

자외선 공명 라만분광법을 이용한 시스-펩티드, 디케토피페라진 연구

송 선 호

한남대학교 이과대학 화학과

(1993. 1. 18 접수)

UV Resonance Raman Studies of Cis-Peptide, Diketopiperazine

Sunho Song

Department of Chemistry, Han Nam University, Taejon 300-791, Korea

(Received Jan. 18, 1993)

요약 : 시스-펩티드 모델 화합물인 디케토피페라진을 수용액과 D₂O에서 320~218nm 사이의 여기 파장을 이용하여 라만 스펙트럼을 측정하였다. 본 연구는 공명 증폭되는 아마이드 밴드를 명명하고, 그 증폭 메커니즘을 규명하는 데 목적이 있다. 3개의 공명 증폭된 시스-펩티드 표본밴드가 수용액 상태에서 1676, 1533, 806cm⁻¹에서 관찰되었고, 이것을 각각 아마이드 I, II, S 밴드로 명명하였다. 1533cm⁻¹ 아마이드 II 밴드는 수용액 상태의 공명 라만 스펙트럼에서 가장 큰 밴드였으며, 순수한 C-N 신축운동이며, N-H를 N-D로 치환한 결과 1520cm⁻¹로 이동되었다. 이 밴드는 아마도 단백질내에 존재하는 시스형 펩티드를 관찰할 수 있는 표본 밴드가 될 것으로 예상된다. 여기 주파수를 바꾸어 가며 얻은 라만 밴드 크기 변화와, Albrecht A-항 모델로부터 시스 펩티드 라만 밴드가 188nm 근방의 펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자 전이에 의하여 공명 증폭됨을 증명하였다. 이러한 자료를 바탕으로 시스 펩티드 π^* 들뜬 상태의 기하구조는 전자 바닥 상태와 비교하여 C-N 결합이 늘어난 형태일 것으로 제안하였다.

Abstract : We have examined Raman spectra of cis-peptide model complex, diketopiperazine in water and D₂O with 320 nm through 218 nm excitation. Our study examines assignment of the resonance enhanced amide vibrations and characterizes their enhancement mechanism. Three resonance enhanced cis-peptide marker bands were observed in aqueous solution at 1676, 1533 and 806 cm⁻¹, which were assigned to the cis-amide I, II and S band, respectively. The 1533 cm⁻¹ amide II band, which is almost pure C-N stretching, was most dominant in water and shifted to 1520 cm⁻¹ upon N-deuteration. This band will be probably a potential probe band for cis-peptide moieties in proteins. The excitation profile data and an Albrecht A-term fit indicate that the cis-peptide vibrations derive their intensities from the 188 nm cis-peptide $\pi-\pi^*$ electronic transition. We propose that the geometry of cis-peptide π^* excited state is C-N bond displacement relative to that of electronic ground state.

