

## Das rheologische Verhalten der gebogenen $\alpha$ -Helix

Polybenzyl-L-glutamat in *m*-Kresol\*\*

Josef Schurz\*, Erich Gruber\*\*\* und Maria Beleggratis

Institut für Physikalische Chemie, Universität Graz, A-8010 Graz, Österreich

(Eingegangen 5. Dezember 1980. Angenommen 16. Dezember 1980)

*Rheological Properties of the Bent  $\alpha$ -Helix. Polybenzyl-L-glutamate in *m*-Cresol*

Intrinsic viscosity and its shear dependence of polybenzyl-L-glutamat in *m*-cresol suggest a slightly bent  $\alpha$ -helix. Axis ratio and rotational diffusion constant of the envelopping cylinder are determined and the length of the helix calculated, which leads to the correct molecular weight. The amount of solvated and hydrodynamically immobilized water is estimated.

(*Keywords:  $\alpha$ -Helix; Polybenzyl-L-glutamate; Rheological properties*)

### Einleitung

Die Grenzviskositätszahl (*GVZ*)  $[\eta]$  ist ein wichtiger Parameter zur Charakterisierung von gelösten Polymeren. Seit durch Einführung der Mikroviskosimeter diese Größe und ihre Scherabhängigkeit an sehr geringen Probenmengen (0,1 ml) ermittelt werden können, sind auch Messungen an Biopolymeren möglich, die nur in sehr geringen Mengen zur Verfügung stehen. Durch Vergleich mit der viskosimetrisch-äquivalenten Kugel bzw. dem viskosimetrisch-äquivalenten Rotationsellipsoid, für die theoretische Modellrechnungen vorliegen, können Hinweise über die Struktur der gelösten Teilchen erhalten werden.

Die *GVZ* stellt das hydrodynamisch wirksame spezifische Volumen der gelösten Substanz dar. Für die Kugel und das Rotationsellipsoid kann sie, bezogen auf die Volumskonzentration, berechnet werden. Diese sogenannte Volumsgrenzviskositätszahl  $[\eta]_{\phi}$  ist das viskosimetrisch wirksame Volumen bezogen auf das Eigenvolumen der Substanz, sie hängt vom Achsenverhältnis des Rotationsellipsoids ab (Grenzwert

\*\* Herrn Prof. Dr. G. Zigeuner zum 60. Geburtstag gewidmet.

\*\*\* Neue Adresse: RESART-IHM AG, Mainz, BRD.

für Kugel: 2,5) und vom Geschwindigkeitsgefälle. Das hydrodynamisch wirksame Volumen, also die Massen-Grenzviskositätszahl, setzt sich somit aus einem geometrischen Faktor (der Volumsgrenzviskositätszahl) und einem Volumsfaktor zusammen:

$$[\eta] = [\eta]_{\varphi} \cdot v_{\bar{a}}$$

Hier stellt  $v_{\bar{a}}$  das viskosimetrisch wirksame spezifische Volumen des äquivalenten Ellipsoides dar; es enthält den Geometriefaktor nicht mehr. Kennen wir  $[\eta]$  und  $[\eta]_{\varphi}$ , so können wir das viskosimetrisch wirksame spezifische Volumen des äquivalenten Ellipsoides  $v_{\bar{a}}$  sowie das spezifische Volumen der viskosimetrisch äquivalenten Kugel  $v_{\bar{a},K}$  errechnen; das Verhältnis dieser beiden Größen gibt die Abweichung von der Kugelgestalt an. Das Äquivalentvolumen des Ellipsoides  $v_{\bar{a}}$  setzt sich wiederum aus mehreren Bestandteilen zusammen, nämlich aus dem wirksamen partiellen spezifischen Volumen der Substanz selber, aus dem solvatisierten Lösungsmittel und aus dem hydrodynamisch immobilisierten Lösungsmittel.

### Experimentelles

Polybenzyl-L-glutamat (*PBLG*) liegt in stark polaren Lösungsmitteln wie Hydrazin oder Dichloressigsäure als Knäuel vor, dagegen in Dimethylformamid, Pyridin und *m*-Kresol als helixförmiges Stäbchen. Diese beiden Lösungsstrukturen ergeben natürlich ein völlig verschiedenes hydrodynamisches Verhalten. Die Substanz wurde von der Firma Schuchardt/München bezogen und in Dichloressigsäure sowie in *m*-Kresol gelöst. Die Viskositätsmessungen wurden bei 40°C in Mehrkugelviskosimetern durchgeführt, wodurch auch die Scherabhängigkeit erfaßt werden konnte. In *m*-Kresol wurde eine deutliche Scherabhängigkeit gefunden, in Dichloressigsäure dagegen keine.

