

**Über die Bestimmung der Richtung
von Übergangsmomenten in länglichen Molekülen
aus Messungen des IR-Dichroismus, 3. Mitt.:**

Untersuchungen an 4-Dimethylaminoazobenzol und α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat

Von

Günther Bauer

Aus dem Institut für Allgemeine Chemie der Technischen Hochschule Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 19. März 1971)

Determination of the Direction of Transition Moments on Oblong Molecules by Measurement of Infrared Dichroism, III

The dichroism of the ν -N=N band in p-dimethyl-amino-azobenzene and of the ν -NH band, the amid I band and the amid II band in α -poly- γ -benzyl-L-glutamate has been measured. By the relations derived in the first and second communication¹ directions of the transition moments could be calculated. The results are in excellent agreement with theoretical values.

Es wurde an 4-Dimethylaminoazobenzol der Dichroismus der N=N-Valenzbande sowie an α -Poly- γ -Benzyl-L-glutamat der Dichroismus der NH-Valenzbande, der Amid I-Bande und der Amid II-Bande gemessen. Aus den Meßwerten konnten mit den in der ersten und zweiten Mitteilung¹ abgeleiteten Beziehungen die Richtungen der Übergangsmomente berechnet werden. Die Ergebnisse zeigen eine ausgezeichnete Übereinstimmung mit den theoret. Werten.

Einleitung

In den beiden vorhergehenden Mitteilungen¹ wurden Beziehungen abgeleitet, die eine genaue Berechnung der Richtung von Übergangsmomenten ermöglichen sollen, wenn die Moleküle der untersuchten Proben durch Einbetten in Kunststoffolien und Dehnen der Folien oder — bei Makromolekülen — durch Aufstreichen von Gallerten dieser Moleküle auf Folien und Dehnen der Folien teilweise orientiert sind. Da

¹ G. Bauer, Mh. Chem. **102**, 1782, 1789 (1971).

diesen Ableitungen eine stark formalistische Behandlung der Orientierungsvorgänge zugrunde liegt, ist es notwendig, ihre Verwendbarkeit an Verbindungen zu prüfen, bei denen die Lage von Übergangsmomenten bekannt ist.

Die Untersuchungen an 4-Dimethylaminobenzol wurden zur Erprobung der „Einbettungsmethode“ vorgenommen; die Untersuchungen an α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat zur Überprüfung der Brauchbarkeit der „Aufstreichmethode“.

4-Dimethylaminoazobenzol

Bei der N=N-Valenzschwingung in 4-Dimethylaminoazobenzol (4-*DAAB*) fällt die Richtung des Übergangsmomentes praktisch mit der Verbindungslinie der N-Atome zusammen.

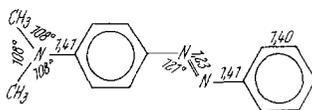


Abb. 1. Bindungslängen und Valenzwinkel in 4-*DAAB*

Vergleicht man die IR-Spektren von „gewöhnlichem“ und „schwerem“ 4-*DAAB*, bei dem die Stickstoffatome der Azogruppe durch ^{15}N substituiert sind, so zeigt sich eine kräftige Verschiebung der N=N-Valenzbande, während die Lagen der anderen Banden kaum verändert sind². Man darf daraus schließen, daß zwischen der N=N-Valenzschwingung und den übrigen Schwingungen im Molekül nur eine geringe Kopplung besteht. In diesem Fall muß die Richtung des Übergangsmomentes mit der Valenzrichtung weitgehend übereinstimmen.

Da die räumliche Struktur des Moleküls mit Sicherheit bekannt ist³, hat man eine Verbindung zur Verfügung, die als Testsubstanz gut geeignet ist. Die wichtigsten Bindungslängen (in Å) und Valenzwinkel⁴ sind aus Abb. 1 ersichtlich.

Die beiden Benzolringe liegen in der Papierebene; die $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ -Gruppe ist weitgehend frei drehbar.