Key Words : UV Resonance Raman Spectroscopy, Cis-Peptides

1. 서론

단백질 골격의 기본 형태는 아미노산 사이의 연결고리인 펩티드 결합이 트란스-형의 평면구조로 이루어져 있다.¹ 그러나 섬유 단백질, carboxypeptidase 등의 몇 개의 잔기들과, 몇 개의 아미노산으로 이루어진 호르몬 등에서 시스-형의 구조를 갖고 있음이 X-선 결정구조 연구²와 핵자기공명 연구³ 등에 의하여 밝혀지고 있다. 이러한 현상들은 시스-형의 펩티드기가 이웃에 존재할 때 아미노산 결합자들 사이의 입체 장애 때문에 그 존재가 매우 어려운 것으로 받아들여지고 있다.¹ 독립된 아미드조차도 시스-형 펩티드 존재는 거의 발견되지 않고 있으나, 상온에서 2.5% 정도의 N-methylacetamide(NMA)⁴와 고리형의 디펩티드나, 고리 수가 적은 락탐 화합물에서 시스-아미드가 관찰되었고,¹ 광화학 반응에 의한 트란스-시스 광학 이성질 전환에 의하여 순간적으로 시스-형이 존재하고 있음이 최근 보고되었다.^{5,6} 이러한 현상은 가장 작은 크기의 독립된 아미드 화합물인 NMA에서도 트란스-형이 시스-형보다 약 2.3kJ/mol 정도 더 안정한 열역학적인 면과⁴ 결합자를 갖는 아미노산에서의 입체장애 효과와 더불어 내부적인 구조 효과에 의하여 트란스-형만이 자연에서 발견되고 있는 것으로 설명할 수 있다. Diketopiperazine(DKP)은 그리신 이합체에서 물을 제거하여 생긴 간단한 고리형의 펩티드 화합물로서 시스-펩티드 구조 연구에 좋은 모델로 받아들여지고 있다. 이 화합물은 그 구조상의 rigidity 때문에 트란스-시스 펩티드 사이의 엔탈피 차이를 극복할 수 있고, 입체 장애 효과에 의하여 두 개의 거의 완전한 시스-펩티드로 존재하기 때문에 분광학에 의한 펩티드 구조 연구와 단백질내에 존재하는 시스-펩티드의 특성 연구의 모델로서 아주 유용하다.

라만 분광법은 간단한 분자의 구조뿐만 아니라 복잡한 생물질의 구조 연구와 단백질 결합자 사이의 상호작용 연구에서도 아주 유용한 도구인 것으로 받아들여지고 있다.⁷ 또한, 공명 라만 분광법은 보결원자단(Prosthetic group)의 연구와 단백질 2차 구조, 3차 구조 연구에 그 선택성과 정밀도가 아주 좋음이 이미 입증되었다.⁷ 본 연구자 등에 의하여 자외선 공명 여기에 의한 아미노산 이합체, 중합체, polypeptide를 모델로 한 트란스-형의 펩티드 구조 연구는 아주 심도 있게⁸

진행되었으며 이러한 일을 바탕으로 단백질 골격구조 연구도 많이 진행되어 있다.^{8,9} 그러나 시스-형 펩티드의 연구는 거의 진행되어 있지 않다.

본 연구에서는 라만 분광법을 이용하여 시스-형 펩티드 구조를 연구하기 위하여 DKP를 모델로 하여 비공명 여기에서부터 펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자 전이 안에서의 자외선 공명 여기를 이용하여 시스-펩티드 진동 방식을 명명하고, 공명 증폭 메커니즘을 규명하며, 앞으로의 시스-펩티드 구조 연구에 기본 자료를 제공하고자 한다.

2. 실험 방법

DKP는 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 정제하지 않고 그대로 사용하였다. D₂O(99.8D%)는 ICN Biochemical Inc.에서 구입하여 사용하였다. 중수소화된 DKP는 D₂O에 펩티드를 녹인 후, 더 이상 전처리하지 않고 그대로 사용하였다.

여기에 이용한 빛은 Spectra-Physics사의 Nd-YAG 레이저의 기본 빛인 1.06 μ m를 doubling시킨 빛으로 섹광 레이저를 여기서킨 후, 이 가시광선을 KDP 또는 ADP로서 Doubling시키거나 1.06 μ m Nd-YAG 기본 빛과 혼합시켜서 얻었다. 이때 사용한 Nd-YAG 레이저의 펄스 너비는 약 4ns 정도이며 20Hz 반복률을 이용하였다. 펄스 레이저에 의한 광반응을 막기 위하여 약 25cm 초점 길이의 볼록렌즈로서 빛을 시료 모세관보다 약 3~5cm 위에 초점을 맞추어 사용하였고, 사용한 평균 빛의 세기는 3~5 mW였다. 라만 스펙트럼은 Peristaltic 펌프로 직경 1mm의 석영 유리관을 통하여 시료를 흘려 주며 얻었다. 산란된 빛이 시료 자체에 의한 흡수를 막기 위하여 135° 반대 방향에서 빛을 조사하였고, 산란된 빛은 ellipsoidal 거울로서 모은 후 1200 grooves/mm의 회절발이 장착된 triple monochromator로서 분산시킨 후, PC에 연결된 OMA 검출기로서 스펙트럼을 얻었다. 대부분의 경우 평균 자료 수집 시간은 약 15분이었다.

