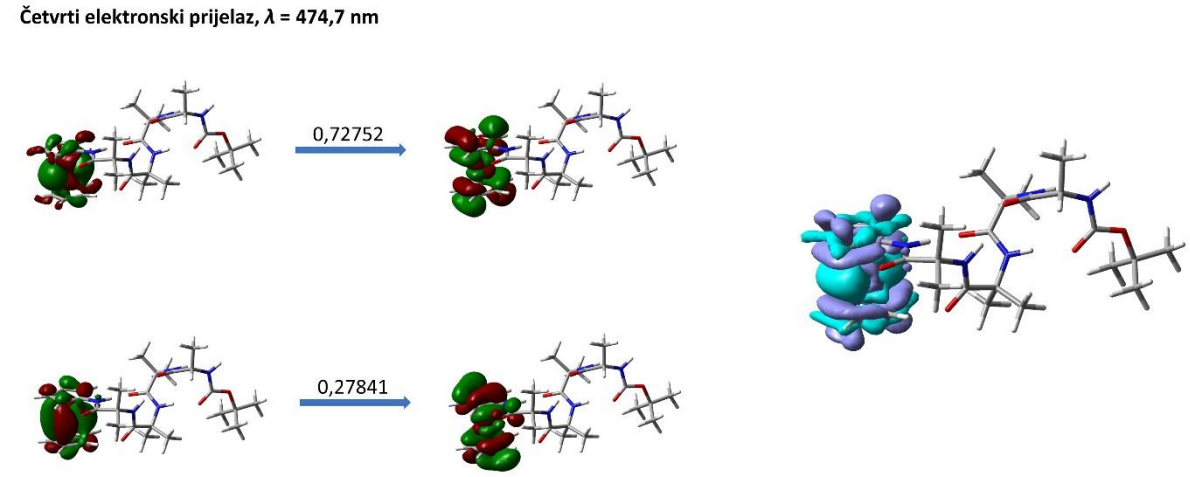
Slika P25. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 579,1 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



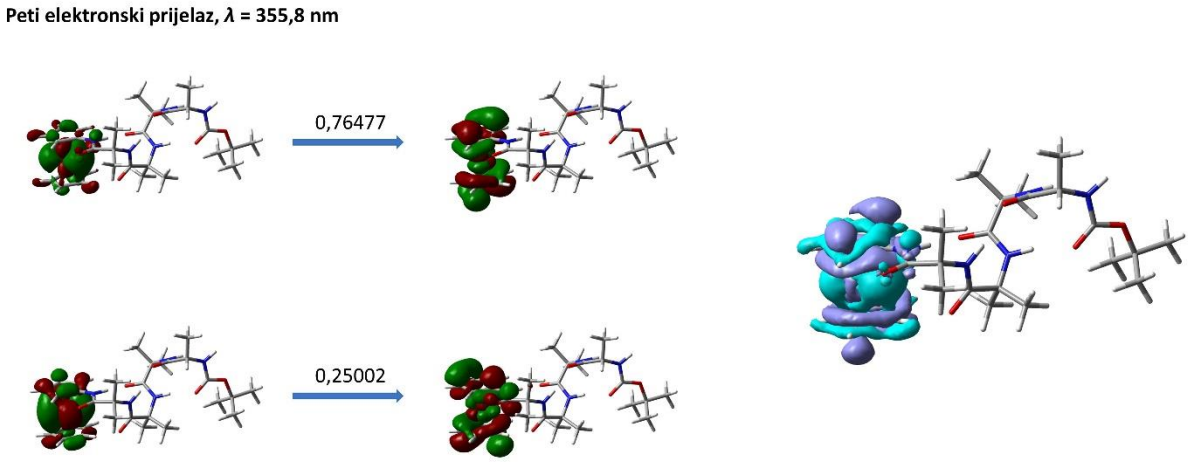
Slika P26. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 577,9 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



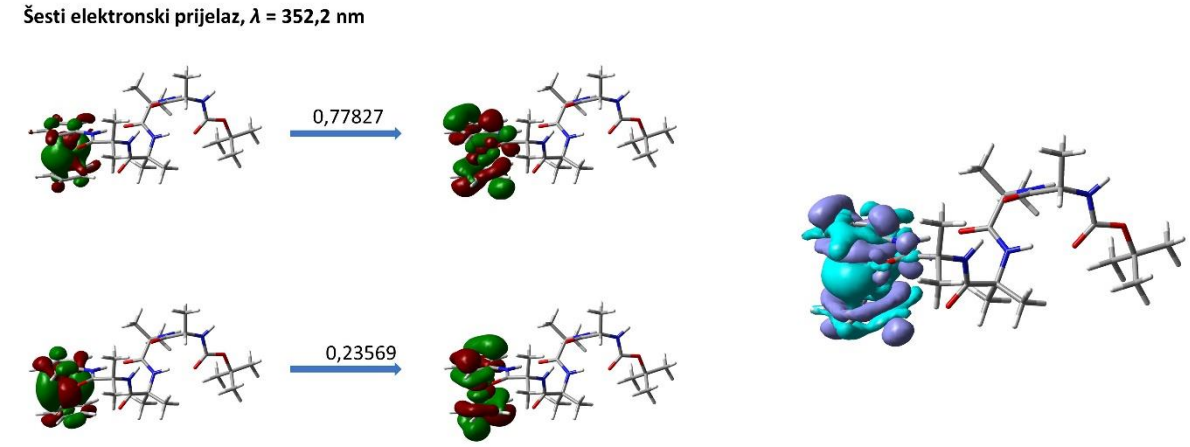
Slika P27. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 477,2 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



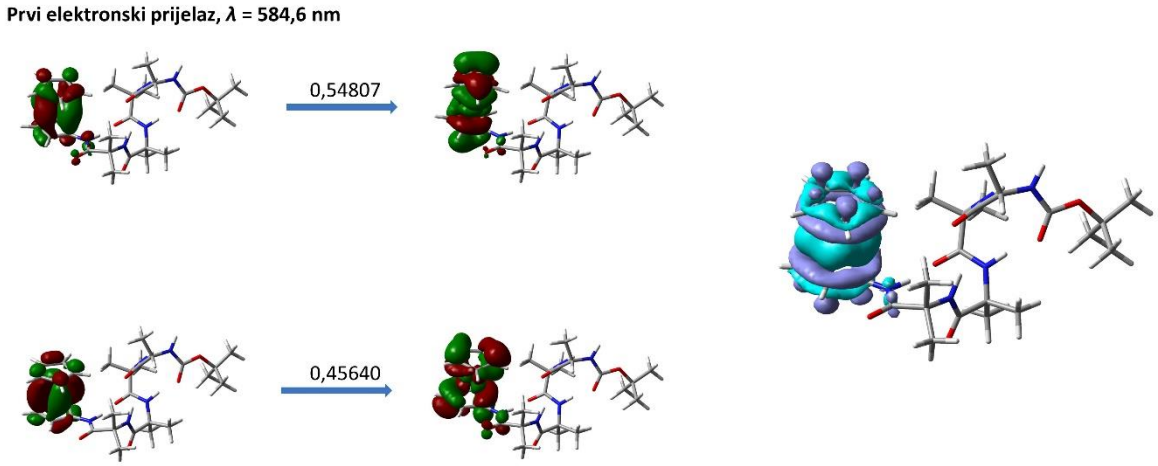
Slika P28. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,7 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



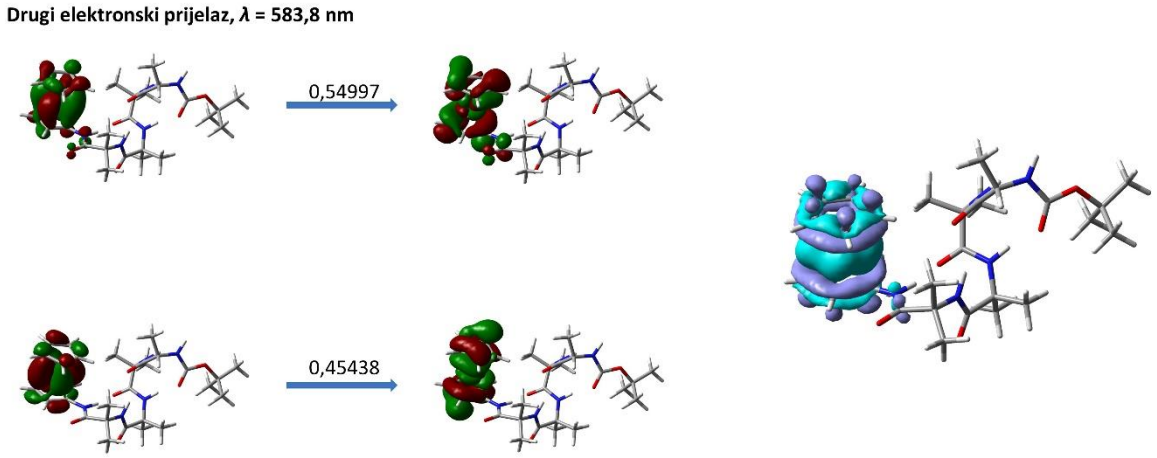
Slika P29. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 355,8 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



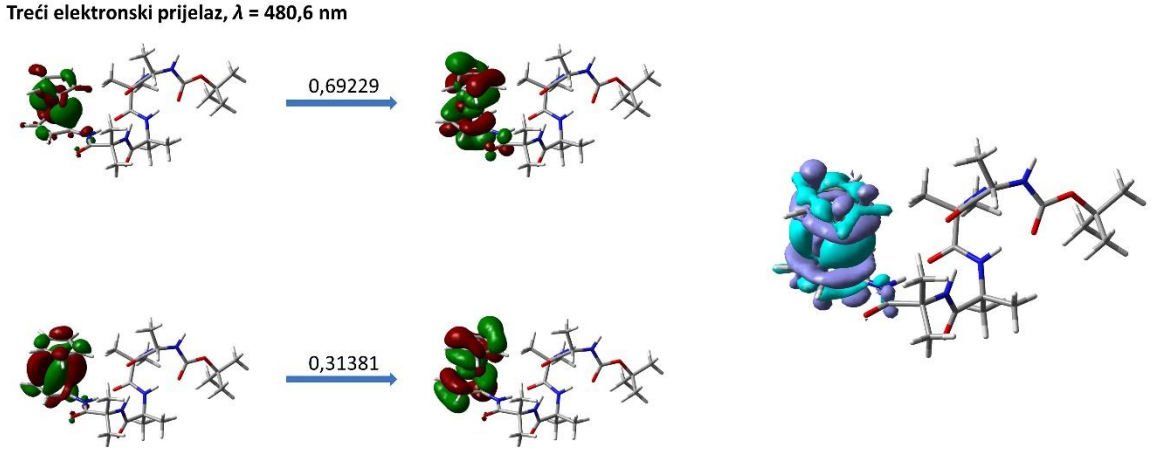
Slika P30. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 352,2 nm) konformera **10-1** u simuliranom CD spektru.



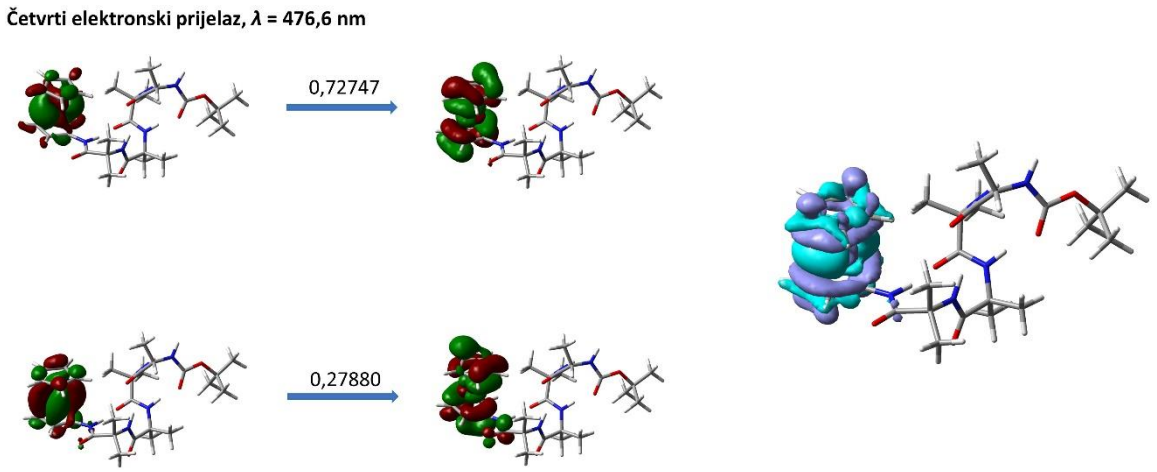
Slika P31. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 584,6 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.



