

Über die Bestimmung der Richtung von Übergangsmomenten aus Messungen des IR-Dichroismus, 4. Mitt.:

Untersuchungen an Lösungen von α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat, die durch ein elektrisches Feld orientiert sind

Von

Anton Maschka*, Günther Bauer und Zsigmond Dora

Aus dem Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Hochschule Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 9. Juli 1971)

Determination of the Direction of Transition Moments by Measurement of Infrared Dichroism: Investigations on Solutions of α -Poly- γ -benzyl-L-glutamate Oriented by an Electric Field

A relation between electric field-strength and degree of orientation for molecules possessing a permanent dipole moment is derived to permit the calculation of the direction of transition moments from dichroic ratio. The method is tested with the ν -NH band and the amid I band of α -poly- γ -benzyl-L-glutamate. The results are in good agreement with values from literature.

Es wird für Moleküle, die ein permanentes Dipolmoment besitzen, eine Beziehung zwischen der elektrischen Feldstärke und dem Ausmaß der Orientierung abgeleitet, die es erlaubt, aus Messungen des dichroitischen Verhältnisses die Richtungen von Übergangsmomenten zu berechnen. Die Methode wird mit der NH-Valenzbande und der Amid I-Bande von α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat erprobt. Die Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit Werten, die aus der Literatur bekannt sind.

Einleitung

Eine Orientierung von gelösten Molekülen durch ein elektrisches Feld ist dann möglich, wenn die Moleküle ein hinreichend großes permanentes Dipolmoment besitzen. Weil die Brownsche Bewegung der Ausrichtung entgegenwirkt, bleibt die Orientierung der Dipole dabei immer unvollständig; ihr Ausmaß ist eine Funktion der elektrischen Feldstärke.

Da die experimentell leicht zu bewältigenden Feldstärken mit etwa 20 kV/cm begrenzt sind, müssen — wie im theoretischen Teil abgeleitet wird — die Dipolmomente in der Größenordnung von 10^3 — 10^4 D

* Herrn Prof. Dr. H. Nowotny gewidmet.

liegen, damit sich meßbare Dichroismen ergeben. Die Anwendbarkeit der Orientierungsmethode bleibt daher auf Makromoleküle beschränkt.

α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat (α -PBLG) besitzt bei einem Polymerisationsgrad über 130 (Molekulargewicht $> 28\,000$), α -Helixstruktur¹; die Moleküle sind dann stäbchenförmig.

Die Länge der Stäbchen beträgt $1,5 \text{ \AA}$ pro Peptideinheit², der Durchmesser ist wegen der voluminösen Seitenketten viel größer als der Helix-Durchmesser und dürfte bei etwa 20 \AA liegen.

Die Moleküle haben ein permanentes Dipolmoment in Richtung der Helix-Achse, dessen Größe bei einem Polymerisationsgrad von 1 600 mit 3 900 D angegeben wird³, also ausreichend ist.

In der 2. Mitt. dieser Reihe haben wir⁴ für einachsige orientierte*, längliche Moleküle einen Zusammenhang zwischen dem dichroitischen Verhältnis A und dem Winkel θ zwischen der Richtung eines Übergangsmomentes und der Moleküllängsachse abgeleitet, in dem das Ausmaß der Orientierung durch die Größen $\overline{\sin^2 \alpha}$ bzw. $\overline{\cos^2 \alpha}$ ausgedrückt ist**:

$$A = \frac{\overline{\cos^2 \theta} \overline{\cos^2 \alpha} + \frac{1}{2} \overline{\sin^2 \theta} \overline{\sin^2 \alpha}}{\frac{1}{2} \overline{\cos^2 \theta} \overline{\sin^2 \alpha} + \frac{1}{4} \overline{\sin^2 \theta} (\overline{\cos^2 \alpha} + 1)} \quad (1)$$

Um mit Gl. (1) aus dem gemessenen dichroitischen Verhältnis den Winkel θ berechnen zu können, muß das Ausmaß der Orientierung bekannt sein. Es wird daher eine Beziehung zwischen $\overline{\sin^2 \alpha}$ bzw. $\overline{\cos^2 \alpha}$ und der elektrischen Feldstärke benötigt (wobei noch einige andere Meßgrößen wie die Temperatur, die Konzentrationen der Lösungen u. a. in die Rechnung eingehen), die im theoretischen Teil abgeleitet wird.