자외선 가시광선 흡수 스펙트럼은 진공 자외선 측정장치가 부착된 Perkin-Elmer Lambda 9를 이용하여 얻었으며, 190nm 이하의 영역 측정은 질소 가스를 약 5시간 가해준 후 스펙트럼을 얻었다.

절대적인 라만 밴드 크기 값을 계산하기 위하여 내

부 표준 물질로서 0.2 M perchlorate 이온을 시료에 가하여 측정하였다. Perchlorate 이온의 완전 대칭 신축 운동 (totally symmetric stretch)인 932cm^{-1} 밴드와 펩티드 밴드의 상대적인 크기를 구한 후, Dudik 등에 의하여 보고된 perchlorate 이온의 절대 라만 cross section값¹⁰을 이용하여 라만 cross section을 계산하였다. OMA 검출기의 감도가 각 pixel마다 다른 점은 보정하여 주었다.

3. 결과

Fig. 1은 물에 녹인 DKP의 자외선 흡수 스펙트럼을 도시하였다. 188nm 근방에서 나타난 최고 흡수 밴드는 펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자 전이¹¹이며 물 흡광계수는 약 $7800\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 이었다. 허용되지 않은 펩티드 $n-\pi^*$ 전자 전이는 약 220nm 근방에서 나타나는 것¹¹으로 알려져 있지만 흡수선의 세기가 작아서 이 실험에서는 거의 관찰할 수 없었다. Fig. 2는 물에 녹인 DKP를 320nm부터 225nm까지 여기 파장을 변화시키면서 얻은 라만 스펙트럼이다. 포화된 DKP의 320nm 여기 스펙트럼, 즉 preresonance 라만 스펙트럼에서는 1533, 1442, 1318cm^{-1} 밴드가 크게 나타나며 932cm^{-1} 에 있는 가장 큰 밴드는 내부 표준 물질인 perchlorate 이온 밴드이다. Krimm 등^{12,13}에 의하여 관찰된 DKP의 514.5nm 스펙트럼과 비교하면, 514.5nm 스펙트럼에서는 1676, 1533, 1442, 1318cm^{-1} 에서 밴드가 거의 동일한 세기로 관찰되었으며, 1390cm^{-1} 밴드로 분할되어 명백하게 관찰되었다. 본 연구에서 관찰한 320nm 스펙트럼에서는 1533cm^{-1} 밴드가 상대적으로 크게 나타났으며 1676cm^{-1} 밴드는 물의 라만 밴드에 의하여 중첩되기 때문에 거의 관찰이 불가능하였다. 여기 파장을 245,

235, 225nm로 변화시킨 결과, 1533cm^{-1} 밴드가 가장 급격하게 그 크기가 변화됨을 알 수 있다. 일반적으로 라만 밴드 크기는 여기 파장의 4승에 비례하지만 여기 파장이 공명전이에 접근하면서 공명전이의 기하구조

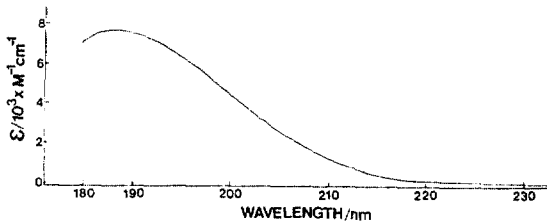


Figure 1. Absorption spectrum of aqueous diketopiperazine.