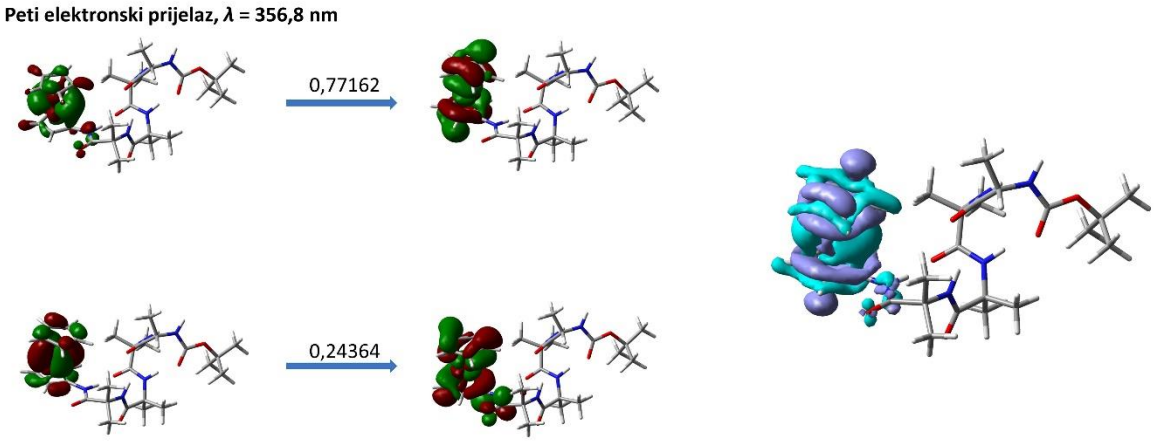
Slika P32. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 583,8 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.



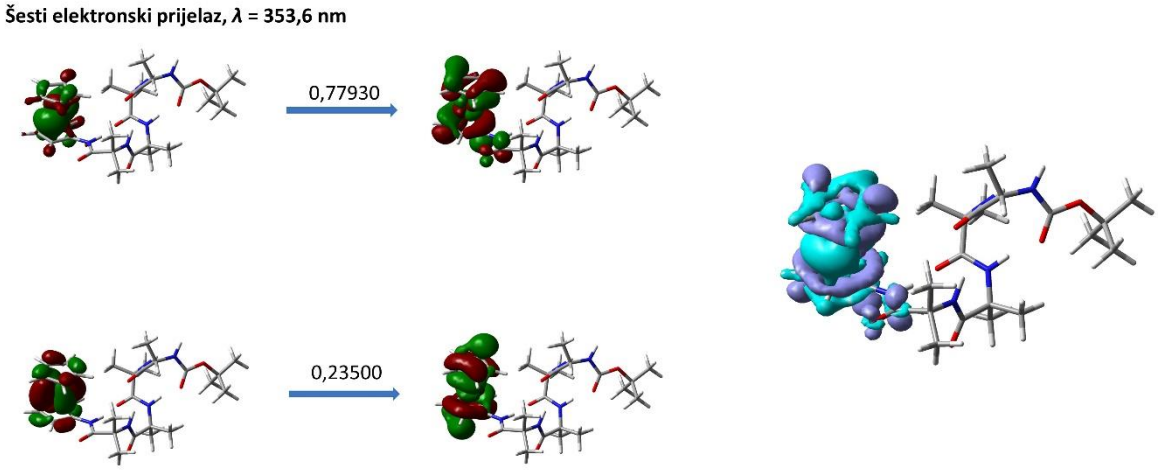
Slika P33. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 480,6 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.



Slika P34. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 476,6 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.

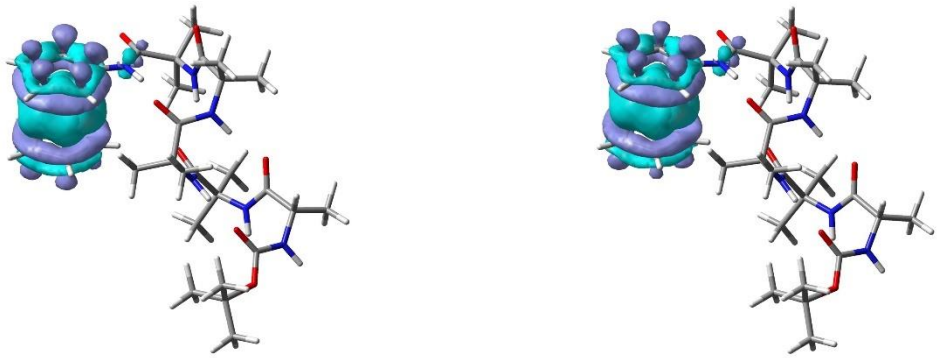


Slika P35. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 356,8 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.



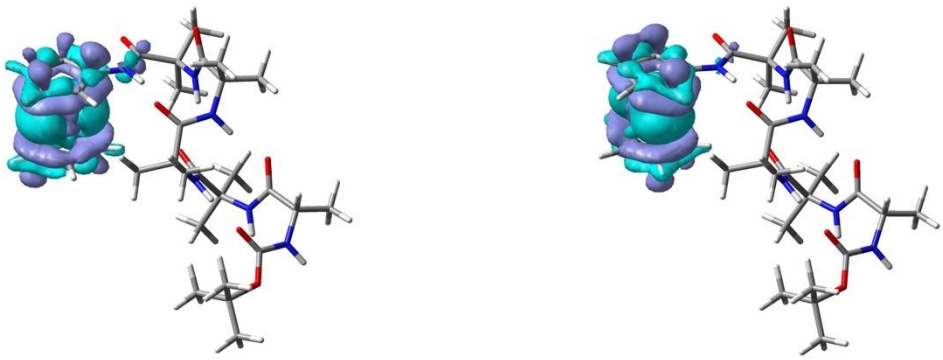
Slika P36. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 353,6 nm) konformera **10-2** u simuliranom CD spektru.

Prvi elektronski prijelaz, λ = 585,1 nm **Drugi elektronski prijelaz, λ = 584,2 nm**



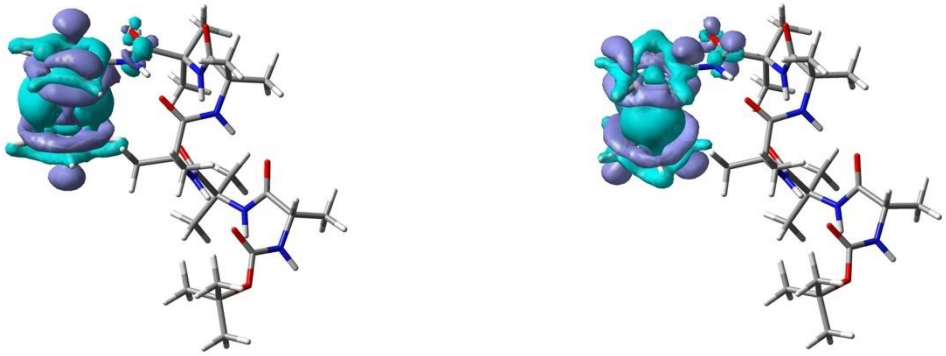
Slika P37. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi (λ = 585,1 nm) i drugi elektronski prijelaz (λ = 584,2 nm) konformera **11-2** u simuliranom CD spektru.

Treći elektronski prijelaz, λ = 480,7 nm **Četvrti elektronski prijelaz, λ = 477,0 nm**



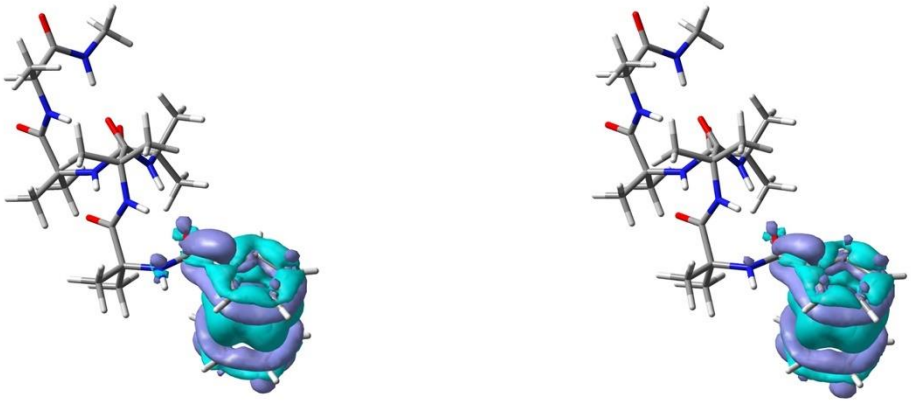
Slika P38. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći (λ = 480,7 nm) i četvrti elektronski prijelaz (λ = 477,0 nm) konformera **11-2** u simuliranom CD spektru.

Peti elektronski prijelaz, λ = 356,9 nm **Šesti elektronski prijelaz, λ = 353,8 nm**



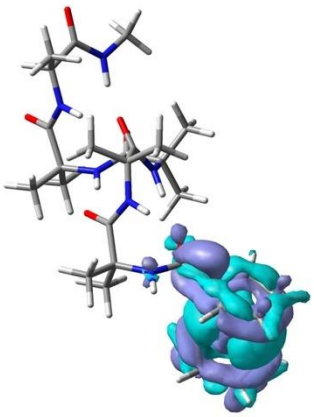
Slika P39. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti (λ = 356,9 nm) i šesti elektronski prijelaz (λ = 353,8 nm) konformera **11-2** u simuliranom CD spektru.

Prvi elektronski prijelaz, λ = 582,0 nm **Drugi elektronski prijelaz, λ = 578,4 nm**

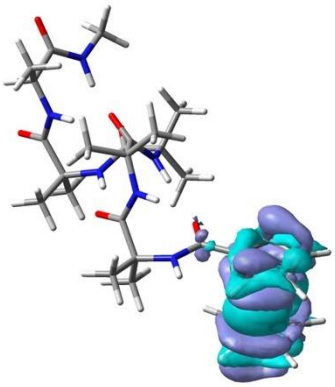


Slika P40. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi (λ = 582,0 nm) i drugi elektronski prijelaz (λ = 578,4 nm) konformera **14-1** u simuliranom CD spektru.

Treći elektronski prijelaz, λ = 484,1 nm

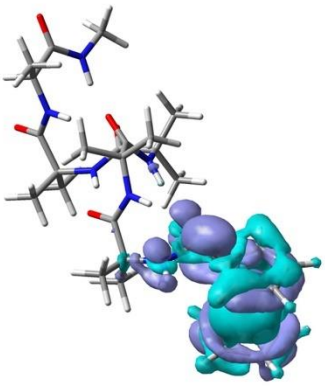


Četvrti elektronski prijelaz, λ = 474,7 nm

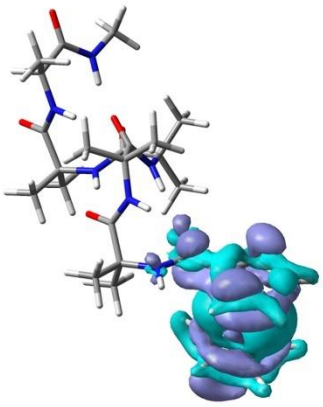


Slika P41. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći (λ = 484,1 nm) i četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,7 nm) konformera **14-1** u simuliranom CD spektru.