Legt man die Molekül-Längsachse durch die Mittelpunkte der beiden Benzolringe, so findet man zwischen dieser Richtung und der N=N-Verbindungsline einen Winkel von 49° .

Bei einem Molekül wie dem vorliegenden ist es nicht möglich, ohne gewisse Willkür eine Längsachse festzulegen. Da die Ausrichtung der

² R. Kübler, W. Lüttke und S. Weckerlin, Z. Elektrochem. **64**, 650 (1960).

³ Vgl. z. B. L. F. Fieser und M. Fieser, Organische Chemie. Verlag Chemie, 1965.

⁴ Landolt-Börnstein, Zahlenwerte und Funktionen, 1. Band, 2. Teil. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer, 1951.

4-*DAAB*-Moleküle durch Dehnen des sie umgebenden Mediums erfolgt, also gleichsam durch ein Vorbeigleiten der Moleküle der Umgebung, ist es sinnvoll, als Längsachse die Achse des kleinsten um das Molekül geschriebenen Zylinders zu wählen; diese fällt mit der Verbindungslinie der Mittelpunkte der beiden Benzolringe zusammen.

Die Lage der Absorptionsbande im Spektrum wird von *Kübler et al.*² angegeben. Die Autoren ordnen eine bei 1410 cm^{-1} liegende mittelstarke Bande der N=N-Valenzschwingung zu. Eigene Messungen ergaben, daß das Bandenmaximum bei 1408 cm^{-1} liegt.

Experimenteller Teil

Als Trägermaterial für das 4-*DAAB* fanden 0.4 mm dicke Folien aus Hochdruckpolyäthylen Verwendung. Die Folien zeigten im ungedehnten Zustand keinen Dichroismus.

Zum Beladen wurden die Folien etwa 2 Stdn. in einer wäßr. Suspension der zu untersuchenden Substanz gekocht; dabei nahmen die Folien etwa 8–10 mg Substanz pro cm^3 auf. An der Folie außen anhaftende Substanzreste konnten mit Aceton entfernt werden.

Bestimmungen der Sättigungskonzentration von 4-*DAAB* in flüssigen aliphat. Kohlenwasserstoffen (sie liegt z. B. bei n-Hexan bei 1 mg pro cm^3 , also bei $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{8}$ der im Polyäthylen enthaltenen Substanzmenge) lassen den Schluß zu, daß die Verbindung in Polyäthylen größtenteils nicht echt gelöst ist. Tatsächlich zeigt sich, daß nach mehrstdg. Liegen die wohl stark gefärbten, aber durchsichtigen Folien trüb werden, offenbar durch Kristallisation des 4-*DAAB* in der Folie. Die Trübung kann durch Erwärmen der Folie auf etwa 100°C zum Verschwinden gebracht werden. Nach dem Abkühlen bleiben die Folien wieder einige Stunden klar, dann tritt neuerlich Trübung ein.

Die beladenen Folien wurden auf das Zwei- bis Sechsfache ihrer ursprünglichen Länge gedehnt. Da die Dehnung nicht gleichmäßig ist, mußten vor dem Dehnen auf der Folie Markierungen angebracht werden (durch Abrollen eines Zahnrades in der Dehnungsrichtung), um später an der bei der Messung durchstrahlten Stelle aus dem Abstand zweier Marken das Dehnungsverhältnis berechnen zu können.

Die Folien wurden ohne Fenster in verschraubbare Metallrahmen eingespannt und mit diesen in den Strahlengang gebracht.

Die Messungen erfolgten mit einem Doppelstrahl-Gitterspektrographen (Perkin-Elmer, Modell 225) mit Drahtgitterpolarisator. Der Polarisator ist vor dem Monochromator-Eintrittsspalt drehbar angebracht. Die Proben waren jeweils so fixiert, daß der Winkel zwischen der Dehnungsrichtung und den Spalten 45° betrug. Verändert wurden die Polarisatorstellungen, und zwar so, daß die Schwingungsebene der polarisierten Strahlung zur Spalt-richtung einmal um $+45^\circ$ und einmal um -45° geneigt war. Bei dieser Anordnung gelingt es am besten, die Einflüsse der Eigenpolarisation des Spektrographen auszuschalten⁵.