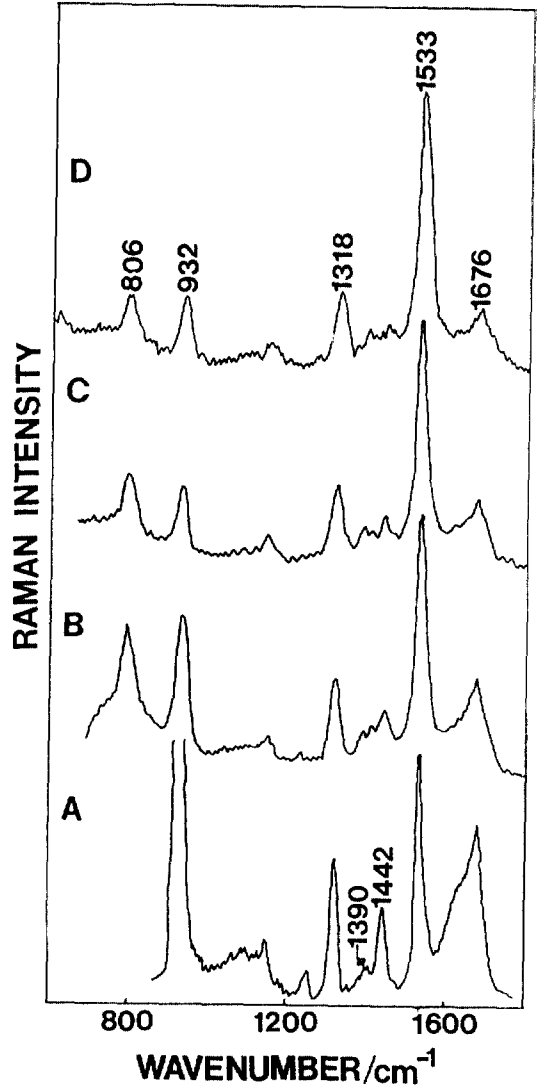


Figure 2. Raman spectra of aqueous diketopiperazine with 0.2M perchlorate:

- (A) Saturated solution, 320nm excitation
- (B) 10mg/ml, 245nm excitation
- (C) 10mg/ml, 235nm excitation and
- (D) 4mg/ml, 225nm, excitation

변화에 기인된 preresonance 증폭현상이 고전적인 ν^+ 비례를 증가하게 된다. Preresonance 영역에서 관찰된 1318, 1442, 1390 cm^{-1} 밴드의 크기는 ν^+ 에 거의 비례하지만 1533, 1676, 806 cm^{-1} 밴드는 훨씬 빠르게 증폭된다.

Fig. 3은 DKP를 공명전이인 펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자전이의 끝 부분인 218nm에서 여기시켜 얻은 스펙트럼이다. 이 스펙트럼은 225nm 스펙트럼과 비교하여 밴드 세기 경향성은 비슷하지만 라만 cross section은 약 2배 정도 증폭되었다. Fig. 3B는 218nm 여기를 이용하여 DKP를 D_2O 에서 얻은 스펙트럼이다. 수용액에서 1533 cm^{-1} 밴드가 1520 cm^{-1} 로 이동되어 역시 가장 크게 나타났고, 806 cm^{-1} 밴드가 790 cm^{-1} 로, 1676 cm^{-1} 밴드가 1657 cm^{-1} 로 이동되었으며, 1436 cm^{-1} 밴드가 명백하게 분리되었고, 물에서 관찰되던 1390 cm^{-1} 의 밴드가 사라졌다.