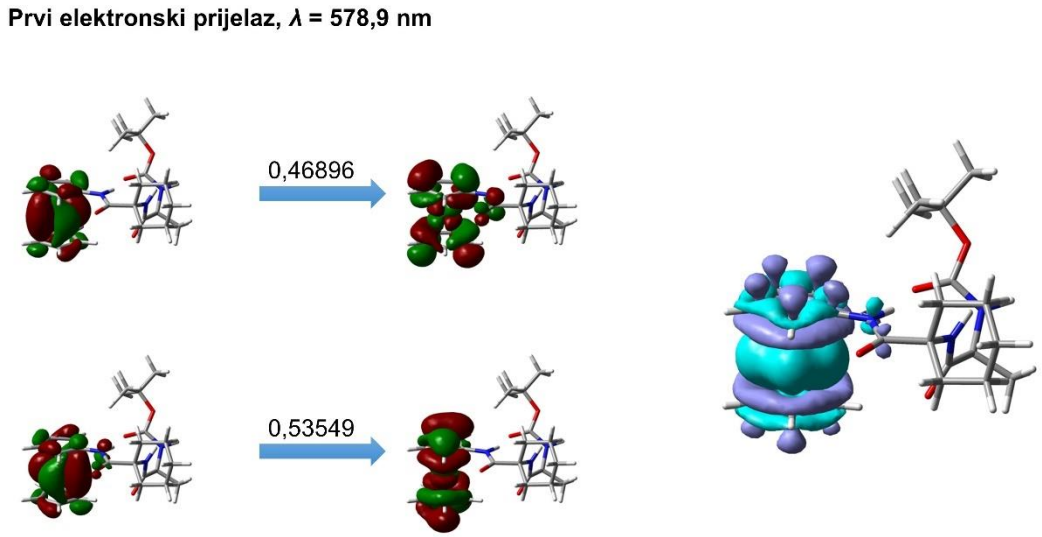
Peti elektronski prijelaz, λ = 363,5 nm



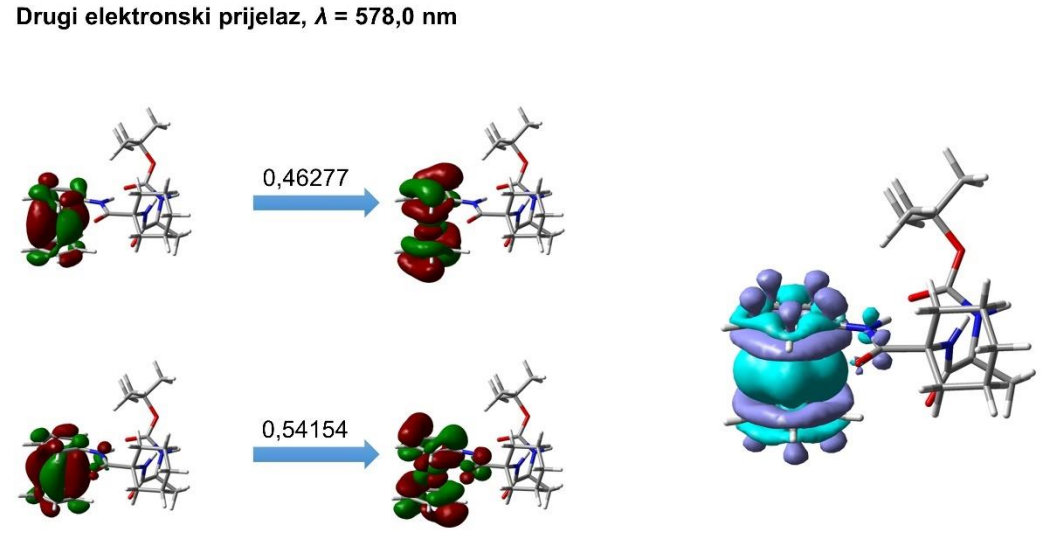
Šesti elektronski prijelaz, λ = 353,7 nm



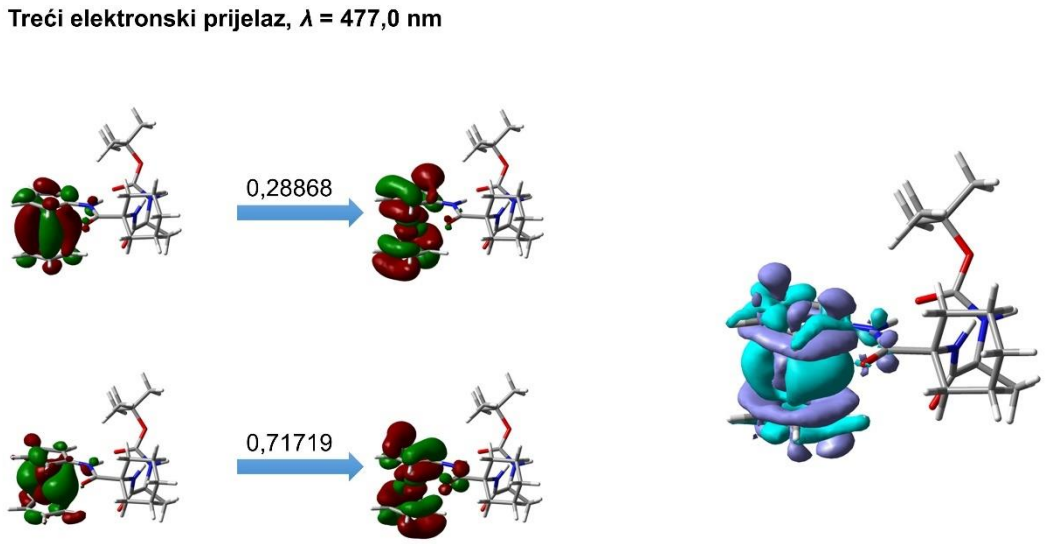
Slika P42. Razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti (λ = 363,5 nm) i šesti elektronski prijelaz (λ = 535,7 nm) konformera **14-1** u simuliranom CD spektru.



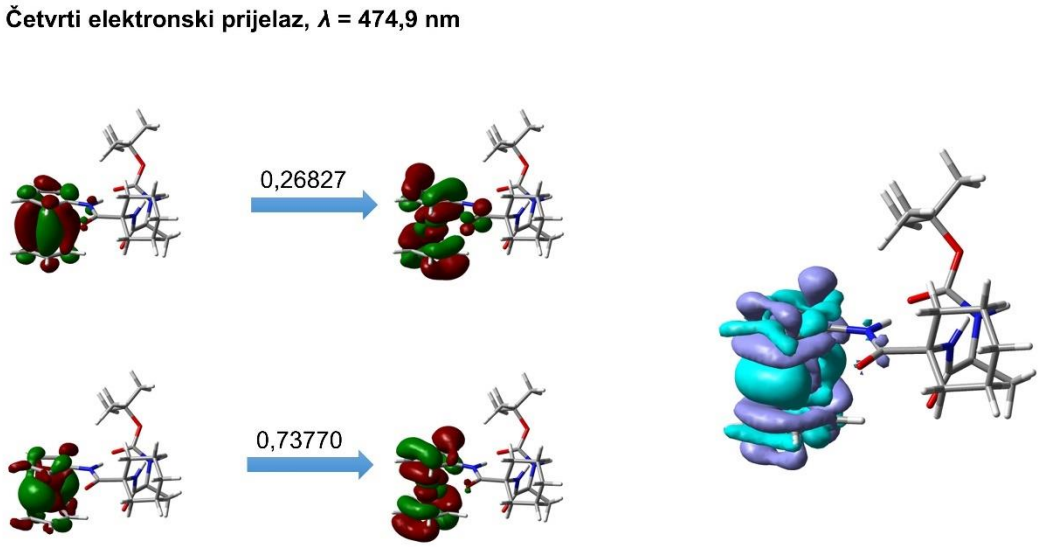
Slika P43. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 578,9 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



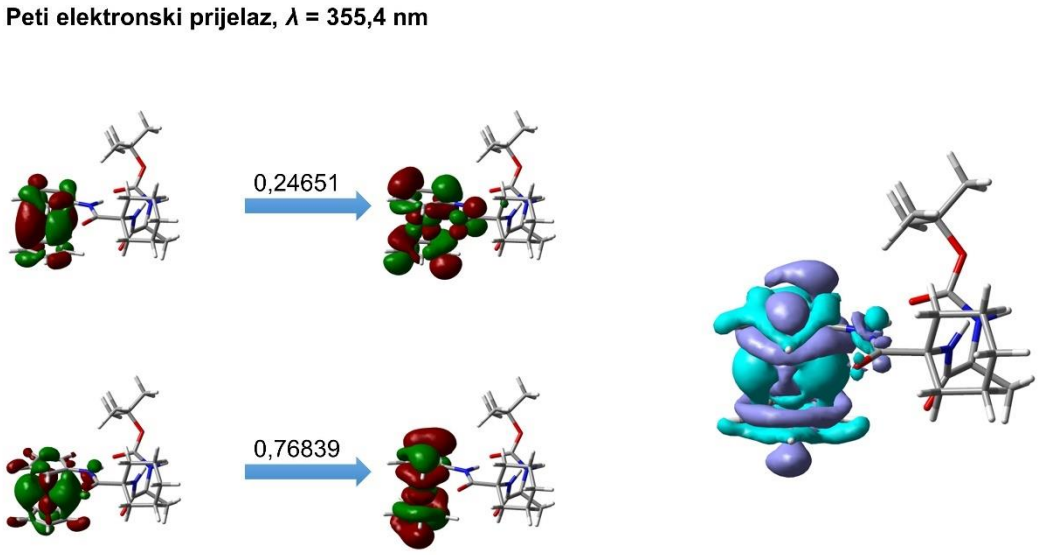
Slika P44. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 578,0 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



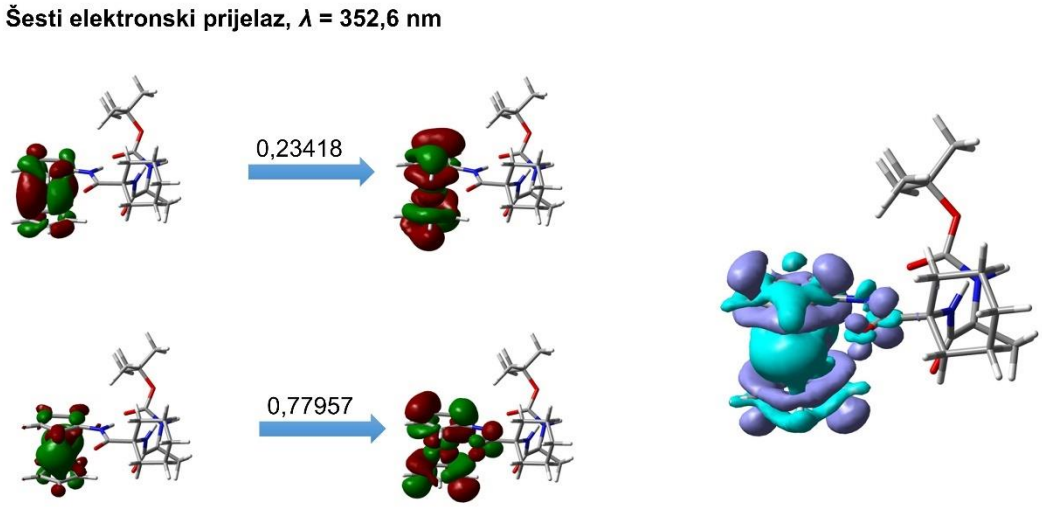
Slika P45. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 477,0 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



