

FTIR-Spektroskopische Untersuchungen zur Hydrathülle von methylierten Cyclodextrinen

**Inauguraldissertation zur Erlangung
des akademischen Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
(Dr. rer. nat.)**

**vorgelegt dem
Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin**

**von
Dipl.-Phys. Stefan Lättig
aus Berlin**

Berlin 2006

Diese Arbeit wurde in den Jahren 2000 bis 2003 in der Arbeitsgruppe Biopolymerspektroskopie (Leiter: Prof. Dr. Heinz Welfle) am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch angefertigt und 2005/2006 fertig gestellt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Heinz Welfle
2. Gutachter: Prof. Dr. Wolfram Saenger

Eingereicht am: 18. Juli 2006

Tag der mündlichen Prüfung am: 20. November 2006

Zusammenfassung

Bei einem in Wasser gelösten Stoff reagieren die Wassermoleküle in der unmittelbaren Umgebung dieses Solut durch Umstrukturierung ihres über Wasserstoffbrücken gebundenen Netzwerks. Dadurch unterscheidet sich in dieser Umgebung die Anordnung der Wassermoleküle vom unbeeinflussten Bulkbereich des Wassers und spezifische Hydrathüllen um die Moleküle des gelösten Stoffes sind möglich. Diese Effekte spielen beim Vorgang des Lösens eine entscheidende Rolle.

Hydrophobe Moleküle sind wasserabstoßend, entsprechend schlecht in Wasser löslich und somit in wässrigen Lösungen meist aggregierend. Cyclodextrine sind ringförmige Polysaccharide, die als methylierte Derivate in wässriger Lösung trotz erhöhter Hydrophobizität eine gute Löslichkeit zeigen. Zudem sind Cyclodextrine als methylierte Verbindungen besser in kalten als in warmen Wasser löslich. Als mögliche Erklärung dafür wird eine besondere Hydrathüllenstruktur vermutet, die die Löslichkeit der methylierten Cyclodextrine fördert, aber bei höherer Temperatur zusammenbricht.

Infrarotspektroskopische Methoden sind geeignet, die sehr starken spektralen Eigenschaften von Wassermolekülen spezifisch zu untersuchen, wenn ultradünne IR-Zellen in den Messungen benutzt werden. Die Wasserbanden im FTIR-Spektrum wässriger Lösungen stammen von Wassermolekülen sowohl aus dem Bulkbereich als auch aus der unmittelbaren Umgebung der gelösten Stoffe. Daher mussten für die Untersuchung des Einflusses des Solut auf die Wassermoleküle seiner Umgebung, d. h. auf die Hydrathülle, die spektralen Beiträge des Bulkwassers eliminiert werden. Dazu wurde eine Messanordnung benutzt, bei der das FTIR-Spektrum der Lösung mit der reinen Wasserabsorption einer Referenzzelle korrigiert wurde. Für das resultierende Differenzspektrum der wässrigen Lösung wurde eine vollständige Kompensation der Bulkwasserabsorption angestrebt, so dass im Idealfall das FTIR-Spektrum der Hydrathülle gegeben war.

Es wurden korrigierte FTIR-Spektren der wässrigen Lösungen von β -Cyclodextrin und γ -Cyclodextrin sowie von den methylierten Derivaten Heptakis (2,6-di-*O*-methyl)- β -Cyclodextrin (DIMEB), Heptakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -Cyclodextrin (TRIMEB) und Octakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- γ -Cyclodextrin (TRIMEG) gemessen. Zum Vergleich wurden weitere Verbindungen (Glukose, Tetramethylglukose, $MgCl_2$, Dimethylsulfoxid und *n*-Methylamine) ebenfalls als wässrige Lösungen untersucht. Ergänzend wurden Absorptionsmessungen mit wasserfreien KBr-Presslingen durchgeführt.

Die korrigierten Wasserspektren der TRIMEG- und TRIMEB-Lösungen zeigten eindeutige Unterschiede zum reinen Wasserspektrum des Bulkbereichs. Die Änderungen zeigten sich deutlich im Spektralbereich der stärksten Wasserabsorptionen um 3400 cm^{-1} , der bei den Spektren der voll methylierten Cyclodextrine ausschließlich von den drei Grundscheidungsabsorptionen des Wassermoleküls (mit jeweils verschiedenen Anteilen abhängig vom Solut) geprägt wurde.

Zur Analyse wurden die korrigierten Wasserspektren um 3400 cm^{-1} in drei Schwingungsanteile mit jeweiligem Gauß-Profil zerlegt. Die drei Einzelkomponenten ließen sich der symmetrischen ν_1 und der asymmetrischen OH-Streckschwingung ν_3 sowie einem Oberton der Biegeschwingung $2\nu_2$ der H_2O -Moleküle zuordnen. Bei den korrigierten Lösungsspektren aller untersuchten Verbindungen waren die Peakmaxima der Einzelkomponenten gegenüber den Bulkwasserspektren zu kleineren Werten verschoben. Dies schien eine generelle Konsequenz des Solut-Effekts auf die Wasserstruktur zu sein.

Für die voll methylierten TRIMEB- und TRIMEG-Lösungen wurde beobachtet, dass der relative Anteil der fest tetraedrisch koordinierten Wassermoleküle in der Hydrathülle an der Streckschwingungsbande abgenommen hatte. Diese Abnahme wurde in beiden Fällen hauptsächlich durch den relativen Anteil frei schwingender H_2O -Moleküle ausgeglichen. Die hydrophoben Solutmoleküle stellen keine Bindungspartner für Wassermoleküle dar, was anscheinend nicht durch vermehrte Wasserstoffbrücken-Bildung zwischen den H_2O -Molekülen kompensiert wird. Ein Einfluss der Temperatur auf diesen Effekt wurde nicht beobachtet.