⁵ R. D. B. Fraser und E. Suzuki, Spectrochim. Acta **21**, 615 (1965).

Die Eigenabsorption der Folie ließ sich mit einer gleichstark gedehnten „leeren“ Folie im Vergleichsstrahlengang weitgehend kompensieren.

Bei den Messungen zeigen sich störende Interferenzen, wenn der IR-Strahl senkrecht zur Folienebene einfällt. Diese Interferenzen konnten durch Neigen der Folien (Drehung um eine in der Folienebene senkrecht zur Dehnungsrichtung liegende Achse) um 20 bis 30° beseitigt werden. Die geringe seitliche Versetzung des IR-Strahls, die bei dieser Probenanordnung auftritt, hatte keinen merklichen Einfluß auf die Messungen.

Es konnten nur aus Messungen an durchsichtigen Folien reproduzierbare dichroitische Verhältnisse erhalten werden. Waren die Folien in getrübtetem Zustand gedehnt worden, so zeigte sich fast kein Dichroismus. Es wurde daher nur mit durchsichtigen Folien gearbeitet.

Die quantitative Auswertung der Banden erfolgte nach dem Grundlinienverfahren.

Es wurden 11 Messungen bei verschiedenen Dehnungsverhältnissen vorgenommen.

Aus den Meßwerten ergibt sich mit Hilfe der Ausgleichsrechnung der Winkel zwischen der Moleküllängsachse und der Richtung des Übergangsmomentes zu 48,2°, in ausgezeichneter Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert von 49°.

Die Meßwerte und die mit Hilfe der Ausgleichskurve für die gemessenen Dehnungsverhältnisse berechneten dichroitischen Verhältnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Meßwerte und Ergebnisse

Dehnungsverh.	$\overline{\sin^2 \alpha}$ *	Dichroit. Verhältn.	
		gemessen	berechnet
2.26	0.336	1.23	1.27
2.48	0.300	1.24	1.30
2.43	0.309	1.25	1.30
2.63	0.261	1.36	1.34
3.26	0.219	1.32	1.38
4.29	0.155	1.46	1.44
4.38	0.150	1.54	1.45
4.78	0.134	1.39	1.46
4.90	0.129	1.54	1.47
5.83	0.103	1.48	1.49
6.33	0.091	1.54	1.51

Das Ergebnis zeigt, daß die zur Auswertung der Messungen herangezogene Methode gut anwendbar ist.

* $\overline{\sin^2 \alpha}$ = Ausmaß der Orientierung. Keine Orientierung: $\overline{\sin^2 \alpha} = \frac{2}{3}$; vollständige Orientierung: $\overline{\sin^2 \alpha} = 0$. α = Winkel zwischen Moleküllängsachse und Orientierungsrichtung.

Bei den angewandten Konzentrationen von 4-*DAAB* sind sicher starke Wechselwirkungen zwischen den eingebetteten Molekülen vorhanden (es kann sogar Kristallisation eintreten). Diese Wechselwirkungen scheinen aber die Orientierbarkeit der Moleküle nicht wesentlich zu beeinflussen.

α -Poly- γ -benzyl-L-glutamat

a) Die Struktur des Polypeptids: Poly- γ -benzyl-L-glutamat (*PBLG*) kann nach *Blout* und *Assadourian*⁶ in zwei strukturell verschiedenen Formen, einer α - und einer β -Form auftreten, wobei bei Molekulargewichten unter 28 000 vorwiegend die β -Form (Faltstruktur) vorliegt, während man bei höheren Molekulargewichten nur die α -Form (Helixstruktur) vorfindet.