### Ergebnisse

Die Ergebnisse der Messungen in *m*-Kresol sind zunächst in Form eines Netzdiagrammes<sup>1</sup> dargestellt, das eine Extrapolation sowohl auf das Geschwindigkeitsgefälle Null als auch auf die Konzentration Null erlaubt (Abb. 1). Aus diesem Diagramm können wir die Grenzviskositätszahl bei verschiedenen Werten des Geschwindigkeitsgefälles bestimmen. Für die Modellrechnungen am Rotationsellipsoiden liegt allerdings nur die Scherabhängigkeit der Volumsgrenzviskositätszahl vor<sup>2</sup>. Um dennoch unsere Meßwerte mit den theoretischen Kurven zu vergleichen, haben wir die relativen Grenzviskositätszahlen  $[\eta]/[\eta]_0$  (wobei  $[\eta]_0$  die Grenzviskositätszahl beim Geschwindigkeitsgefälle Null ist) gegen das Geschwindigkeitsgefälle bzw. den Parameter  $\alpha$  ( $\alpha = D/D_r$ )

aufgetragen und diese Auftragung mit der Modellrechnung verglichen. Wir nehmen also an  $v_{\bar{a}} \neq f(D)$ , und somit:

$$\frac{[\eta]}{[\eta]_0} = \frac{[\eta]_{\varphi}}{[\eta]_{\varphi,0}} = f(D) = f'(\alpha)$$

$\alpha = D/D_r$   $D$ : Geschwindigkeitsgefälle  
 $D_r$ : Rotationsdiffusionskonstante

Diese Näherung<sup>3</sup> setzt nur voraus, daß das viskosimetrisch wirk-same Äquivalentvolumen  $v_{\bar{a}}$  im untersuchten Bereich vom Geschwin-

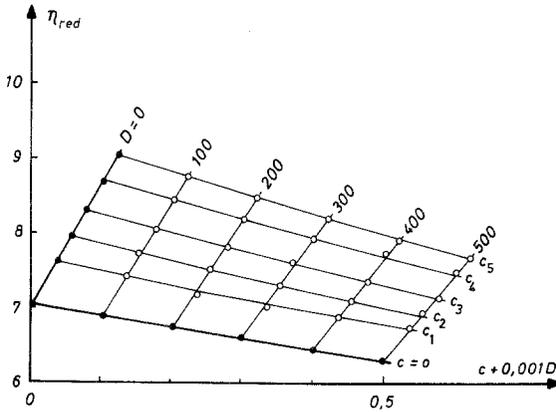


Abb. 1. Netzdiagramm für PBLG in *m*-Kresol bei 40 °C

digkeitsgefälle unabhängig ist. Der entsprechende Kurvenvergleich ist in der Abb. 2 dargestellt. Wir erhalten daraus 2 Parameter. Einerseits erhalten wir durch Auswahl der passenden Kurve das Achsenverhältnis  $p$ . Da die gerechneten Modellkurven als Funktion von  $\alpha = D/D_r$  angegeben sind, ist eine Abszissenverschiebung notwendig, um die Kurven anzupassen. Dadurch erhalten wir korrespondierende Werte von  $\alpha$  und  $D$ , aus denen wir die Rotationsdiffusionskonstante  $D_r$  ausrechnen können.

Die weitere Interpretation unserer Messung erfolgt nun in mehreren Schritten.

*Vorliegende experimentelle Daten*

In *m*-Kresol (40 °C):  $[\eta]_0 = 705$  ml/g,  $\bar{v}_2 = 0,788$  (bei 25 °C)<sup>4</sup>.

In Dichloressigsäure:  $[\eta]_0 = 172$  ml/g (40 °C).