α -PBLG wurde für die experimentellen Messungen ausgewählt, weil einerseits das Dipolmoment dieser Verbindung bei entsprechendem Polymerisationsgrad hinreichend groß ist und andererseits Richtungen von Übergangsmomenten für dieses Polypeptid bekannt sind, so daß man Vergleichsmöglichkeiten hat und den praktischen Wert der abgeleiteten Beziehungen prüfen kann.

* Einachsige Orientierung bedeutet, daß die Moleküllängsachsen zueinander mehr oder weniger parallel sind, jedes Molekül um seine Längsachse aber frei drehbar ist.

** α = Winkel zwischen der Längsachse eines Moleküls und der Orientierungsrichtung; $\overline{\sin^2 \alpha}$ bzw. $\overline{\cos^2 \alpha}$ sind Mittelwerte.

¹ Ch. Bamford, W. E. Hanby und F. Happey, Proc. Roy. Soc. A **205**, 30 (1951).

² G. Bauer, 3. Mitt.: Mh. Chem. **102**, im Druck.

³ H. Watanabe, K. Yoshioka und A. Wada, Biopolymers **2**, 91 (1965).

⁴ G. Bauer, Mh. Chem. **102**, im Druck.

Theoretischer Teil

Die zu orientierende Lösung möge sich zwischen den parallelen Platten eines Kondensators befinden. Bei der Ableitung des Zusammenhanges zwischen $\overline{\sin^2 \alpha}$ bzw. $\overline{\cos^2 \alpha}$ und der auf die gelösten Moleküle (Dipole) wirkenden Feldstärke F sollen zunächst die Einflüsse von benachbarten Dipolen aufeinander nicht berücksichtigt werden.

Die Größen $\overline{\sin^2 \alpha}$ und $\overline{\cos^2 \alpha}$ sind folgendermaßen definiert⁴:

$$\overline{\sin^2 \alpha} = \int_0^\pi p(\alpha) \sin^2 \alpha \, d\alpha, \quad (2)$$

$$\overline{\cos^2 \alpha} = 1 - \overline{\sin^2 \alpha}, \quad (3)$$

α = Winkel zwischen Dipolachse und Feldrichtung (Orientierungsrichtung); $p(\alpha)$ gibt die Häufigkeitsverteilung der α -Werte an [$\int_0^\pi p(\alpha) \, d\alpha$ = Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Winkels α im Intervall α_1 — α_2].

Für die potentielle Energie $V(\alpha)$ eines Dipols im homogenen elektrischen Feld gilt:

$$V(\alpha) = -F\mu \cos \alpha, \quad (4)$$

μ = wirksames Dipolmoment*.

Daraus ergibt sich unter Berücksichtigung des Boltzmannschen Energieverteilungssatzes für die Verteilungsfunktion $p(\alpha)$:

$$p(\alpha) = \mathbf{k}_0 \sin \alpha \exp \left[-\frac{V(\alpha)}{kT} \right] = \mathbf{k}_0 \sin \alpha \exp \left(\frac{F\mu \cos \alpha}{kT} \right), \quad (5)$$

k = Boltzmannkonstante, T = absol. Temp. Der Faktor $\sin \alpha$ berücksichtigt die räumlichen Verhältnisse⁴. \mathbf{k}_0 ist ein Proportionalitätsfaktor, der sich aus der Bedingung:

$$\int_0^\pi p(\alpha) \, d\alpha = 1 \quad (6)$$

berechnen läßt. Man findet:

$$\mathbf{k}_0 = \frac{1}{\exp \left(\frac{F\mu}{kT} \right) - \exp \left(-\frac{F\mu}{kT} \right)}. \quad (7)$$

* Das wirksame Dipolmoment setzt sich — wie später besprochen wird — aus dem permanenten und einem induzierten Dipolmoment zusammen.