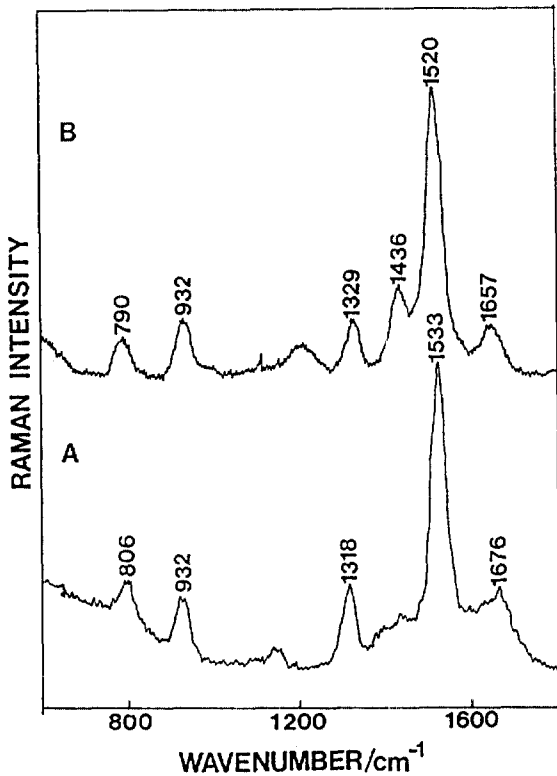


Fig. 3. Raman spectra of 2mg/ml diketopiperazine (A) in water and (B) in D_2O

Table 1. Raman Band Assignment and Frequencies of Diketopiperazine in water and D_2O .

Assignment	218nm*		514.5 nm [†]		Assignment
	H ₂ O	D ₂ O	H ₂ O	D ₂ O	
Amide I	1676	1657	1675	1656	C-O _{str}
Amide II	1533	1520	1523	1510	Ring _{str}
CH ₂ _b	1442	1436	1443	1432	CH ₂ _b
NH _{id}	1390		1385		NH _{ib}
CH ₂ _{wag}	1318	1329	1313	1324	CH ₂ _{wag}
			1249	1249	CH ₂ _t
Amide S	806	790	797	790	Ring _{str}

units : cm^{-1}

*This work

†from reference 11

Abbreviations : str= Stretch, b=bend, ib=in-plane bend, t=twist

Table 2. Absolute Raman Cross Section of Resonance Enhanced Raman Bands of Diketopiperazine ($\times 10^{-30} \text{cm}^2/\text{sr}$).

Wavelength	Amide I	Amide II	1318 cm^{-1}	Amide S
245	250	920	320	290
235	660	3000	960	270
225	1440	8300	2400	1320
218	2800	15300	4300	1900

Table 1은 공명 라만 스펙트럼에서 관찰된 밴드들을 Krimm 등에 의하여 얻어진 비공명 라만 스펙트럼의 결과¹²들과 비교하였다. 관찰된 밴드의 주파수(frequency)는 거의 비슷하지만 그 명명은 상당히 다름을 알 수 있다(고찰 참조). Table 2에서는 perchlorate 이온의 상대적 밴드 크기로부터 구한 라만 cross section을 수록하였다.