*Kurvenvergleich (äquivalentes Ellipsoid)*

Der in Abb. 2 gezeigte Kurvenvergleich liefert:  $D_r = 200$  und  $p = 20$ . Aus  $p$  erhalten wir  $[\eta]_{\varphi,0} = 38,5$ . Nun können wir die Massen-GVZ und Volums-GVZ vergleichen und erhalten daraus das viskosimetrisch wirksame Äquivalentvolumen bzw. seinen Kehrwert, die viskosimetrisch wirksame Äquivalentdichte:

$$d_{\ddot{a}} = \frac{1}{v_{\ddot{a}}} = \frac{[\eta]_{\varphi,0}}{[\eta]_0} = 0,055; \quad v_{\ddot{a}} = 18,2$$

Weiters kann man für langgestreckte Teilchen mit einer Formel von

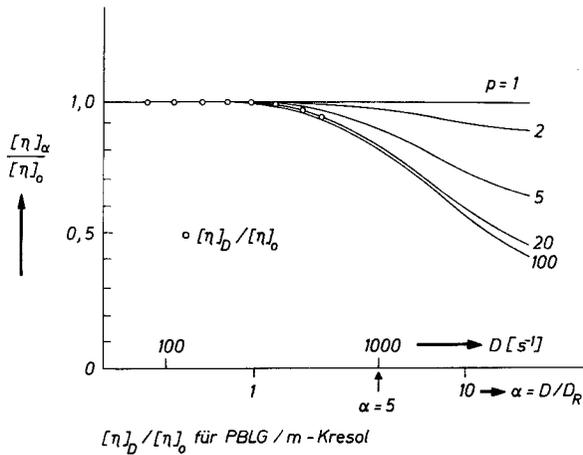


Abb. 2. Kurvenvergleich der Daten von Abb. 1 mit Modellkurven für prolate Rotationsellipsoide

*Perrin*<sup>5</sup> die lange Dimension bei Kenntnis von  $p$  und  $D_r$  absolut ausrechnen:

$$a^3 = \frac{3 kT}{16 \pi \eta_s D_r} (2 \ln p - 1)$$

$\eta_s$ : Viskosität des Lösungsmittels

$a$ : Lange Halbachse des Ellipsoides

Wir erhalten damit folgende Werte für die lange und kurze Halbachse  $a$  und  $b$ :

$$a = 1110 \text{ \AA} \qquad b = 55,5 \text{ \AA}$$

Die lange Halbachse erscheint vernünftig, die kurze dagegen viel zu groß, da man weiß, daß die  $\alpha$ -Helix einen Durchmesser von etwa 15 Å hat.

*Interpretation als gebogene  $\alpha$ -Helix*

Wegen der sehr geringen viskosimetrischen Äquivalentdichte und dem großen Wert der kurzen Halbachse haben wir unsere Meßresultate im Sinne einer gebogenen  $\alpha$ -Helix interpretiert, wie sie in der Abb. 3 schematisch dargestellt ist. Aus der Kenntnis der Daten des umhüllenden Zylinders können wir durch einfache geometrische Überlegungen auf die Helix selbst rückschließen<sup>3</sup>. Die  $\alpha$ -Helix hat eine Masse pro Längeneinheit  $m_e = 146$  und einen Durchmesser  $D = 15 \text{ \AA}$ . Daraus ergibt sich eine Helixdichte  $d_H = 0,826$ . Wenn wir nun unsere Meßwerte damit vergleichen wollen, so müssen wir zunächst das für das äquivalente Ellipsoid erhaltene Achsenverhältnis  $p_e$  auf den umhüllenden Zylinder umrechnen ( $p_z$ ). Setzen wir die Volumina von Zylinder und Ellipsoid gleich, so erhalten wir mit  $L = 2a$ :

$$p_z = \frac{p_e}{0,816} = 24$$

Überdies können wir aus der Kenntnis der Dichte der Helix  $d_H$  sowie aus den Dimensionen des umhüllenden Zylinders die Dichte dieses umhüllenden Zylinders  $d_z$  ausrechnen:

$$d_z = d_H \cdot q_H \cdot \frac{p_z^2}{a^2} = 0,068$$

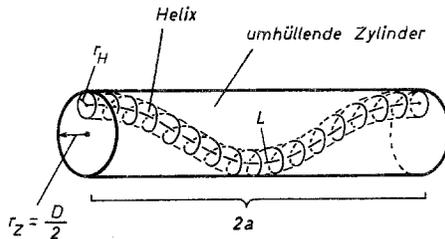


Abb. 3. Modell der gebogenen  $\alpha$ -Helix

Diese Dichte des umhüllenden Zylinders kann mit der Dichte des viskosimetrisch äquivalenten Ellipsoides verglichen werden, die wir zu 0,055 ermittelten. Im Hinblick auf den Näherungscharakter dieser Interpretationsmethode muß die Übereinstimmung als befriedigend bezeichnet werden. Weiterhin können wir aus der Länge des umhüllenden Zylinders die tatsächliche Helixlänge wiederum über eine geometrische Betrachtung ermitteln:

$$L = 2 \sqrt{\pi^2 b^2 + a^2} = 2250 \text{ \AA}$$

Für den Durchmesser des umhüllenden Zylinders  $D$  erhalten wir

$$D = \frac{L}{p_z} = 93,6 \text{ \AA}$$

Auch dieser Wert stimmt mit dem aus unserer Messung erhaltenen Wert für das Ellipsoid ( $2b = 111 \text{ \AA}$ ) im Rahmen unserer Messung befriedigend überein. Aus der Länge  $L$  der Helix können wir mit Hilfe der Masse pro Längeneinheit das Molekulargewicht der Gesamthelix errechnen:

$$M = L \cdot m_l = 3,28 \cdot 10^5$$

Diesen Wert des Molekulargewichtes können wir noch überprüfen. Für das Lösungsmittel Dichloressigsäure, in dem das Molekül als Knäuel vorliegt, hat Doty<sup>6</sup> für 25 °C einen Zusammenhang mit dem Molekulargewicht aufgestellt:

$$[\eta] = 2,78 \cdot 10^{-3} \cdot M^{0,78}$$

Mit dieser Formel errechnen wir für unseren Wert  $[\eta] = 172 \text{ ml/g}$   $M = 3,22 \cdot 10^5$ . Hier haben wir allerdings vernachlässigt, daß unsere Messung in DCA bei 40 °C erfolgte, während die obige Formel für 25 °C gilt. Der Fehler sollte jedoch nicht allzu groß sein, so daß die Übereinstimmung als sehr befriedigend angesehen werden kann.

### Diskussion

Mit dieser Darstellung wollten wir zeigen, daß eine struktur-rheologische Auswertung von Messungen an Biopolymeren als viskosimetrisch äquivalente Rotationsellipsoide durchaus zu vernünftigen Resultaten führt. Die Methode steht und fällt freilich mit der Präzision des Vergleiches der gemessenen Kurven mit den Modellrechnungen. Wie unsere Abb. 2 zeigt, sollten hier möglichst viele Meßpunkte vorliegen, in dieser Arbeit haben wir eindeutig zuwenig Meßpunkte verwendet (was hier erlaubt ist, da über diese viel untersuchte Modellsubstanz eine Menge zusätzlicher Informationen vorliegt). Im allgemeinen sollten sich die Messungen mindestens bis zu  $\alpha = 10$  erstrecken, also bis zu einem Geschwindigkeitsgefälle, das etwa 10mal so groß ist wie die Rotationsdiffusionskonstante. Da das erste Auftreten der Scherabhängigkeit der Grenzviskositätszahl ungefähr bei  $\alpha = 1$  erfolgt, kann nur auf diese Weise ein verlässlicher Kurvenvergleich sichergestellt werden. Das bedeutet nun freilich, daß insbesondere bei Substanzen mit größerem  $D_r$  die Messungen bis zu recht hohen Werten von  $D$  erfolgen müssen, was heute gerade bei Biopolymeren noch häufig auf experimentelle Schwierigkeiten stößt.

Weiters zeigen diese Resultate, daß offensichtlich die Interpretation als verbogene Helix zutreffend ist. Dieses Modell wurde schon mehrfach vorgeschlagen, insbesondere auch aus Lichtstreuungsmessungen, wobei die Krümmung der Helix manchmal mit einer „zweiten Persistenzlänge“ beschrieben wurde<sup>7</sup>.

Zuletzt sollen noch einige Betrachtungen über die Größe  $v_{\bar{a}}$  angestellt werden. Dieses hydrodynamisch wirksame spezifische Volumen des äquivalenten Ellipsoides (mit  $p = 20$ ) kann zunächst mit jenem der äquivalenten Kugel ( $p = 1$ ,  $[\eta]_{\varphi,0} = 2,5$ ) verglichen werden; der Quotient beider ist ein Maß für die Anisotropie des Teilchens, da der Kugelwert  $v_{\bar{a},K}$  durch den zusätzlichen Volumsbedarf des rotierenden Ellipsoides natürlich bedeutend erhöht wird. Wir erhalten:

$$v_{\bar{a}} = \frac{[\eta]_0}{[\eta]_{\varphi,0}} = 18,2; \quad v_{\bar{a},K} = \frac{[\eta]_0}{2,5} = 282, \quad \frac{v_{\bar{a},K}}{v_{\bar{a}}} = 15,5$$

Der Quotient  $v_{\bar{a},K}/v_{\bar{a}}$  ist somit von der Größenordnung des Achsenverhältnisses.