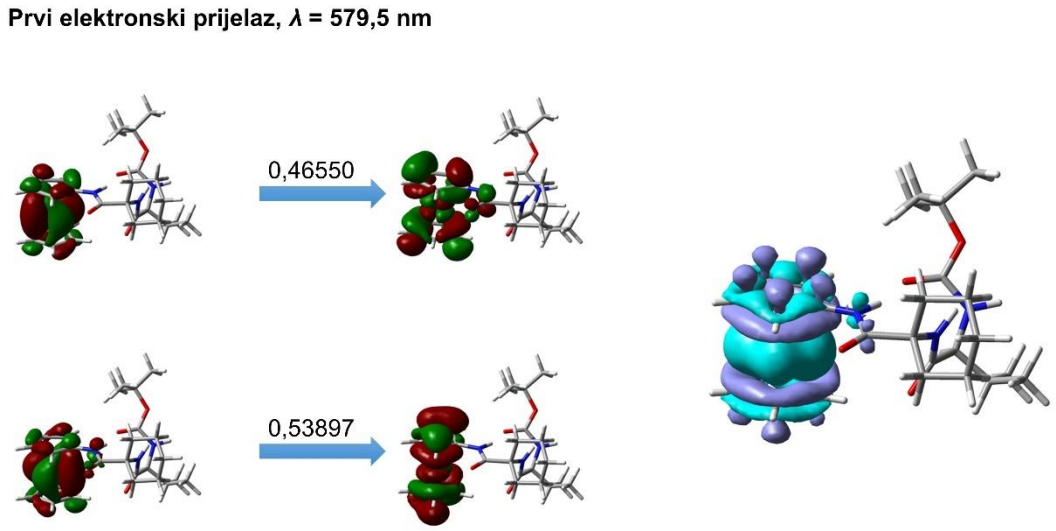
Slika P46. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,9 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



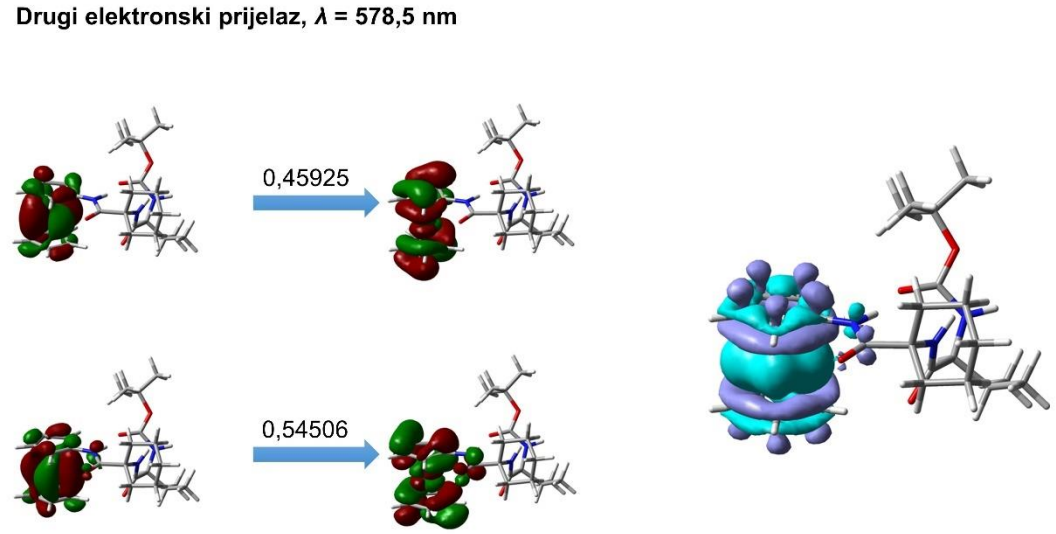
Slika P47. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 355,4 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



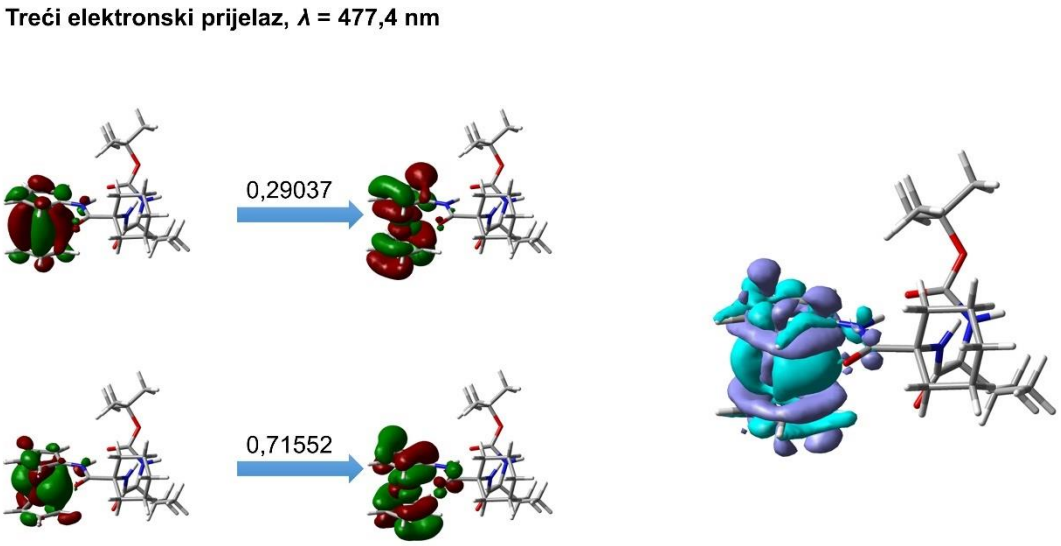
Slika P48. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 352,6 nm) konformera **15-1** u simuliranom CD spektru.



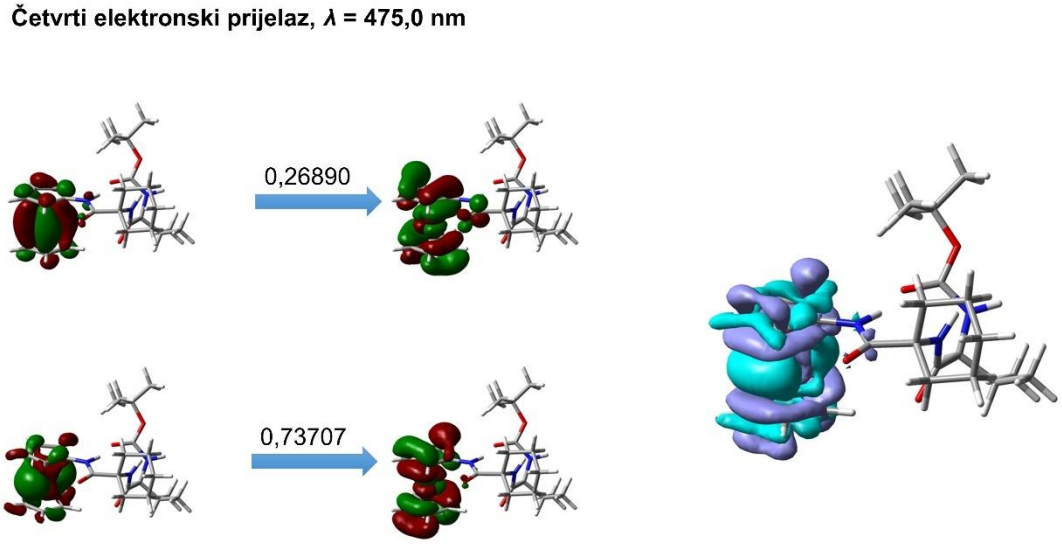
Slika P49. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 579,5 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



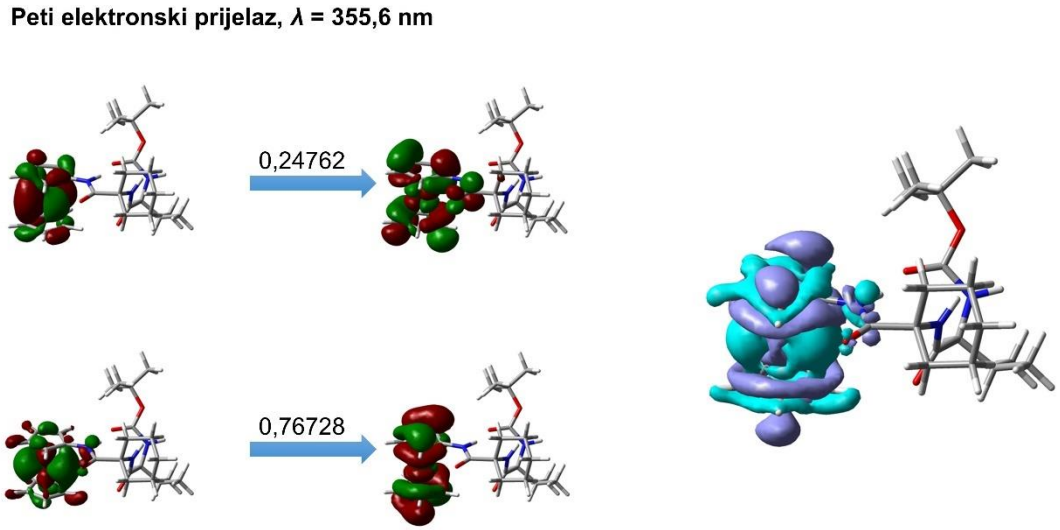
Slika P50. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 578,5 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



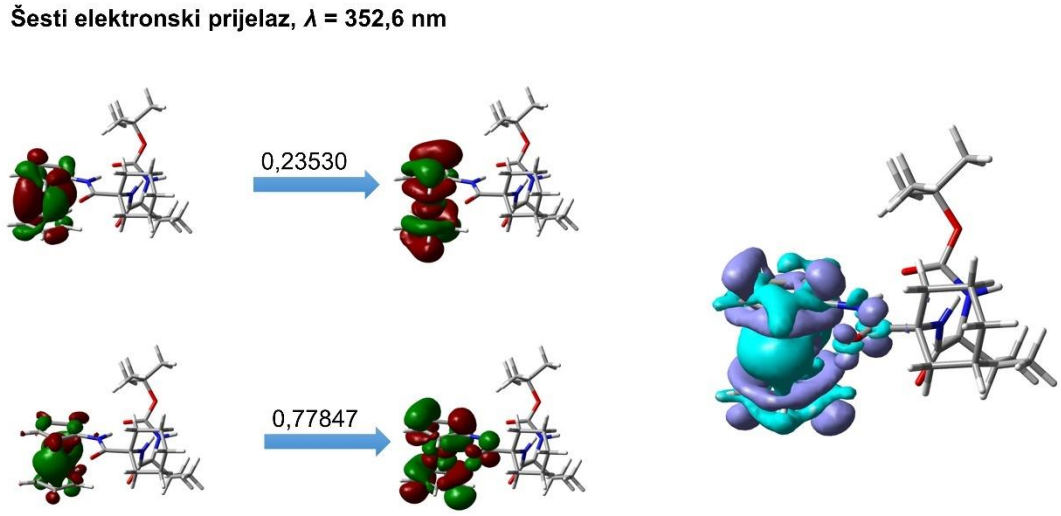
Slika P51. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 477,4 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



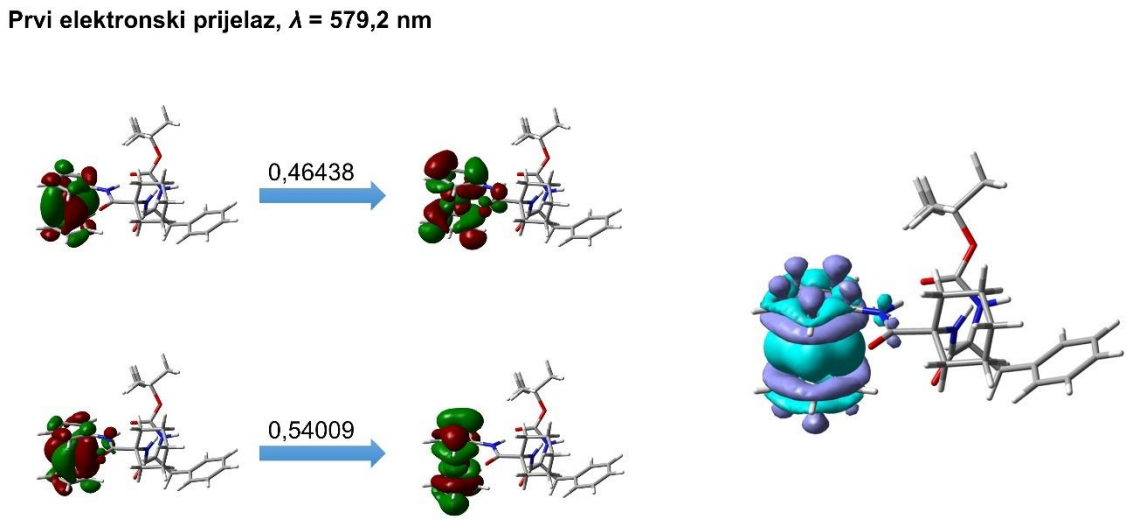
Slika P52. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 475,0 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