Nach Einsetzen von \mathbf{k}_0 in Gl. (5) und von $p(\alpha)$ in Gl. (2) kann diese integriert werden und man erhält:

$$\overline{\sin^2 \alpha} = 2 \frac{kT}{F\mu} \left(\coth \frac{F\mu}{kT} - \frac{kT}{F\mu} \right). \quad (8)$$

Bei den Messungen zeigte sich eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit des dichroitischen Verhältnisses. Die Konzentrationen des in Chloroform gelösten Polypeptides lagen in der Größenordnung von 1 Gew%. Berechnet man den Platzbedarf der Moleküle in der Lösung — die mittleren Polymerisationsgrade lagen bei etwa 1000 —, so ergibt sich, daß im Durchschnitt jedes Molekül von nur 10 bis 15 Molekülschichten Lösungsmittel umgeben ist. Die Ausrichtung im elektrischen Feld ist daher sicher durch eine gegenseitige Behinderung der Moleküle beträchtlich erschwert und die Konzentrationsabhängigkeit des dichroitischen Verhältnisses wird verständlich.

Die Behinderung wird in einer Vergrößerung von $kT/F\mu$ zum Ausdruck kommen. Man kann in erster Näherung den Sachverhalt mathematisch so formulieren, daß man $kT/F\mu$ mit einem linear von der Konzentration abhängigen Faktor verknüpft. Gl. (8) würde dann übergehen in:

$$\overline{\sin^2 \alpha} = 2B \left(\coth \frac{1}{B} - B \right), \quad (9)$$

$$B = \frac{kT}{F\mu} (1 + \mathbf{k}_1 c), \quad (10)$$

c = Konzentration, \mathbf{k}_1 = empirische Konstante.

Da Gl. (9) und Gl. (1), die zur Berechnung von θ aus A herangezogen werden, jetzt zwei Unbekannte — den zu berechnenden Winkel θ und die Konstante \mathbf{k}_1 — enthalten und in der Regel mehr als zwei Meßwerte vorliegen, wendet man zur Auswertung am besten die Ausgleichsrechnung an: Die Bedingung, daß die Summe der Fehlerquadrate der einzelnen Meßpunkte ein Minimum werden soll, ergibt:

$$\frac{\partial \sum_i \Delta_i^2}{\partial \sin^2 \theta} = 0, \quad (11)$$

$$\frac{\partial \sum_i \Delta_i^2}{\partial \mathbf{k}_1} = 0, \quad (12)$$

$$\Delta_i = A_i \frac{\cos^2 \theta \overline{\cos^2 \alpha_i} + \frac{1}{2} \sin^2 \theta \overline{\sin^2 \alpha_i}}{\frac{1}{2} \cos^2 \theta \overline{\sin^2 \alpha_i} + \frac{1}{4} \sin^2 \theta (\overline{\cos^2 \alpha_i} + 1)}. \quad (13)$$

Nach Differenzieren und Umformen erhält man die Gleichung:

$$\sin^2 \theta = \frac{2 \sum_i (1) - \sum_i (2)}{3 \sum_i (1) - \sum_i (3)} \quad (14)$$

mit:

$$\sum_i (1) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right)^2 K_i^2 [H_i c_i (G_i - K_i H_i)^2 + H_i^2 (G_i - K_i H_i) (D_i - K_i c_i)], \quad (15)$$

$$\sum_i (2) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right) K_i [c_i (G_i - K_i H_i) + H_i (D_i - K_i c_i)], \quad (16)$$

$$\sum_i (3) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right)^2 K_i [c_i (G_i - K_i H_i) + H_i (D_i - K_i c_i)], \quad (17)$$