Seit den von *Bamford* et al.⁷ durchgeführten Röntgen-Untersuchungen von α -*PBLG* kann es als gesichert gelten, daß die Moleküle dieses Polypeptides eine ganz bestimmte Helix-Struktur, die man als α -Helix-Struktur bezeichnet, besitzen. Auf Grund dieses Befundes können unter Berücksichtigung der von *Corey* und *Pauling*⁸ angegebenen Bindungslängen und Valenzwinkel die Atomkoordinaten für die Atome der Polypeptidkette berechnet werden. Die Ergebnisse einer solchen Berechnung, der eine $18/5$ α -Helix mit ebener, zur Helix-Achse paralleler Peptidgruppe zugrunde gelegt ist, sind in Tab. 2 zusammengestellt. Eine Identitätsperiode der Helix umfaßt 18 Peptideinheiten, die genau 5 Gänge der Helix-Schraube bilden. Abb. 2 zeigt eine schematische Darstellung der α -Helix.

Tabelle 2. Atomkoordinaten der $18/5$ α -Helix (in Å)

	x	y	z	Bezeichnung der Atome
C	0	0	0	
N	1.183	0	0.872	
C'	2.419	0	0.407	
C*	3.493	0	1.497	
O	2.728	0	-0.794	
H	0.964	0	1.866	
Helix-Achse	1.747	1.465	—	

Aus den Atomkoordinaten ergeben sich für die Winkel zwischen den Valenzrichtungen N—H bzw. C'—O und der Helix-Achse folgende Werte:

⁶ *E. R. Blout* und *A. Assadourian*, *J. Amer. Chem. Soc.* **78**, 955 (1956).

⁷ *Ch. Bamford*, *W. E. Hanby* und *F. Happey*, *Proc. Roy. Soc. A* **205**, 30 (1951).

⁸ *R. B. Corey* und *L. Pauling*, *Proc. Roy. Soc. B* **141**, 10 (1953).

- \sphericalangle N—H-Helix-Achse: 12.4° ,
 \sphericalangle C'—O-Helix-Achse: 14.4° .

b) Bandenzuordnung und die Richtungen der Übergangsmomente:
 Die bei α -Polypeptiden zwischen 3292 und 3300 cm^{-1} auftretende Bande

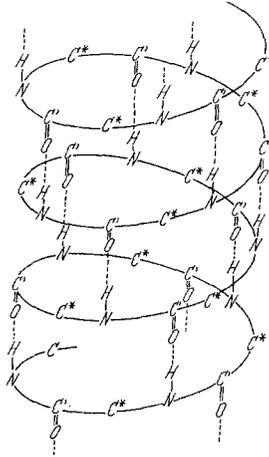


Abb. 2. Schematische Darstellung der α -Helix

kann eindeutig der NH-Valenzschwingung zugeschrieben werden. Über die Herkunft der Amid I- und der Amid II-Bande herrscht bis heute noch keine restlose Klarheit.

Die Amid I-Bande, die bei α -Polypeptiden zwischen 1640 und 1670 cm^{-1} liegt, wird meist einer C=O-Valenzschwingung zugeordnet. Nach *Fraser* und *Price*⁹ soll diese Bande jedoch von einer Normalschwingung der Atomgruppe N—C'—O herrühren:



Die gleichen Autoren vermuten, daß die für Helix-Moleküle zwischen 1520 und 1560 cm^{-1} liegende Amid II-Bande, von der man lange Zeit glaubte, sie sei einer „in-plane“ NH-Deformationschwingung zuzuordnen, von einer Resonanz zwischen dieser Schwingung und einer weiteren Normalschwingung der N—C'—O-Gruppe



herrührt, und können mit dieser Annahme die beim Austausch des Wasserstoffatoms der NH-Gruppe durch Deuterium auftretende, für

⁹ *R. D. B. Fraser* und *W. C. Price*, *Nature* **170**, 490 (1952).

eine NH-Deformationsbande viel zu geringe Bandenverschiebung erklären.