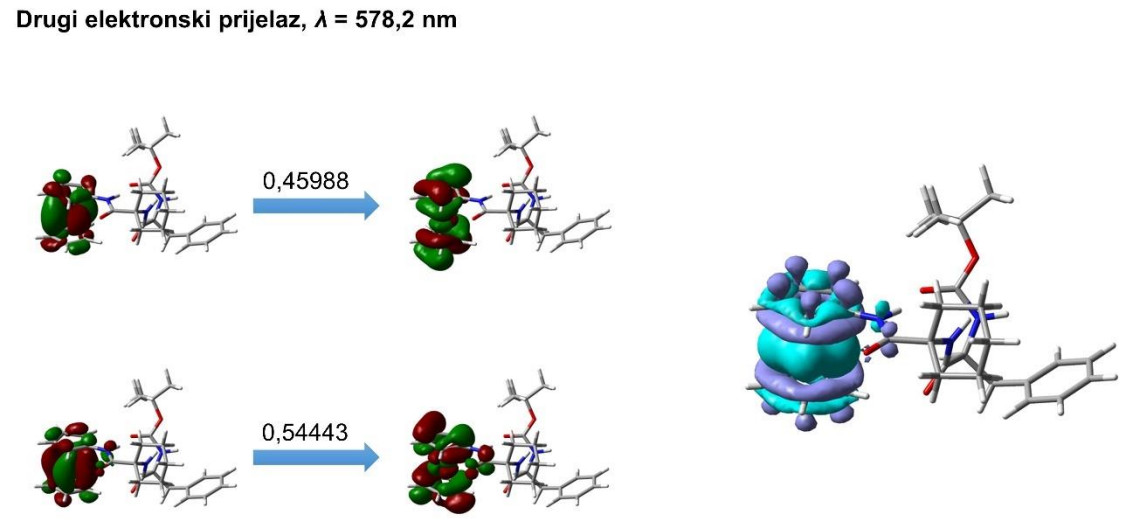
Slika P53. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 355,6 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



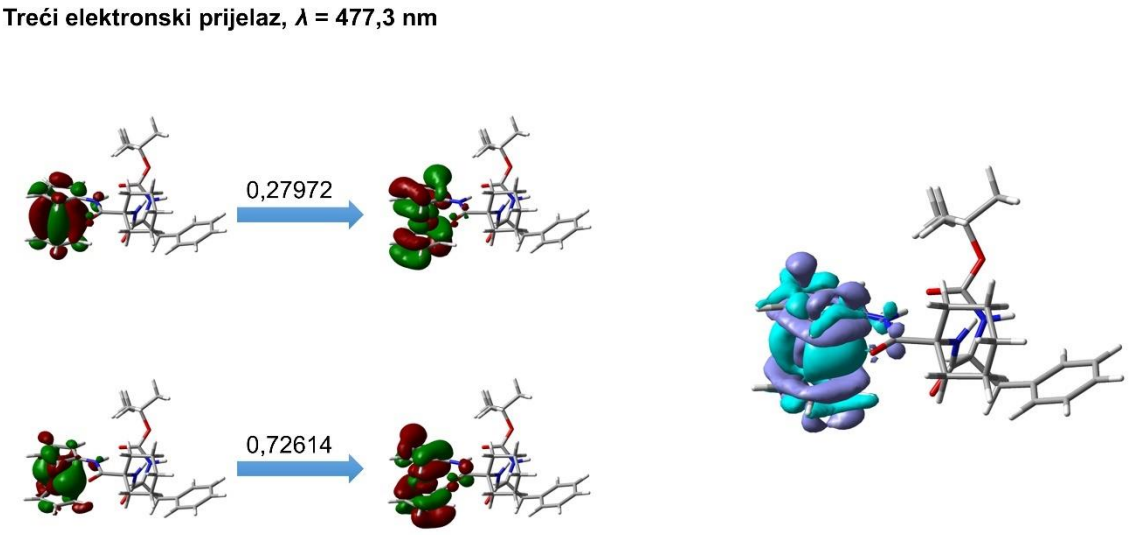
Slika P54. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 352,6 nm) konformera **16-1** u simuliranom CD spektru.



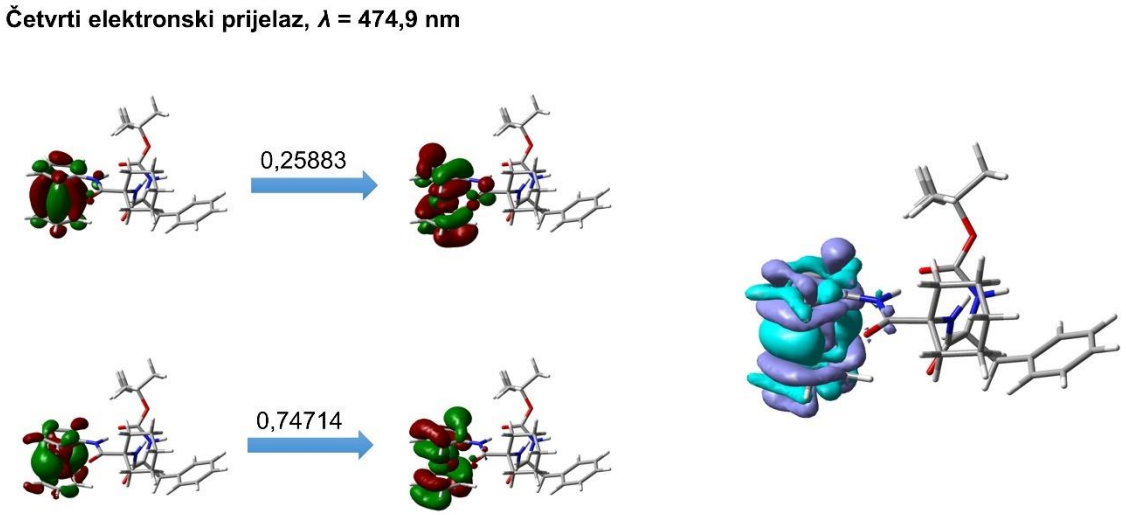
Slika P55. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za prvi elektronski prijelaz (λ = 579,2 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.



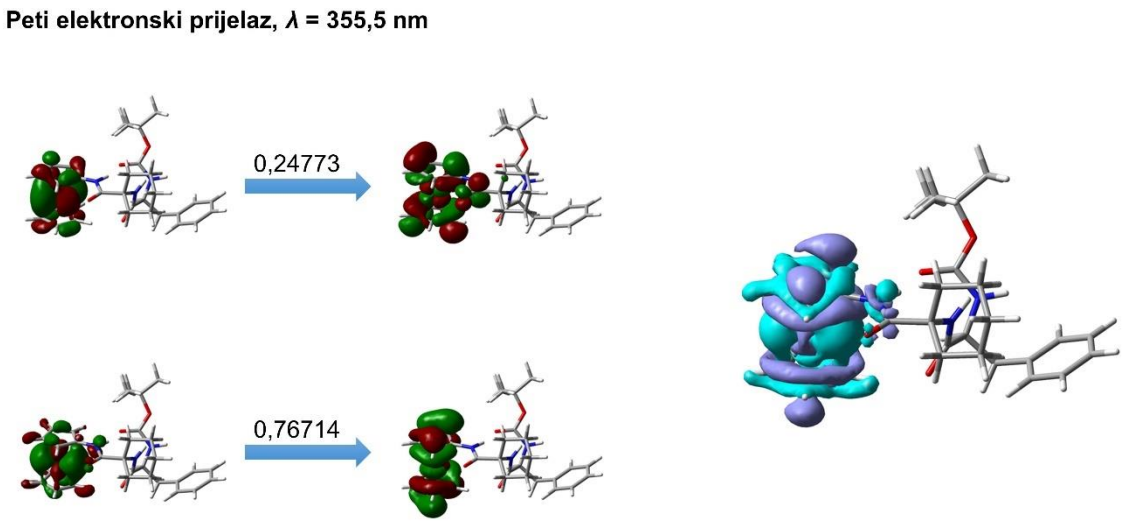
Slika P56. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za drugi elektronski prijelaz (λ = 578,2 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.



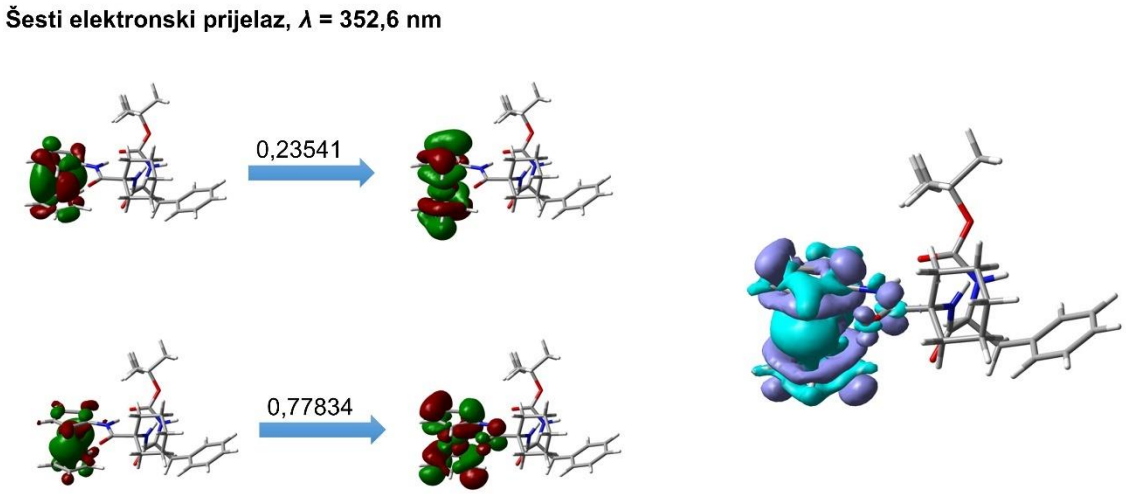
Slika P57. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za treći elektronski prijelaz (λ = 477,3 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.



Slika P58. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za četvrti elektronski prijelaz (λ = 474,9 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.



Slika P59. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za peti elektronski prijelaz (λ = 355,5 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.



Slika P60. Prirodne prijelazne orbitale i razlike elektronskih gustoća pobuđenog i osnovnog stanja za šesti elektronski prijelaz (λ = 352,6 nm) konformera **17-1** u simuliranom CD spektru.