$$G_i = \coth \frac{1}{K_i (1 + \mathbf{k}_1 c_i)}, \quad (18)$$

$$H_i = 1 + \mathbf{k}_1 c_i, \quad (19)$$

$$D_i = -\frac{c_i}{K_i} \frac{1 - G_i^2}{H_i^2}, \quad (20)$$

$$K_i = \frac{kT}{F_i \mu}, \quad (21)$$

und die Gleichung:

$$-3(2 - 3 \sin^2 \theta) \sum_i (4) + \sum_i (5) + 3 \sum_i (6) - \sum_i (7) + 2(1 - 3 \sin^2 \theta) \sum_i (8) = 0 \quad (22)$$

mit:

$$\sum_i (4) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right)^2 K_i^2 H_i^2 (G_i - K_i H_i)^2, \quad (23)$$

$$\sum_i (5) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right)^2, \quad (24)$$

$$\sum_i (6) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right) K_i H_i (G_i - K_i H_i), \quad (25)$$

$$\sum_i (7) = \sum_i \frac{A_i}{2} + 1, \quad (26)$$

$$\sum_i (8) = \sum_i \left(\frac{A_i}{2} + 1 \right)^2 K_i H_i (G_i - K_i H_i). \quad (27)$$

Die Auswertung ist praktisch nur mit einer elektronischen Rechenanlage möglich. Man geht zum Beispiel so vor, daß man auf der linken Seite von Gl. (22) k_1 solange variiert, bis die Gleichung hinreichend genau erfüllt ist.

Ob Gl. (9) zur Berechnung des Ausmaßes von Orientierungen tatsächlich geeignet ist, wird im Experimentellen Teil geprüft.

Es bleiben jetzt noch zwei Fragen zu erörtern:

1. Wie erhält man das wirksame Dipolmoment aus dem permanenten Dipolmoment?

2. Welcher Zusammenhang besteht zwischen der im Inneren der Lösung auf ein gelöstes Molekül wirkenden Feldstärke und der „experimentellen“ Feldstärke, die sich aus dem Abstand der Kondensatorplatten und der angelegten Spannung errechnen läßt?

Zu Frage 1: Das wirksame Dipolmoment μ setzt sich additiv zusammen aus dem permanenten Dipolmoment μ_p und einem induzierten Moment μ_i :

$$\mu = \mu_p + \mu_i. \quad (28)$$

μ_i kommt folgendermaßen zustande:

Die Lösungsmittelmoleküle, die das gelöste Molekül umgeben, werden durch das elektrische Feld des Dipols polarisiert und induzieren rückwirkend in dem gelösten Molekül ein Dipolmoment, das die gleiche Richtung wie das permanente Dipolmoment besitzt. Ein Zusammenhang zwischen μ und μ_p wird bei *Böttcher*⁵ abgeleitet und lautet:

$$\mu \approx \frac{2\varepsilon + 1}{2\varepsilon + n_D^2} \frac{n_D^2 + 2}{3} \mu_p, \quad (29)$$

wobei ε die Dielektrizitätskonstante der Lösung ist; bei stark verdünnten Lösungen gilt:

$\varepsilon_{\text{Lösung}} \approx \varepsilon_{\text{Lösungsmittel}}$; $n_D =$ Brechungsindex der gelösten Substanz.

Zu Frage 2: Die Feldstärke E_h in einem Hohlraum in der Lösung (Dielektrizitätskonstante ϵ) wäre⁵:

$$E_h = \frac{3\epsilon}{2\epsilon + 1} E, \quad (30)$$

E = exper. Feldstärke.

Denkt man sich den Hohlraum ausgefüllt mit dem zu orientierenden Molekül, so ist die auf dieses Molekül wirkende Feldstärke noch größer als E_h , weil durch das elektrische Feld in dem Molekül ein Dipolmoment parallel zur Feldrichtung induziert wird. Dieses Moment erzeugt im Lösungsmittel ein sogenanntes Reaktionsfeld, das rückwirkend das Feld E_h verstärkt. Zwischen der wirksamen Feldstärke F und der exper. Feldstärke E besteht der Zusammenhang⁵:

$$F \approx \frac{2\epsilon + \epsilon n_D^2}{2\epsilon + n_D^2} E. \quad (31)$$

Experimenteller Teil

Aus der 3. Mitt. dieser Reihe² sind für α -PBLG die Richtungen der Übergangsmomente der NH-Valenzschwingung und der Amid-I-Schwingung bekannt. Die Wellenzahlen der Bandenmaxima und die zugehörigen Winkel θ zwischen Übergangsmoment und Helixachse sind in Tab. 1 angeführt. Es wurden daher die diesen Schwingungen entsprechenden Banden untersucht.