4. 고찰

4. 1. 라만 밴드의 명명

DKP는 고체상태에서 평면형인 두 개의 시스 펩티드가 반대 방향에 위치하여 완전한 평면에서 약 1°가

량 벗어나 있다.¹² 이러한 고체 상태 DKP와, 증수소로 치환된 DKP의 IR 흡수 스펙트럼과 비공명 라만 스펙트럼을 바탕으로 한 normal mode 분석¹²에 의한 명명을 Table 1의 오른쪽에 수록하였다. 본 실험에서 관찰된 라만 밴드를 보면 수용액 상태의 1676cm⁻¹에서 관찰된 밴드가 D₂O에서는 1657cm⁻¹로 이동되었다. 이는 비슷한 영역에서 관찰되는 트란스형 펩티드의 아미드 I과 비슷한 성격의 시스-아미드 I로 명명할 수 있다. 아미드 I 밴드는 C-O 신축운동이면서 일부 N-H 신축 또는 구부림 운동이 포함되어 있을 것으로 예상할 수 있다.^{8,12,13} 1533cm⁻¹에서 관찰된 가장 큰 밴드의 경우 그 밴드의 우월성이 트란스-펩티드를 D₂O에서 관찰된 아미드 II' 밴드^{5,8}와 거의 비슷한 증폭 경향성을 보여 주고 있다. 또한, 이 밴드는 N-H를 N-D로 치환한 결과 오직 13cm⁻¹ 밖에 이동되지 않은 것으로 보아 순수한 C-N 신축운동에 기인된 것으로 생각할 수 있다. 이 밴드를 본 연구에서는 시스-아미드 II로 명명하고자 한다. 시스-펩티드 II 밴드의 경우, 트란스-펩티드의 N-H를 증수소로 치환시킬 때 아미드 II 밴드가 거의 100cm⁻¹ 정도 낮은 주파수로 이동된 결과^{5,8}와 크게 상치되는 것으로 순수한 C-N 신축운동으로 명명하여도 큰 무리는 없을 것으로 사료된다. 또 하나의 아미드 표본 밴드가 806cm⁻¹에서 관찰되었다. 이 밴드는 증수소로 N-H를 치환한 결과 790cm⁻¹로 약 16cm⁻¹ 이동되었다. 트란스-펩티드의 경우 아직까지 이 영역에서 아미드 밴드가 관찰된 적이 없고, 또한 공명 증폭되는 밴드가 존재한다는 것은 보고된 적이 없다. 본 연구에서는 200nm 근방에서 공명 증폭되는 시스-펩티드 표본 밴드인 806cm⁻¹ 밴드를 아미드 S로 잠정적으로 명명한다.

여기에서 도입한 명명은 최근 Song 등에 의하여 보고된 시스-NMA와 시스-디그리신의 연구 결과⁵와 같은 맥락에서 이해될 수 있다. 시스-NMA의 경우 아미드 II 밴드가 1497cm⁻¹에서 아미드 표본 밴드가 821cm⁻¹에서 관찰되었고, 이러한 결과는 본 연구에서 시도한 DKP 결과와 동일한 결과이다. 또한, 시스-디그리신의 경우 시스-아미드 II가 1487cm⁻¹에서 관찰되며 펩티드 결합의 탄소와 질소를 ¹³C¹⁵N으로 치환한 결과 약 34cm⁻¹ 이동되었다. 이것은 시스-아미드 II가 거의 순수한 C-N 신축운동일 것이라는 본 연구와 일치한 결과이다.

4. 2. 밴드 명명에 대한 계산값과 실험 결과와의 비교

시스-펩티드에 대한 normal mode 분석은 C=O기와 N-H기가 트란스형과 비교하여 단순히 180° 회전한 가상적인 평면형 구조를 바탕으로 시도되었다.^{12,13} 그 결과 시스-아미드 II 밴드가 순수한 N-H 평면내 구부림 운동이 1550cm⁻¹에서, 아미드 III 밴드인 순수한 C-N 신축운동이 1350cm⁻¹ 영역에서 나타날 것이라는 것이 일반적인 예상이었다.^{14,15} Fig. 2, 3에서 관찰된 바와 같이 1300~1450cm⁻¹ 영역에서 관찰된 밴드는 1318cm⁻¹ 밴드가 CH₂ wag이며, 1442cm⁻¹ 밴드가 CH₂ 구부림 운동이다. 1390cm⁻¹ 영역에서 관찰된 밴드는 순수한 N-H 구부림 운동으로, 이 밴드는 고체 상태에서는 1450cm⁻¹에서 관찰되고¹² D₂O에서 얻은 스펙트럼에서는 사라진 것으로 보아 잘 설명된 것임을 확인할 수 있다. 본 실험에서는 아미드 III 밴드는 관찰되지 않고 오직 순수한 C-N 신축운동인 아미드 II 밴드만이 관찰된 경향성을 보아 본 실험을 바탕으로 한 새로운 normal mode 분석의 시도가 요구된다.