Tablica P1. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **1**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL_I	*V*	*G*
1–1	N(21)−H(22)···O(48)	2,92	1,02	1,92	166,4	0,02641	0,09498	0,08061	–0,00191	0,00183	–0,01992	0,02183
	N(23)−H(28)···O(48)	3,02	1,01	2,28	128,9	0,01330	0,04871	0,22583	–0,00168	0,10306	–0,00882	0,01050
1–2	N(21)−H(22)···O(53)	2,99	1,02	2,01	160,6	0,02054	0,07735	0,06093	–0,00247	0,00354	–0,01440	0,01687
	N(23)−H(28)···O(48)	2,87	1,02	1,89	160,3	0,02709	0,10678	0,04816	–0,00249	0,00448	–0,02171	0,02420
	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,02	2,29	105,6	0,01726	0,07838	5,46843	–0,00337	0,49063	–0,01286	0,01623
1–3	N(21)−H(22)···O(48)	2,88	1,02	1,88	166,8	0,02926	0,10588	0,08102	–0,00164	0,00168	–0,02319	0,02483
	N(23)−H(28)···O(48)	3,05	1,01	2,35	125,9	0,01190	0,04279	0,28154	–0,00145	0,13662	–0,00780	0,00925
1–4	N(21)−H(22)···O(53)	3,02	1,01	2,05	159,7	0,01911	0,07186	0,06609	–0,00244	0,00357	–0,01310	0,01553
	N(23)−H(28)···O(48)	2,87	1,02	1,89	158,7	0,02682	0,10575	0,04595	–0,00251	0,00419	–0,02141	0,02393
	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,01	2,28	105,8	0,01744	0,07781	2,80415	–0,00329	0,58227	–0,01288	0,01617
1–5	N(21)−H(22)···O(37)	2,90	1,02	1,98	149,4	0,02493	0,08732	0,03790	–0,00185	0,01368	–0,01814	0,01998
	N(23)−H(28)···O(48)	2,85	1,02	1,93	148,5	0,02576	0,09898	0,04597	–0,00241	0,01588	–0,01992	0,02234
1–6	N(21)−H(22)···O(37)	2,90	1,02	1,98	149,4	0,02486	0,08730	0,03815	–0,00187	0,01385	–0,01810	0,01996
	N(23)−H(28)···O(48)	2,84	1,02	1,94	146,6	0,02542	0,09761	0,05146	–0,00243	0,01685	–0,01954	0,02197

Tablica P2. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **2**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	∇²*ρ*	*ε*	*K*	BPL – GBL_I	*V*	*G*
2–1	N(21)−H(22)···O(53)	3,00	1,01	2,04	157,8	0,01982	0,07397	0,06066	–0,00240	0,00318	–0,01370	0,01609
	N(23)−H(28)···O(48)	3,15	1,01	2,25	146,7	0,01281	0,04618	0,05288	–0,00177	0,02327	–0,00802	0,00978
	N(21)−H(22)···N(23)	2,73	1,01	2,27	106,3	0,01804	0,07825	1,60354	–0,00318	0,50689	–0,01319	0,01638
2–2	N(21)−H(22)···O(53)	3,01	1,02	2,04	159,1	0,01949	0,07266	0,05824	–0,00239	0,00317	–0,01338	0,01577
	N(23)−H(28)···O(48)	3,05	1,02	2,11	153,7	0,01665	0,06348	0,04580	–0,00238	0,01358	–0,01111	0,01349
	N(21)−H(22)···N(23)	2,72	1,02	2,26	106,2	0,01820	0,07907	1,38163	–0,00321	0,47726	–0,01334	0,01655
2–3	N(21)−H(22)···O(53)	3,02	1,02	2,05	160,1	0,01910	0,07081	0,05452	–0,00235	0,00298	–0,01300	0,01535
	N(23)−H(28)···O(48)	3,07	1,02	2,10	157,8	0,01704	0,06395	0,05110	–0,00234	0,01039	–0,01132	0,01365
	N(21)−H(22)···N(23)	2,72	1,02	2,27	105,5	0,01796	0,07948	1,85085	–0,00330	0,64059	–0,01328	0,01657
2–4	N(21)−H(22)···O(53)	2,94	1,02	1,97	159,4	0,02279	0,08720	0,06335	–0,00255	0,00240	–0,01670	0,01925
	N(23)−H(28)···O(48)	3,17	1,01	2,31	142,3	0,01148	0,04059	0,05269	–0,00152	0,03223	–0,00710	0,00863
	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,02	2,28	106,2	0,01758	0,07789	2,67168	–0,00325	0,60021	–0,01297	0,01622
2–5	N(21)−H(22)···O(53)	3,06	1,01	2,08	159,9	0,01776	0,06516	0,05568	–0,00224	0,00291	–0,01180	0,01405
	N(23)−H(28)···O(48)	3,15	1,02	2,20	154,8	0,01400	0,05041	0,05729	–0,00192	0,01318	–0,00877	0,01069
	N(21)−H(22)···N(23)	2,72	1,01	2,27	105,8	0,01806	0,07883	1,55424	–0,00323	0,54090	–0,01325	0,01648
2–6	N(21)−H(22)···O(53)	2,95	1,02	1,98	159,7	0,02225	0,08493	0,06116	–0,00255	0,00244	–0,01614	0,01869
	N(23)−H(28)···O(48)	3,09	1,01	2,22	142,8	0,01375	0,05068	0,05486	–0,00191	0,02923	–0,00885	0,01076
	N(21)−H(22)···N(23)	2,75	1,02	2,29	106,2	0,01740	0,07775	3,34095	–0,00328	0,56747	–0,01287	0,01616
2–7	N(21)−H(22)···O(53)	2,97	1,02	1,99	162,2	0,02180	0,08245	0,05793	–0,00249	0,00196	–0,01562	0,01812
	N(23)−H(28)···O(48)	3,15	1,02	2,23	150,4	0,01323	0,04702	0,04506	–0,00177	0,01817	–0,00821	0,00998
	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,02	2,28	105,7	0,01756	0,07805	2,51207	–0,00327	0,58859	–0,01297	0,01624

Tablica P3. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **3**.

konformer	interakcija	d(X−H···Y) / Å	d(X−H) / Å	d(H···Y) / Å	α(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL − GBL I	V	G
3–1	N(21)−H(22)···O(48)	2,92	1,02	2,03	145,1	0,01930	0,08035	0,09207	–0,00305	0,01573	–0,01400	0,01704
	N(23)−H(28)···O(53)	2,86	1,02	1,95	147,1	0,02613	0,09371	0,03037	–0,00193	0,01541	–0,01956	0,02149
3–2	N(21)−H(22)···O(48)	2,95	1,01	2,07	142,8	0,01762	0,07207	0,10514	–0,00282	0,01823	–0,01238	0,01520
	N(23)−H(28)···O(53)	2,85	1,02	1,94	147,1	0,02642	0,09490	0,03076	–0,00192	0,01565	–0,01988	0,02180
3–3	N(21)−H(22)···O(53)	2,98	1,01	2,01	157,5	0,02075	0,07804	0,05856	–0,00245	0,00360	–0,01460	0,01706
	N(23)−H(28)···O(48)	3,08	1,01	2,19	145,0	0,01448	0,05352	0,06183	–0,00201	0,02366	–0,00935	0,01137
	N(21)−H(22)···N(23)	2,75	1,01	2,30	105,7	0,01729	0,07807	5,67277	–0,00333	0,48480	–0,01286	0,01619
3–4	N(21)−H(22)···O(53)	2,93	1,02	1,96	159,5	0,02332	0,08940	0,06010	–0,00254	0,00247	–0,01727	0,01981
	N(23)−H(28)···O(48)	3,09	1,01	2,24	140,6	0,01324	0,04806	0,07077	–0,00179	0,03273	–0,00843	0,01022
3–5	N(21)−H(22)···O(53)	2,94	1,02	1,97	159,6	0,02258	0,08649	0,05917	–0,00256	0,00269	–0,01650	0,01906
	N(23)−H(28)···O(48)	3,03	1,01	2,17	141,6	0,01522	0,05733	0,06930	–0,00214	0,02946	–0,01005	0,01219

Tablica P4. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **4**.

konformer	interakcija	d(X−H···Y) / Å	d(X−H) / Å	d(H···Y) / Å	α(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL − GBL I	V	G
4–1	N(21)−H(22)···O(48)	2,93	1,02	1,92	169,0	0,01188	0,04327	0,30834	–0,00150	0,15693	–0,00782	0,00932
	N(23)−H(28)···O(48)	3,04	1,01	2,35	124,5	0,02644	0,09511	0,07938	–0,00192	0,00170	–0,01993	0,02185
4–2	N(21)−H(22)···O(48)	2,88	1,02	1,88	168,7	0,02909	0,10531	0,07965	–0,00168	0,00163	–0,02298	0,02465
	N(23)−H(28)···O(48)	3,07	1,01	2,43	121,0	0,01053	0,03785	0,41215	–0,00129	0,23867	–0,00689	0,00818
4–3	N(21)−H(22)···O(37)	2,92	1,02	2,01	147,7	0,02292	0,08057	0,03841	–0,00197	0,01652	–0,01620	0,01817
	N(23)−H(28)···O(48)	2,91	1,02	1,92	164,2	0,02502	0,09722	0,05040	–0,00256	0,00262	–0,01919	0,02175
4–3	N(21)−H(22)···O(37)	2,83	1,02	1,88	153,3	0,03067	0,10609	0,03778	–0,00115	0,00986	–0,02422	0,02537
	N(23)−H(28)···O(48)	2,83	1,02	1,94	144,0	0,02552	0,09883	0,06017	–0,00250	0,01968	–0,01971	0,02221
4–4	N(21)−H(22)···O(37)	2,84	1,02	1,89	153,4	0,03021	0,10473	0,03788	–0,00124	0,00982	–0,02370	0,02494
	N(23)−H(28)···O(48)	2,83	1,02	1,96	142,6	0,02466	0,09545	0,06546	–0,00255	0,02164	–0,01877	0,02132

Tablica P5. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **5**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL I	*V*	*G*
5–1	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,01	2,24	108,5	0,01918	0,0773	0,7287	–0,00293	0,23699	0,01639	–0,00293
5–2	N(21)−H(22)···N(23)	2,74	1,01	2,27	107,2	0,01849	0,07701	1,20022	–0,00305	0,32968	–0,01992	0,02183
5–3	N(21)−H(22)···O(34)	2,82	1,02	1,86	156,0	0,03184	0,11059	0,03046	–0,00103	0,00748	0,02662	–0,00103
5–4	N(21)−H(22)···O(34)	2,83	1,02	1,89	150,7	0,02990	0,10504	0,03543	–0,00139	0,01129	0,02487	–0,00139

Tablica P6. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **6**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL I	*V*	*G*
6–1	N(21)−H(22)···O(42)	2,98	1,02	2,00	161,6	0,02099	0,08033	0,05096	–0,00259	0,00396	0,01749	–0,00259
	N(35)−H(37)···N(41)	2,76	1,01	2,30	106,3	0,01759	0,07538	2,00386	–0,00309	0,43397	0,01575	–0,00309
6–2	N(21)−H(22)···O(36)	2,81	1,02	1,88	150,1	0,03134	0,10903	0,04391	–0,00113	0,01195	0,02613	–0,00113
	N(35)−H(37)···O(42)	2,94	1,02	2,02	148,3	0,02232	0,07889	0,03264	–0,00201	0,01558	0,01772	–0,00201
6–3	N(21)−H(22)···O(42)	2,94	1,02	1,96	162,0	0,02323	0,09009	0,04982	–0,00264	0,00412	0,01988	–0,00264
	N(35)−H(37)···N(41)	2,76	1,01	2,31	105,5	0,01716	0,07637	5,44254	–0,00326	0,57535	0,01583	–0,00326

Tablica P7. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **7**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL I	*V*	*G*
7–1	N(21)−H(22)···O(41)	2,94	1,02	1,95	162,3	0,02354	0,09131	0,04945	–0,00262	0,00407	0,02020	–0,00262
	N(23)−H(28)···N(40)	2,75	1,01	2,30	105,5	0,01769	0,07690	2,54712	–0,00317	0,61418	0,01605	–0,00317
7–2	N(21)−H(22)···O(46)	2,93	1,02	1,95	163,0	0,02380	0,09218	0,05095	–0,00261	0,00363	–0,01783	0,02044
	N(30)−H(31)···N(43)	2,74	1,01	2,29	105,7	0,01786	0,07759	2,37766	–0,00319	0,54993	–0,01302	0,01621