Für die Richtungen der Übergangsmomente bei α -PBLG liegen bisher keine genauen Werte vor. Man kann jedoch versuchen, Werte, die für einfache Peptide gefunden wurden, sinngemäß auf das Polypeptid zu übertragen. Es bieten sich die von *Abbot* und *Elliot*¹⁰ ermittelten Daten an. Die Autoren errechneten aus Messungen des IR-Dichroismus an Kristallen von Acetanilid die Winkel zwischen der C—O-Valenzrichtung und den Übergangsmomenten der NH-Schwingung, der Amid I- und der Amid II-Schwingung*:

NH-Valenz- Schwingung	Amid I- Schwingung	Amid II- Schwingung
+ 11°	(+ 22 ± 2)°	+ 72°

Nimmt man an, daß die für Acetanilid gefundenen Werte auch für α -PBLG — wenigstens näherungsweise — Geltung haben, so ergeben sich für die Winkel zwischen den Übergangsmomenten und der Helix-Achse folgende Werte:

NH-Valenz- Schwingung	Amid I- Schwingung	Amid II- Schwingung
26,4°	(36,4 ± 2)°	86,4°

Experimenteller Teil

Die Herstellung des Polypeptids erfolgte nach einer von *Blout* et al.^{11, 12} angegebenen Methode (*Leuchs*sche Synthese). Für die Untersuchung standen drei Polymerisate mit verschiedenem mittleren Polymerisationsgrad zur Verfügung. Die Molekulargewichtsbestimmung erfolgte viskosimetrisch in Dichloressigsäure¹³ und ergab folgende Werte:

Polymerisat	Mittleres Molekulargew.	Mittlerer Polymeris.-Grad
A	250 000	1 200
B	230 000	1 100
C	140 000	700

* Die Winkel werden von C'—O aus in Richtung C'—C* positiv gerechnet.

¹⁰ *N. B. Abbot* und *A. Elliot*, Proc. Roy. Soc. A **234**, 247 (1955).

¹¹ *E. R. Blout*, *R. H. Karlson*, *P. Doty* und *H. Hargitay*, J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4492 (1954).

¹² *E. R. Blout* und *R. H. Karlson*, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 941 (1956).

¹³ *P. Doty*, *J. H. Bradbury* und *A. M. Holtzer*, J. Amer. Chem. Soc. **78**, 947 (1956).

Die Polymerisate wurden in CHCl_3 gelöst und die Lösungen bis zur Ausbildung einer leicht trüben, nicht fließenden Gallerte eingeeengt. Nach dem Aufstreichen der Gallerten auf 0.2 mm dicke Folien aus Hochdruckpolyäthylen — die Dicken der aufgetragenen Schichten lagen zwischen 0.02 und 0.2 mm — wurden die Folien gedehnt und in verschraubbare Metallrähmchen eingespannt. Die Messungen (Ermittlung des Dehnungsverhältnisses der Folien, Anordnung der Proben im Spektrographen, Polarisatorstellungen, Kompensation der Eigenabsorption der Folien) und die Auswertung der Spektren erfolgten in der gleichen Weise wie bei den Versuchen mit 4-Dimethylaminoazobenzol und sind dort beschrieben.

Anstelle der Schichtdicke der aufgetragenen Gallerte wurde die ihr proportionale Extinktion einer bei 1730 cm^{-1} liegenden mittelstarken Bande (ohne Polarisation) gemessen.

Die zur Bestimmung der Übergangsmomente untersuchten Banden sind ebenfalls mittelstark; ihre Maxima liegen bei den Wellenzahlen:

NH-Valenzbande 3292 cm^{-1} ; Amid I-Bande 1653 cm^{-1} ; Amid II-Bande 1549 cm^{-1} .