4. 3. 라만밴드 증폭 메카니즘

관찰되는 라만 cross section의 분자 구조 의존성은 Albrecht 등에 의해 제시된 공명 라만 이론의 A-항 모델^{16,17}로서 설명할 수 있다. 즉 진동 전이 n ← m에 대한 4π sr에서 얻은 절대 라만 cross section, σ_{mn}을 모든 방향에 대하여 평균값을 계산하면,

$$\sigma_{mn} = \frac{I_{mn}}{I_0} = K v_0 (v_0 - v_{mn})^3 \sum |\alpha_{\rho\sigma}(v_0)|^2 \quad (1)$$

으로 나타낼 수 있다. 여기에서 I_{mn}과 I₀는 각각 진동 전이 n ← m에 대한 라만 세기와 넣어 준 레이저 세기에 대응된다. v₀와 v_{mn}은 여기 주파수와, 진동 주파수이며, α_{ρσ}는 여기 주파수 v₀에서의 라만 polarizability tensor의 ρ, σ 성분을 나타낸다. Polarizability tensor 성분은 second order perturbation theory에 의하여 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$\alpha_{\rho\sigma} = \sum \left[\frac{\langle gn | \mu_\sigma | ev \rangle \langle ev | \mu_\rho | gm \rangle}{v_{ev} - v_m - v_0 - i\Gamma_e} + \frac{\langle gn | \mu_\rho | ev \rangle \langle ev | \mu_\sigma | gm \rangle}{v_{ev} - v_n + v_0 + i\Gamma_e} \right] \quad (2)$$

여기에서 μ_ρ 와 μ_σ 는 산란과 입사광에 의한 polarization에 대응되는 분자축 σ , ρ 성분에서 대응되는 전자 전이 쌍극자 모멘트에 해당된다. v_m 와 v_n 은 전자 바닥 상태 $|g\rangle$ 에서의 초기와 마지막 상태에서의 진동 에너지 준위이다. v_{ev} 는 들뜬 상태 $|e\rangle$ 의 $|ev\rangle$ vibronic 상태의 전이 주파수이며, Γ_e 는 공명 들뜬 상태의 lifetime에 관계되는 damping 요인이다. 라만 cross section의 preresonance 주파수 의존성은 Albrecht A-항 모델로서 잘 설명된다. 이것은 식 (1), (2)를 adiabatic approximation을 가한 후 변형시키면 완전 진동운동에 대한 공명 증폭 메커니즘을 설명할 수 있는 다음 식을 얻을 수 있다.

$$\sigma_{mn} = K v_e (v_e - v_{mn})^3 \left[\frac{v_e^2 + v_e^2}{(v_e^2 - v_e^2)^2} \right]^2 \quad (3)$$

여기에서 K는 여기 주파수에 무관하고, 전자 전이의 oscillator strength와 진동 전이와 전자 전이의 혼합에만 관계되는 상수이다.

Table 1에 수록한 320~218nm 영역의 라만 cross section을 식 (3)에 대입하여 가장 좋은 fitting 값을 구한 결과를 Table 3에 수록하였다. DKP 아미드 I, II 밴드와 S 밴드에 대한 계산된 공명 전이 주파수는 약 186nm 근방에 있는 것으로 예상할 수 있다. 이 값은 수용액에서 얻은 DKP의 자외선 흡수 스펙트럼의 최대 흡수선인 188nm와 일치하는 것으로, 이것은 시스-펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자 전이에 대응된다. 이 결과는 아미드 I, II, S 밴드 모두 펩티드 결합의 $\pi-\pi^*$ 전자 전이에 의하여 공명 증폭됨을 알 수 있다. 펩티드 188nm $\pi-\pi^*$ 전자 전이에 의한 아미드 진동 밴드의 공명 증폭 요인은 이러한 시스-아미드 진동이 C-N 진동운동이 많이 포함되어 있기 때문에 생긴 것으로 설명할 수 있다. 즉, 펩티드 π^* 상태가 C-N 결합이 늘어나는 기하구조 변

화를 일으키기 때문에 이 변화와 진동운동의 C-N 진동운동과 서로 vibronic 혼합되어 생긴 것으로 이해할 수 있다.