Die exakte Bestimmung des Schichtdickenverhältnisses der IR-Zellen und der Probenkonzentration war bei optimaler Kompensation des Bulkwasseranteils anhand der korrigierten Lösungsspektren möglich. Daraus konnte die Anzahl von rund 70 Wassermolekülen mit geänderten spektralen Eigenschaften pro Cyclodextrin-Molekül sowohl für die TRIMEG- als auch für die TRIMEB-Lösungen abgeleitet werden. Die Berechnung der Kontaktfläche des TRIMEG-Moleküls zeigte damit übereinstimmend, dass 70 Wassermoleküle fast genau eine monomolekulare Hydrathülle um das Makromolekül bilden können.

English Abstract

In aqueous solutions, the hydrogen-bonded network of water molecules is influenced in the close vicinity of the solute molecules. The arrangement of the water molecules around the solute molecules differs from that of the water molecules in the non-influenced bulk water, and specific hydration shells around the solute molecules are possible. Such effects play an important role in the process of solvation.

Hydrophobic molecules usually have a low solubility in water and tend to aggregate in aqueous solutions. Nevertheless, if cyclodextrins become methylated and thus more hydrophobic, they show good water solubility. Moreover methylated cyclodextrins are more soluble in cold than in warm water. A possible explanation for these phenomena refers to a particular hydration shell that enhances the solubility of methylated cyclodextrins at low temperatures and collapses at higher temperatures.

Infrared spectroscopy is suitable to investigate specifically the strong absorption of water molecules if ultrathin IR cells are used during the measurements. The water bands of the FTIR spectrum of aqueous solutions comprise contributions from both the bulk water part without any influence by the solute molecules and the water part in the direct surrounding of the solute and most probably changed in its structure. In order to study the influence of solute molecules on the water structure, the spectral contributions of bulk water had to be eliminated from the solution spectra. Hence we corrected the solution spectra during the measurements by subtracting the pure water absorption of a reference cell to obtain a complete compensation of the bulk water absorption. The intention was to measure corrected spectra with water bands solely derived from contributions of water molecules in the direct neighbourhood of the solute molecules, ideally representing spectral properties of the hydration shell.

Such corrected water solution FTIR spectra were measured for β -cyclodextrin, γ -cyclodextrin and their methylated derivatives heptakis (2,6-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (DIMEB), heptakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- β -cyclodextrin (TRIMEB) and octakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- γ -cyclodextrin (TRIMEG). Some other compounds in aqueous solution have been investigated for purposes of comparison (glucose, tetramethylglucose, $MgCl_2$, dimethyl sulfoxide und methylated ammonium chloride). Absorption measurements with waterfree KBr pellets completed the study.

The water bands of corrected TRIMEG and TRIMEB solution spectra showed significant differences compared to the spectrum of pure, bulk water. Clear differences were observed in the spectral region of the strongest water absorption at $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$, where the solution spectra of methylated cyclodextrins showed exclusively the three basic vibrational absorptions of water (each with a different proportion depending on the solute molecules).

To analyse the corrected aqueous solution spectra at around 3400 cm^{-1} we decomposed the water bands into three distinct vibration band components with Gaussian shape. These three components could be assigned to the symmetric ν_1 stretch vibration, the asymmetric ν_3 stretch vibration, and to an overtone $2\nu_2$ of the bending vibration of H_2O molecules. The peak maxima positions of the corrected solution spectra of all measured compounds shifted to lower values in comparison to the peak maxima positions of the bulk water spectrum. This seems to be a general consequence of the solute effects on the water structure.

The decomposition of the water stretch band of fully methylated TRIMEB and TRIMEG solution spectra revealed a decrease of the relative proportion of water molecules in fully tetrahedral coordination whereas a higher portion of water molecules freely vibrates. According to these findings it seems that the reduced binding of water molecules by hydrophobic molecules is not compensated by increased hydrogen bonding between water molecules. A temperature effect on this behaviour was not observed.

The exact determination of the IR cell thickness ratio and the sample concentration was possible for a given optimal compensation of the bulk water portion using the corrected solution spectra. Based on these data we determined a number of 70 water molecules with changed spectral properties per cyclodextrin both for TRIMEB and TRIMEG solutions. Concordantly, the calculation of the solvent accessible area of the TRIMEG molecule showed that 70 water molecules are able to form an almost monomolecular hydration shell around the solute.

Inhalt

1 Themenstellung	1
1.1 Motivation	1
1.2 Realisierung	2
1.3 Aufbau der Dissertation	3
2 Methyliertes Cyclodextrin in wässriger Lösung	5
2.1 Cyclodextrin : Chemie und Struktur	7
2.2 Wasser als Struktur gebendes Element	21
2.3 Spektroskopische Eigenschaften	35
3 Ausführung der Messung	49
3.1 Methoden und Messaufbauten	50
3.2 Zur Durchführung der Messung	59
3.3 Messvorhaben	66
4 Beschreibung der Ergebnisse	69
4.1 FTIR-Spektrum von Wasser	71
4.2 Messungen mit Gamma-Cyclodextrin-Derivaten	77
4.3 Untersuchung der Beta-Cyclodextrin-Derivate	90
4.4 Weitere untersuchte Verbindungen	97
4.5 Analytische Ausführungen	109
5 Diskussion	129
5.1 Das FTIR-Spektrum wässriger Lösungen	130
5.2 Änderungen der Streckschwingungsbande	132
5.3 Abschluss und Ausblick	138
6 Bibliographie	139
7 Anhang	148
7.1 Verzeichnisse	148
7.2 Inhaltsverzeichnis	155