Tabelle 1. Bandenmaxima und die Richtungen der Übergangsmomente

	NH-Valenz- Schwingung	Amid I- Schwingung
Bandenmaximum	3292 cm ⁻¹	1653 cm ⁻¹
Winkel θ	(26,0 ± 0,8)°	(37,4 ± 0,2)°

Ausgehend von Benzylalkohol und L-Glutaminsäure wurden nach der Leuchsschen Methode^{6, 7} zwei Polymerisate hergestellt. Für die mittleren Polymerisationsgrade ergaben die viskosimetrischen Bestimmungen in Dichloressigsäure nach Doty et al.⁸ folgende Werte:

Polymerisat	A	B
Mittlerer Polymerisationsgrad	990	1 410

⁵ C. J. Böttcher, Theory of Electric Polarization. Elsevier. 1952.

⁶ E. R. Blout, R. H. Karlson, P. Doty und H. Hargitay, J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4492 (1954).

⁷ E. R. Blout und R. H. Karlson, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 941 (1956).

⁸ P. Doty, J. H. Bradbury und A. M. Holtzer, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 947 (1956).

Von den beiden Polymerisaten wurden Lösungen in CHCl_3 bereitet. Die Konzentrationen lagen zwischen 0,5 und 1,5 Gew%.

Die Messungen erfolgten mit einem Doppelstrahl-Gitterspektrographen (Perkin Elmer, Modell 225) mit Drahtgitterpolarisator. Die Lösungen befanden sich in einer selbstangefertigten Hochspannungsküvette aus Teflon mit NaCl-Fenstern.

Zwischen den Fenstern liegt eine 0,2 mm dicke Distanzscheibe aus Teflon, die einen rechteckigen Ausschnitt (12×5 mm) aufweist. Um die

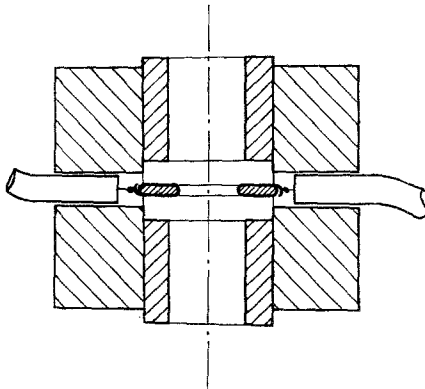


Abb. 1. Hochspannungsküvette

langen Kanten des Ausschnittes waren, wie Abb. 1 zeigt, zwei Goldblättchen von $3 \mu\text{m}$ Dicke gelegt, die die „Kondensatorplatten“ darstellten. Der Küvetteninhalt befand sich also in direktem Kontakt mit den Platten. Die Stromzuführung erfolgte über Hochspannungskabel, die durch den Teflonkörper der Küvette geführt und mit Federn an die Goldelektroden angepreßt waren. Die Hochspannung wurde mit einem nicht stabilisierten Gerät erzeugt, das im wesentlichen aus einem Röntgen-Trafo und einem Selenleichrichter bestand.