Tablica P8. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **8**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL I	*V*	*G*
8–1	N(21)−H(22)···O(41)	2,99	1,02	2,00	162,4	0,02089	0,08034	0,05778	–0,00262	0,00457	0,01746	–0,00262
	N(23)−H(28)···O(54)	3,05	1,01	2,05	167,8	0,01853	0,07115	0,05616	–0,00257	0,00438	0,01521	–0,00257
8–2	N(21)−H(22)···O(41)	2,97	1,01	2,00	157,1	0,02095	0,08027	0,05640	–0,00258	0,00500	0,01749	–0,00258
	N(23)−H(28)···O(54)	3,44	1,01	2,69	131,9	0,00552	0,02006	0,10912	–0,00081	0,09987	0,00420	–0,00081
	N(21)−H(22)···N(23)	2,75	1,01	2,29	105,8	0,01746	0,07818	4,02005	–0,00331	0,51188	–0,01292	0,01623
8–3	N(21)−H(22)···O(41)	2,97	1,02	1,99	162,1	0,02149	0,08323	0,05875	–0,00266	0,00445	0,01814	–0,00266
	N(23)−H(28)···O(54)	3,01	1,02	2,01	167,9	0,02049	0,07996	0,05640	–0,00272	0,00438	0,01727	–0,00272
8–4	N(21)−H(22)···O(41)	2,98	1,01	2,01	159,4	0,02069	0,07897	0,05439	–0,00256	0,00306	0,01718	–0,00256
	N(21)−H(22)···N(23)	2,75	1,01	2,29	106,3	0,01753	0,07549	1,82642	–0,00310	0,54893	0,01577	–0,00310
	N(23)−H(28)···O(54)	3,13	1,01	2,16	159,5	0,01480	0,05514	0,04814	–0,00213	0,00742	0,01166	–0,00213

Tablica P9. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **9**.

konformer	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL − GBL I	*V*	*G*
9–1	N(21)−H(22)···O(41)	2,96	1,02	1,98	161,6	0,02192	0,08482	0,05849	–0,00265	0,00471	0,01855	–0,00265
	N(23)−H(28)···O(54)	3,01	1,02	2,01	168,4	0,02048	0,07991	0,05581	–0,00271	0,00443	0,01726	–0,00271
	N(40)−H(42)···N(53)	2,74	1,01	2,30	105,0	0,01769	0,08055	14,80132	–0,00344	0,47962	–0,01326	0,01670
9–2	N(21)−H(22)···O(46)	2,96	1,02	1,99	161,0	0,02166	0,08358	0,05531	–0,00263	0,00361	–0,01563	0,01826
	N(30)−H(31)···O(54)	3,03	1,01	2,04	163,9	0,01915	0,07445	0,05246	–0,00264	0,00515	–0,01334	0,01598
	N(21)−H(22)···N(30)	2,75	1,02	2,30	105,8	0,01726	0,07636	2,87761	–0,00323	0,57809	–0,01264	0,01587
9–3	N(21)−H(22)···O(41)	2,96	1,01	2,02	157,1	0,02102	0,08051	0,05615	–0,00257	0,00485	0,01756	–0,00257
	N(23)−H(28)···O(54)	3,31	1,01	2,54	133,1	0,00735	0,02630	0,06891	–0,00100	0,08192	0,00558	–0,00100
	N(21)−H(22)···N(23)	2,75	1,01	2,29	106,0	0,01758	0,07825	3,22500	–0,00329	0,54230	–0,01298	0,01627

Tablica P10. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **10**.

konformer	interakcija	d(X−H···Y) / Å	d(X−H) / Å	d(H···Y) / Å	α(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL I	V	G
10–1	N(21)−H(22)···O(41)	2,96	1,02	1,98	161,5	0,02196	0,08484	0,06026	–0,00263	0,00417	0,01858	–0,00263
	N(23)−H(28)···O(54)	3,05	1,02	2,05	167,9	0,01851	0,07132	0,06447	–0,00260	0,00493	0,01524	–0,00260
	N(40)−H(42)···O(68)	3,04	1,02	2,05	166,9	0,01880	0,07224	0,05477	–0,00259	0,00460	0,01547	–0,00259
10–2	N(21)−H(22)···O(46)	3,02	1,01	2,05	158,9	0,01864	0,07040	0,05235	–0,00245	0,00385	–0,01270	0,01515
	N(30)−H(31)···O(58)	3,14	1,01	2,21	153,1	0,01359	0,04978	0,05189	–0,00190	0,01018	–0,00864	0,01054
	N(43)−H(44)···O(67)	3,04	1,02	2,06	162,3	0,01835	0,07043	0,05811	–0,00255	0,00621	–0,01251	0,01506

Tablica P11. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **11**.

konformer	interakcija	interakcija	d(X−H···Y) / Å	d(X−H) / Å	d(H···Y) / Å	α(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL I	V	G
11–1	N(16)−H(17)···O(29)	$NH_{Fc}\cdots CO_{Aib2}$	2,95	1,02	1,97	161,5	0,02251	0,08670	0,05957	–0,00260	0,00426	–0,01649	0,01908
	N(21)−H(22)···O(34)	$NH_{Aib4}\cdots CO_{Aib1}$	3,03	1,02	2,03	166,7	0,01941	0,07527	0,06859	–0,00264	0,00418	–0,01353	0,01617
	N(26)−H(27)···O(38)	$NH_{Aib3}\cdots CO_{Ala}$	3,04	1,02	2,05	166,8	0,01866	0,07181	0,06307	–0,00260	0,00537	–0,01276	0,01536
	N(31)−H(32)···O(42)	$NH_{Aib2}\cdots CO_{Boc}$	3,04	1,02	2,04	167,0	0,01898	0,07293	0,05524	–0,00260	0,00467	–0,01304	0,01564
11–2	N(21)−H(22)···O(46)	$NH_{Fc}\cdots CO_{Aib2}$	3,02	1,02	2,05	158,8	0,01894	0,07138	0,05266	–0,00245	0,00380	–0,01295	0,01540
	N(30)−H(31)···O(58)	$NH_{Aib4}\cdots CO_{Aib1}$	3,09	1,01	2,16	153,0	0,01519	0,05648	0,05343	–0,00210	0,00902	–0,00993	0,01202
	N(43)−H(44)···O(71)	$NH_{Aib3}\cdots CO_{Ala}$	3,07	1,02	2,08	162,1	0,01722	0,06592	0,06872	–0,00248	0,00751	–0,01151	0,01400
	N(56)−H(57)···O(81)	$NH_{Aib2}\cdots CO_{Boc}$	3,02	1,02	2,02	167,8	0,01994	0,07681	0,05754	–0,00264	0,00427	–0,01393	0,01656

Tablica P12. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **12**.

konformer	interakcija	interakcija	d(X−H···Y) / Å	d(X−H) / Å	d(H···Y) / Å	α(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL I	V	G
12–1	N(21)−H(22)···O(47)	$NH_{Fc}\cdots CO_{Aib3}$	2,96	1,02	1,98	160,1	0,02205	0,08414	0,06025	–0,00254	0,00290	–0,01596	0,01850
	N(31)−H(32)···O(59)	$NH_{Ala}\cdots CO_{Aib2}$	2,97	1,02	1,98	164,2	0,02177	0,08450	0,06913	–0,00266	0,00381	–0,01581	0,01847
	N(44)−H(45)···O(72)	$NH_{Aib4}\cdots CO_{Aib1}$	3,01	1,02	2,01	166,3	0,02008	0,07820	0,06591	–0,00270	0,00542	–0,01415	0,01685
	N(57)−H(58)···O(86)	$NH_{Aib3}\cdots CO_{Boc}$	2,98	1,02	1,98	168,0	0,02189	0,08545	0,05581	–0,00272	0,00443	–0,01593	0,01865
12–2	N(21)−H(22)···O(47)	$NH_{Fc}\cdots CO_{Aib3}$	3,05	1,02	2,07	161,3	0,01795	0,06723	0,05713	–0,00239	0,00263	–0,01203	0,01442
	N(31)−H(32)···O(59)	$NH_{Ala}\cdots CO_{Aib2}$	2,96	1,02	1,99	157,6	0,02156	0,08306	0,06145	–0,00258	0,00458	–0,01560	0,01818
	N(44)−H(45)···O(72)	$NH_{Aib4}\cdots CO_{Aib1}$	3,04	1,02	2,06	161,0	0,01801	0,06972	0,06919	–0,00257	0,00745	–0,01229	0,01486
	N(57)−H(58)···O(86)	$NH_{Aib3}\cdots CO_{Boc}$	2,97	1,02	1,97	168,4	0,02232	0,08709	0,05587	–0,00271	0,00443	–0,01635	0,01906
	N(21)−H(22)···N(31)	$NH_{Fc}\cdots NH_{Ala}$	2,74	1,02	2,28	106,5	0,01757	0,07654	1,91896	–0,00318	0,53389	–0,01277	0,01595

Tablica P13. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **13**.

konformer	interakcija	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL I	V	G
13–1	N(42)−H(70)···O(29)	$CO_{Fc}\cdots NH_{Aib2}$	3,00	1,02	2,00	167,3	0,02071	0,07978	0,05932	–0,00265	0,00575	–0,01465	0,01730
	N(36)−H(63)···O(23)	$CO_{Ala}\cdots NH_{Aib3}$	3,04	1,02	2,04	167,5	0,01887	0,07272	0,06355	–0,00261	0,00478	–0,01296	0,01557
	N(30)−H(56)···O(17)	$CO_{Aib1}\cdots NH_{Aib4}$	3,05	1,02	2,06	165,9	0,01823	0,07030	0,06526	–0,00257	0,00481	–0,01245	0,01501
	N(25)−H(52)···O(12)	$CO_{Aib2}\cdots NH_{Me}$	2,97	1,01	1,98	165,6	0,02193	0,08524	0,06962	–0,00270	0,00296	–0,01592	0,01861
13–2	N(42)−H(70)···O(29)	$CO_{Fc}\cdots NH_{Aib2}$	3,02	1,02	2,02	168,0	0,02014	0,07736	0,05602	–0,00264	0,00631	–0,01406	0,01670
	N(36)−H(63)···O(23)	$CO_{Ala}\cdots NH_{Aib3}$	3,05	1,02	2,05	167,3	0,01857	0,07149	0,06288	–0,00259	0,00502	–0,01269	0,01528
	N(30)−H(56)···O(17)	$CO_{Aib1}\cdots NH_{Aib4}$	3,05	1,02	2,05	166,3	0,01856	0,07174	0,06589	–0,00259	0,00453	–0,01275	0,01535
	N(25)−H(52)···O(12)	$CO_{Aib2}\cdots NH_{Me}$	2,97	1,01	1,98	165,8	0,02184	0,08492	0,06944	–0,00270	0,00315	–0,01582	0,01853
13–3	N(33)−H(34)···O(22)	$CO_{Fc}\cdots NH_{Aib1}$	2,88	1,02	1,96	149,0	0,02570	0,09087	0,03224	–0,00188	0,01448	–0,01896	0,02084
	N(23)−H(24)···O(84)	$NH_{Ala}\cdots OC_{Aib4}$	2,96	1,02	1,95	169,8	0,02373	0,08831	0,05988	–0,00236	0,00486	–0,01736	0,01972
	N(28)−H(60)···O(59)	$CO_{Ala}\cdots NH_{Aib3}$	3,15	1,01	2,37	133,5	0,01035	0,03739	0,10556	–0,00139	0,06019	–0,00656	0,00796
	N(45)−H(73)···O(72)	$CO_{Aib1}\cdots NH_{Aib4}$	3,27	1,01	2,28	162,8	0,01127	0,04031	0,07655	–0,00165	0,00562	–0,00678	0,00843
13–4	N(33)−H(34)···O(22)	$CO_{Fc}\cdots NH_{Aib1}$	2,90	1,02	1,98	149,2	0,02432	0,08622	0,03725	–0,00197	0,01474	–0,01761	0,01958
	N(23)−H(24)···O(84)	$NH_{Ala}\cdots OC_{Aib4}$	2,95	1,02	1,94	170,7	0,02440	0,09081	0,06196	–0,00232	0,00487	–0,01807	0,02039
	N(59)−H(60)···O(28)	$CO_{Ala}\cdots NH_{Aib3}$	3,14	1,01	2,33	136,2	0,01098	0,04005	0,09106	–0,00152	0,04999	–0,00698	0,00850
	N(72)−H(73)···O(45)	$CO_{Aib1}\cdots NH_{Aib4}$	3,18	1,01	2,19	162,7	0,01363	0,05005	0,06523	–0,00200	0,00500	–0,00852	0,01052