Weiters wurde immer wieder versucht, aus  $v_{\bar{a}}$  die Solvation zu berechnen. Das ist nun leider exakt nicht möglich, bestenfalls kann man zu einer Abschätzung eines oberen Grenzwertes kommen, wenn man annimmt, daß die Anisotropie des Teilchens durch das äquivalente Ellipsoid völlig abgedeckt wurde. Die Größe  $v_{\bar{a}}$  setzt sich nämlich zusammen aus dem effektiven partiellen spezifischen Volumen der gelösten Substanz  $\bar{v}_2$ , dem Volumen des echt solvatisierten Lösungsmittels mit dem Anteil  $w_{1,s}$  (das möglicherweise kontrahiert ist und ein wirksames spezifisches Volumen  $\bar{v}'_1$  aufweist), und dem Volumen des mitgeführten (immobilisierten) Lösungsmittels mit dem spezifischen Volumen  $\bar{v}_1$ , dessen Anteil  $w_{1,i}$  sei (die Größen  $w$  sind als g LM/g gelöste Substanz definiert). Wir haben also:

$$v_{\bar{a}} = \bar{v}_2 + w_{1,s} \cdot \bar{v}'_1 + w_{1,i} \cdot \bar{v}_1$$

Eine direkte Berechnung von  $w_{1,s}$  ist nicht möglich. Zu einer Abschätzung gelangen wir, wenn wir die beiden Größen  $w$  zusammenfassen und zugleich  $\bar{v}'_1 = \bar{v}_1 = v_1 = 1/d_1$  setzen, so daß wir schreiben können:

$$w_{1,s} \bar{v}'_1 + w_{1,i} \bar{v}_1 = w \cdot v_1 = \frac{w}{d_1};$$

Die Größe  $\bar{v}_2$  wird man gewöhnlich durch Näherungsformeln aus Dichtmessungen erhalten, sie wird also durch das scheinbare spezifische Volumen  $\Phi_2$  ersetzt. Dann ist eine Errechnung von  $w$  möglich:

$$w = \frac{v_{\bar{a}} - \Phi_2}{v_1} = d_1 (v_{\bar{a}} - \Phi_2)$$

Wenden wir nun diese Formel auf die gebogene Helix (d. h. den umhüllenden Zylinder) an. Wir setzen für  $\bar{v}_2 \simeq \Phi_2$  den Literaturwert 0,788 ein. Die Dichte von *m*-Kresol bei 40 °C ist 1,0173 (bei 20 °C = 1,034). Wir erhalten somit

$$w = 1,0173 (18,2 - 0,788) = 17,7 \text{ g LM/g Gelöstes.}$$

Das heißt, die gelöste Substanz immobilisiert und solvatisiert insgesamt die 17,7fache Menge an Lösungsmittel, was für das Modell der gebogenen Helix nicht überraschend ist. Wir können aber auch  $w$  für die Helix selbst ausrechnen, wenn wir die echte Helixdichte, wie sie aus deren Dimensionen und der Masse pro Länge erhalten wird, einsetzen. Wir erhalten mit  $v_H = 1/d_H = 1,21$

$$w = 1,0173 (1,21 - 0,788) = 0,43 \text{ g LM/g Gelöstes.}$$

Die Helix ist somit recht kompakt gebaut und enthält nur wenig Lösungsmittel. Selbstverständlich sind die erhaltenen Zahlen im Sinne des früher Gesagten lediglich Abschätzungen und sollen nur dazu dienen, ein anschauliches Bild von den verwendeten Modellen zu geben. Sie dürfen nicht als echter Solvatationsgrad gewertet werden.

### Literatur

- <sup>1</sup> Schurz, J., Mh. Chem. **86**, 454 (1955).
- <sup>2</sup> Scheraga, H. A., J. Chem. Phys. **23**, 1526 (1955).
- <sup>3</sup> Gruber, E., Schurz, J., Mh. Chem. **105**, 775 (1974).
- <sup>4</sup> Luzzati, V., Cesari, M., Spach, G., Masson, F., Vincent, J. M., J. Mol. Biol. **3**, 566 (1961).
- <sup>5</sup> Schurz, J., Struktur-Rheologie, Berliner Union 1974.
- <sup>6</sup> Doty, P., Bradbury, J. H., Holtzer, A. M., J. Amer. Chem. Soc. **78**, 947 (1956).
- <sup>7</sup> Schurz, J., Gruber, E., Makromol. Chem. **128**, 102 (1969).