시스-펩티드에 대한 공명 증폭 메커니즘은 트란스형의 증폭 메커니즘인 트란스-아미드 II, III, II', 그리고 V 배진동 밴드가 트란스- $\pi-\pi^*$ 에 의하여 증폭되는 결과와 정확히 일치한다.^{5,8} 즉, 시스-펩티드 밴드의 공명 증폭은 허용되지 않은 전이인 $n-\pi^*$ 에 의하여는 영향을 받지 않음을 알 수 있다. 이러한 현상은 Dudik 등에 의하여 이루어진 자외선 여기를 이용한 NMA, 아세톤 등의 연구결과¹⁸인 트란스-펩티드의 경우 오직 아미드 II, III, II', 밴드는 오직 펩티드 $\pi-\pi^*$ 전자 전이에 의하여 공명 증폭되고, $n-\pi^*$ 전자 전이와는 무관하다는 사실과 일치한다. 그러나 시스-펩티드의 공명 라만 스펙트럼에서는 트란스형에서 관찰된 아미드 V 배진동 밴드는 관찰되지 않았다. 이러한 현상을 바탕으로, 시스형의 경우 전자 바닥 상태 들뜬 상태 모두 평면형 기하구조를 가지고 있으며, 단순히 C-N 결합과 C-O 결합이 늘어나는 기하구조의 변형만이 존재하는 것으로 설명할 수 있다.

참고 문헌

1. T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, p. 159, Freeman, New York, 1983.
2. D. C. Rees, M. Lewis, R. B. Honzatko, W. N. Lipscomb and K. D. Hardman, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **78**, 3048(1981).
3. A. Radzicka, L. Pedersen and R. Wolfenden, *Biochemistry*, **27**, 4538(1988).
4. W. L. Jorgensen and J. Gao, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 4212(1988).
5. S. Song, S. A. Asher, S. Krimm and K. D. Shaw, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 1155(1991).
6. Y. Wang, R. Purrello and T. G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8274(1989).
7. 송선호, *화학세계* **32**, 856(1992).
8. S. Song and S. A. Asher, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4295(1989).
9. R. A. Copeland and T. G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 1281(1986).
10. J. M. Dudik, C. R. Johnson and S. A. Asher, *J. Chem. Phys.*, **82**, 1732(1985).

Table 3. K and v_e Value for Diketopiperazine Raman Bands

	$\times 10^{-30}$ K	v_e (nm)
Amide I	14.0	182
Amide II	30.2	189
Amide S	6.98	186

11. M. B. Robin, "Higher Excited States of Polyatomic Molecules" 2nd Ed., Vol. 2, p 140, Academic Press, New York, 1975.
12. T. C. Cheam and S. Krimm, *Spectrochim. Acta*, **40A**, 481(1984).
13. T. C. Cheam and S. Krimm, *Spectrochim Acta*, **40A**, 503(1984).
14. T. Miyazawa, *J. Mol. Spectrosc.*, **4**, 155(1960).
15. Y. Sugawara, A. Y. Hirakawa and M. Tsuboi, *J. Mol. Spectrosc.*, **108**, 206(1984).
16. A. C. Albrecht, *J. Chem. Phys.*, **34**, 1476(1960).
17. A. C. Albrecht and M. C. Hutley, *J. Chem. Phys.*, **55**, 4438(1971).
18. J. M. Dudik, C. R. Johnson and S. A. Asher, *J. Phys. Chem*, **89**, 3805(1985).