Tablica P14. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **14**.

konformer	interakcija	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL I	V	G
14–1	O(43)−H(72)···N(29)	$CO_{Fc}\cdots HN_{Aib3}$	2,95	1,02	1,94	168,3	0,02372	0,09236	0,05608	–0,00266	0,00583	–0,01778	0,02043
	O(36)−H(65)···N(23)	$CO_{Aib1}\cdots HN_{Aib4}$	3,02	1,02	2,02	166,7	0,01977	0,07685	0,06535	–0,00268	0,00495	–0,01386	0,01654
	O(30)−H(58)···N(17)	$CO_{Aib2}\cdots HN_{Ala}$	2,97	1,02	1,98	164,4	0,02170	0,08411	0,06724	–0,00266	0,00394	–0,01571	0,01837
	O(25)−H(53)···N(12)	$CO_{Aib3}\cdots HN_{Me}$	2,96	1,01	1,98	164,3	0,02207	0,08501	0,06461	–0,00263	0,00167	–0,01599	0,01862
14–2	O(43)−H(72)···N(29)	$CO_{Fc}\cdots HN_{Aib3}$	2,95	1,02	1,95	167,1	0,02312	0,08992	0,05937	–0,00268	0,00561	–0,01713	0,01980
	O(36)−H(65)···N(23)	$CO_{Aib1}\cdots HN_{Aib4}$	3,03	1,02	2,03	166,3	0,01918	0,07437	0,06422	–0,00265	0,00542	–0,01330	0,01595
	O(30)−H(58)···N(17)	$CO_{Aib2}\cdots HN_{Ala}$	2,98	1,02	1,99	164,1	0,02153	0,08332	0,06679	–0,00265	0,00407	–0,01554	0,01818
	O(25)−H(53)···N(12)	$CO_{Aib3}\cdots HN_{Me}$	2,96	1,01	1,97	164,1	0,02211	0,08507	0,06320	–0,00263	0,00160	–0,01602	0,01864

Tablica P15. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **15**.

konformer	interakcija	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL – GBL_I	*V*	*G*
15–1	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	2,99	1,02	2,01	161,0	0,02064	0,07871	0,05298	–0,00256	0,00363	–0,01456	0,01712
	N(21)−H(22)···N(41)	$NH_{Fc}\cdots NH_{Cy}$	2,75	1,02	2,30	105,3	0,01727	0,07836	6,66421	–0,00336	0,46571	–0,01287	0,01623
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{cy}\cdots NH_{Ala}$	2,76	1,01	2,29	106,6	0,01769	0,07603	2,13451	–0,00312	0,42820	–0,01278	0,01589
15–2	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	2,94	1,02	1,96	162,1	0,02310	0,08952	0,04820	–0,00264	0,00423	–0,01711	0,01974
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{cy}\cdots NH_{Ala}$	2,75	1,01	2,28	107,0	0,01799	0,07606	1,40529	–0,00308	0,35004	–0,01286	0,01594
15–3	N(41)−H(42)···N(50)	$NH_{Cy}\cdots OC_{Boc}$	3,02	1,01	2,21	136,3	0,01566	0,05366	0,06983	–0,00160	0,04553	–0,01022	0,01182
15–4	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	2,98	1,02	2,01	158,8	0,02071	0,07920	0,05017	–0,00257	0,00503	–0,01465	0,01723
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{cy}\cdots NH_{Ala}$	2,76	1,01	2,30	106,0	0,01747	0,07551	2,40944	–0,00313	0,49293	–0,01262	0,01575
15–5	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Ala}$	2,84	1,02	1,88	155,3	0,03056	0,10606	0,04211	–0,00122	0,00875	–0,02408	0,02530
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{cy}\cdots NH_{Ala}$	2,76	1,01	2,26	108,8	0,01846	0,07612	1,20391	–0,00297	0,26355	–0,01308	0,01606
15–6	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Ala}$	2,82	1,02	1,88	150,8	0,03083	0,10715	0,04264	–0,00119	0,01154	–0,02441	0,02560
	N(41)−H(42)···O(50)	$NH_{Cy}\cdots OC_{Boc}$	2,94	1,02	2,02	148,9	0,02245	0,07942	0,03220	–0,00201	0,01465	–0,01583	0,01784

Tablica P16. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **16**.

konformer	interakcija	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	*ρ*	$\nabla^2\rho$	*ε*	*K*	BPL – GBL_I	*V*	*G*
16–1	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	2,98	1,02	2,00	161,5	0,02123	0,08094	0,04881	–0,00256	0,00415	–0,01511	0,01767
	N(41)−H(42)···O(47)	$NH_{Cy}\cdots NH_{Val}$	2,75	1,01	2,27	107,4	0,01843	0,07660	1,10162	–0,00301	0,30421	–0,01314	0,01614
16–2	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	2,99	1,01	2,01	160,0	0,02078	0,07879	0,05687	–0,00252	0,00318	–0,01467	0,01718
16–3	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Cy}\cdots OC_{Val}$	2,80	1,02	1,84	156,5	0,03412	0,11501	0,03990	–0,00036	0,00710	–0,02803	0,02839
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{Cy}\cdots NH_{Val}$	2,74	1,01	2,22	110,2	0,02010	0,08022	0,70369	–0,00289	0,19368	–0,01428	0,01717

Tablica P17. Geometrijski i topološki parametri (analiza QTAIM) X−H···Y vodikovih veza konformera spoja **17**.

konformer	interakcija	interakcija	*d*(X−H···Y) / Å	*d*(X−H) / Å	*d*(H···Y) / Å	*α*(X−H···Y) / °	ρ	$\nabla^2\rho$	ε	K	BPL – GBL_I	V	G
17–1	N(21)−H(22)···O(50)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Boc}$	3,00	1,02	2,02	161,0	0,02038	0,07690	0,05006	–0,00250	0,00418	–0,01424	0,01673
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{Cy}\cdots NH_{Phe}$	2,76	1,01	2,29	106,6	0,01782	0,07620	1,91933	–0,00311	0,44824	–0,01284	0,01594
17–2	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Phe}$	2,81	1,02	1,86	154,1	0,03266	0,11162	0,04355	–0,00076	0,00834	–0,02639	0,02715
	N(41)−H(42)···N(47)	$NH_{Cy}\cdots NH_{Phe}$	2,76	1,01	2,28	107,9	0,01821	0,08010	3,89514	–0,00330	0,48761	–0,01343	0,01673
17–3	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Phe}$	2,84	1,02	1,90	151,3	0,02927	0,10287	0,04065	–0,00147	0,01249	–0,02278	0,02425
	N(41)−H(42)···O(50)	$NH_{Cy}\cdots OC_{Boc}$	2,95	1,02	2,00	152,8	0,02309	0,08206	0,03125	–0,00205	0,01165	–0,01641	0,01846
17–4	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Phe}$	2,84	1,02	1,91	151,3	0,02913	0,10186	0,04327	–0,00145	0,01217	–0,02256	0,02401
	N(41)−H(42)···O(50)	$NH_{Cy}\cdots OC_{Boc}$	2,85	1,02	1,89	154,0	0,02981	0,10432	0,03534	–0,00133	0,00928	–0,02343	0,02475
17–5	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Phe}$	2,85	1,02	1,93	148,3	0,02730	0,09692	0,05027	–0,00175	0,01434	–0,02074	0,02248
17–6	N(21)−H(22)···O(44)	$NH_{Fc}\cdots OC_{Phe}$	2,82	1,02	1,89	149,7	0,03041	0,10566	0,04932	–0,00123	0,01159	–0,02395	0,02518

9. ŽIVOTOPIS

Petar Šutalo rođen je 1991. u Zagrebu. Obranom završnog rada „Michaelis-Menten konstanta ureaze iz soje“ 2010. završio je smjer kemijskog tehničara u Prirodoslovnoj školi Vladimira Preloga s odličnim uspjehom. U srednjoj školi sudjelovao je na Državnim natjecanjima iz kemije. Završnim radom „Strukturne i funkcionalne posebnosti Z-DNA“ pod mentorstvom akademkinje Ivane Weygand-Đurašević 2013. godine završio je Preddiplomski studij kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu stekavši zvanje sveučilišnog prvostupnika kemije. Također pod mentorstvom akademkinje Ivane Weygand-Đurašević, tijekom diplomskog studija, sudjelovao je u istraživanjima Zavoda za biokemiju te radom pod naslovom „Dvojni karakter domene arginil-tRNA-sintetaze u vezanju tRNA i prijenosu informacija prema udaljenom katalitičkom mjestu“, izrađenim u suautorstvu s kolegicom Nikolinom Šoštarić, nagrađen je Rektorovom nagradom Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2013./2014. Dodijeljena mu je Nagrada kemijskog odsjeka za znanstveni rad studenta (2014.). Unutar projekta „Električko nabijanje međupovršina na granici čvrsta faza/vodena otopina elektrolita“ pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Tajane Preočanin izradio je diplomski rad „Električna karakterizacija monokristalnih elektroda“, a njegovom obranom (2015.) završio je Istraživački diplomski studij kemije, smjer Fizikalna kemija i Biokemija (Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Sveučilište u Zagrebu), te stekao zvanje magistra kemije. Odlikovan je medaljom Kemijskog odsjeka za izvrstan uspjeh na studiju. Tijekom diplomskog studija bio je stipendist Zaklade Adris. U akademskoj godini 2015./2016. bio je demonstrator na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u sklopu kolegija Praktikumu organske kemije 2, dok je u zagrebačkoj V. gimnaziji držao pripreme za natjecanje (tj. dodatnu nastavu iz kemije) učenicima trećih razreda. Godinu dana (akademska godina 2016./2017.) radio je na Šumarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu kao zaposlenik Ekološko-pedološkog laboratorija, gdje se bavio istraživanjima metala u tragovima u vodama, tlima i biljkama. Dvije godine (2017 – 2019.) radio je kao asistent u Laboratoriju za opću i anorgansku kemiju i elektroanalizu Prehrambeno-biotehnološkog fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na PBF-u sudjelovao je u izvođenju nastave iz seminara i vježbi Opće kemije kao i vježbi iz Instrumentalne analize te istraživanjima u području elektrokemije i bioelektrokemije. Od sredine siječnja 2020. zaposlen je kao asistent na Zavodu za organsku kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, gdje

se bavi istraživanjima u području računalne kemije te drži nastavu iz seminara Fizikalno-organske kemije, iz vježbi Molekularnog modeliranja i različitih praktikuma organske kemije. Iz sveukupnog dosadašnjeg znanstvenog rada koautor je na osam znanstvenih radova (* su označeni znanstveni radovi vezani za disertaciju):

1. *M. Nuskol, P. Šutalo, M. Kovačević, I. Kodrin, M. Čakić Semenčić, *Inorganics,* **11** (2023) 225.
2. D. Ugarković, I. Tikvić, I. Grgurić, I. Perković, N. Hulak, V. Roje, P. Šutalo, K. Popić, *Sumar. list* **146** (2022) 283−291.
3. P. Šutalo, M. Pisačić, I. Biljan, I. Kodrin, *CrystEngComm* **24** (2022) 4748−4763.
4. *M. Nuskol, P. Šutalo, I. Kodrin, M.Č. Semenčić, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2022** (2022) e2021008800.
5. *M. Nuskol, P. Šutalo, M. Đaković, M. Kovačević, I. Kodrin, M. Čakić Semenčić, *Organometallics* **40** (2021) 1351−1362.
6. V. Roje, J. Dukić, P. Šutalo, *Environ. Sci. Pollut. Res* **26** (2019) 2635−2648.
7. V. Roje, P. Šutalo, *J. Geochem. Explor.* **201** (2019) 79−87.
8. T. Preočanin, D. Namjesnik, T. Klačić, P. Šutalo, *Croat. Chem. Acta* **90** (2017) 333−344.