Die Auswertung der Spektren erfolgte nach dem Grundlinienverfahren. Die Meßdaten sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Die permanenten Dipolmomente μ_A und μ_B für die Polymerisate A und B wurden aus dem von *Watanabe et al.*³ angegebenen Wert mit der Beziehung:

$$\frac{\text{Permanentes Dipolmoment}}{\text{Polymerisationsgrad}} = \text{konstant}$$

berechnet. Es ergibt sich:

$$\mu_A = 2\,400 \text{ D}, \quad \mu_B = 3\,440 \text{ D}.$$

Die Temperatur der Lösungen während der Messungen betrug etwa 50°C . Für die Dielektrizitätskonstante der Lösungen wurde der bekannte Wert für reines Chloroform bei 50°C , $\epsilon = 4,3$, eingesetzt. Der bei Raumtemperatur gemessene Brechungsindex von α -PBLG betrug $n_D \approx 1,54$. Mit diesen Werten sind die wirksame Feldstärke F und die wirksamen Dipolmomente μ

Tabelle 2. Versuchsdaten

Polymerisat A			Polymerisat B			Banden- max. (cm ⁻¹)
Konz. <i>c</i> (Gew.%)	el. Feldst., <i>E</i> (Volt/cm)	Dichr. Verh. <i>A</i>	Konz. <i>c</i> (Gew.%)	el. Feldst., <i>E</i> (Volt/cm)	Dichr. Verh. <i>A</i>	
0,50	4 280	1,24	0,75	4 280	1,37	
0,50	8 570	1,53	0,75	8 750	1,81	
0,50	10 710	1,65	0,75	10 710	1,99	
0,50	12 860	1,80	1,00	4 280	1,43	
0,75	4 280	1,23	1,00	8 750	1,78	
0,75	8 570	1,47	1,00	10 710	1,94	
0,75	10 710	1,60	1,25	4 280	1,33	3292
1,00	4 280	1,18	1,25	8 750	1,74	
1,00	8 570	1,45	1,25	10 710	1,87	
1,00	10 710	1,54	1,50	4 280	1,35	
1,00	12 860	1,58	1,50	8 750	1,59	
1,25	4 280	1,15	1,50	10 710	1,85	
1,25	6 430	1,25				
1,25	8 570	1,33				
1,25	10 710	1,37				
0,75	6 420	1,29	0,75	4 280	1,28	
0,75	8 570	1,38	0,75	8 570	1,54	
0,75	10 710	1,63	0,75	10 710	1,68	
1,00	8 750	1,28	1,00	4 280	1,29	
1,00	12 860	1,42	1,00	8 570	1,54	
1,00	15 000	1,55	1,00	10 710	1,64	
1,25	8 570	1,26	1,25	4 280	1,28	1653
1,25	10 710	1,36	1,25	8 750	1,52	
1,25	12 860	1,42	1,25	10 710	1,62	
1,50	4 280	1,11	1,50	4 280	1,22	
1,50	8 750	1,21	1,50	8 750	1,43	
1,50	10 710	1,29	1,50	10 710	1,57	

Tabelle 3. Ergebnisse der Ausgleichsrechnung

	Bande 3292 cm ⁻¹		Bande 1653 cm ⁻¹	
	Winkel θ	Konstante k_1	Winkel θ	Konstante k_1
Polymerisat A	29,0°	0,95	33,8°	0,89
Polymerisat B	27,9°	0,73	35,7°	0,70
Literaturwert	26,0°	—	37,4°	—

für beide Polymerisate berechenbar. Die Berechnung des Winkels θ und der Konstante k_1 erfolgte — wie im theoret. Teil beschrieben wurde — mit Hilfe der Ausgleichsrechnung. Die Ergebnisse dieser Rechnung (und zum Vergleich die aus der Lit. bekannten θ -Werte) sind in Tab. 3 angeführt.

Die Übereinstimmung der θ -Werte ist gut. Die Methode der Orientierung von Makromolekülen, die ein hinreichend großes permanentes Dipolmoment besitzen, durch ein elektrisches Feld und das Auswertungsverfahren scheinen zur genauen Bestimmung der Richtung von Übergangsmomenten geeignet zu sein.

Die numerischen Berechnungen erfolgten mit der elektronischen Rechenanlage IBM 7040 des Rechenzentrums der Technischen Hochschule Wien.

Das IR-Spektrometer und die Polarisationsrichtung wurde in dankenswerter Weise vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung zur Verfügung gestellt.