Tabelle 3. Meßwerte und Ergebnisse

Dehnungs- verhältnis	$\overline{\sin^2 \alpha}$	Schicht- dicke	Dichroitische Verhältnisse		
			NH-Valenz- Bande	Amid I- Bande	Amid II- Bande
Polymerisat A ($\overline{\text{MG}} \approx 250\ 000$)					
5.85	0.160	0.298	4.69	2.44	0.173
5.58	0.162	0.264	4.11	2.15	0.197
5.67	0.146	0.201	3.85	2.19	0.227
1.61	0.558	0.532	1.04	1.01	0.977
6.63	0.095	0.055	7.23	3.61	0.088
5.99	0.179	0.419	4.17	2.57	0.219
	Winkel Θ		25.5°	37.1°	82.8°
Polymerisat B ($\overline{\text{MG}} \approx 230\ 000$)					
3.69	0.304	0.136	2.86	1.82	0.277
5.37	0.187	0.104	3.25	2.74	0.216
3.62	0.360	0.210	2.36	1.28	0.410
3.39	0.408	0.262	2.40	1.63	0.495
3.51	0.449	0.377	1.93	1.17	0.507
3.51	0.432	0.333	2.24	1.54	0.499
	Winkel Θ		27.9°	37.7°	90.0°
Polymerisat C ($\overline{\text{MG}} \approx 140\ 000$)					
5.02	0.176	0.151	4.08	2.48	0.244
5.77	0.234	0.444	3.39	1.83	0.326
5.17	0.209	0.271	3.77	2.10	0.211
4.17	0.251	0.242	3.87	2.23	0.180
4.25	0.346	0.572	2.95	1.46	0.300
4.55	0.187	0.123	4.45	2.92	0.199
	Winkel Θ		25.3°	37.6°	85.9°

Es wurden von jedem der drei Polymerisate sechs Proben hergestellt und gemessen. Die Meßwerte und die Ergebnisse der Auswertung sind in Tab. 3 angeführt.

Die Gallerten zeigten keinen Dichroismus, wenn die Trägerfolie nicht gedehnt worden war. Durch das Aufstreichen allein konnte also keine Orientierung erzielt werden.

Die für die drei Polymerisate gefundenen Richtungen der Übergangsmomente zeigen untereinander gute Übereinstimmung. Ein Einfluß des Polymerisationsgrades war theoretisch nicht zu erwarten und ist auch nicht beobachtet worden.

Überraschend ist die ausgezeichnete Übereinstimmung der Werte des Winkels Θ zwischen Helix-Achse und Richtung des Übergangsmomentes mit den von Acetanilid auf das Polypeptid übertragenen Werten. In Tab. 4 werden zum Vergleich die aus den Ergebnissen für die drei Polymerisate gebildeten Mittelwerte und die berechneten Werte zusammengestellt.

Tabelle 4. Vergleich der berechneten und der gefundenen Θ -Werte

	NH-Valenz- Schwingung	Amid I- Schwingung	Amid II- Schwingung
gefundene Mittelwerte* von Θ	$(26,0 \pm 0,8^\circ)$	$(37,4 \pm 0,2^\circ)$	$(85,2 \pm 2,0^\circ)$
berechnete Θ -Werte	$26,4^\circ$	$(36,4 \pm 2^\circ)$	$86,4^\circ$

Die angewandte Methode zur Orientierung von Makromolekülen und das Auswertungsverfahren scheinen zumindest für die Bestimmung der Richtung von Übergangsmomenten an Polypeptiden mit Helix-Struktur gut anwendbar zu sein. Es wäre interessant, ihre Eignung zur Untersuchung anderer Polymerisate zu prüfen.

Das für die Arbeit verwendete IR-Spektrometer samt Polarisations-einrichtung wurde in dankenswerter Weise vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung zur Verfügung gestellt.

* Bei der Mittelwertbildung wurde berücksichtigt, daß aus einer Meßreihe die Winkel Θ um so genauer ermittelt werden können, je größer die Orientierung der Proben ist. Es diente daher die Größe $\overline{\cos^2 \alpha} - \frac{1}{2} \overline{\sin^2 \alpha}$ als „Gewicht“.