

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

ALESSANDRO BERTOLUZZA, CONCEZIO FAGNANO, MARIA ANTONIETTA MORELLI, MARIA RAFFAELLA TOSI

**Contributo allo studio sulle correlazioni fra struttura e proprietà di composti di interesse biologico. Nota V. Spettri Raman e ultrarossi della dichetopiperazina (2,5—piperazindione) e spettri Raman della soluzione acquosa satura e di sue soluzioni acquose acide**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 62 (1977), n.3, p. 365–372.*  
Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1977\\_8\\_62\\_3\\_365\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1977_8_62_3_365_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Chimica.** — *Contributo allo studio sulle correlazioni fra struttura e proprietà di composti di interesse biologico. Nota V. Spettri Raman e ultrasuoni della dichetopiperazina (2,5-piperazindione) e spettri Raman della soluzione acquosa satura e di sue soluzioni acquose acide.* Nota di ALESSANDRO BERTOLUZZA (\*), CONCEZIO FAGNANO (\*\*), MARIA ANTONIETTA MORELLI (\*\*\*) e MARIA RAFFAELLA TOSI (\*\*\*\*), presentata (\*\*\*\*) dal Socio G. B. BONINO.

SUMMARY. — In previous vibrational researches, we have studied the behaviour of the peptide group in various environments.

Now, infrared and Raman spectra of crystalline diketopiperazine and Raman spectra of its saturated aqueous and aqueous acid (in 6 and 12 N HCl) solutions are reported and discussed.

Raman spectra of this cyclic dipeptide are not reported in the literature. A substantial modification is observed in the Raman spectra going from crystalline form to solution, and it is attributed to intermolecular hydrogen bond perturbations. Particularly,  $\nu\text{CO}$  band intensity in the spectra of aqueous acid solutions decreases as acid concentration increases.

At the same time, at a higher wave number, a new component appears, which intensifies as solution acidity increases.

Such a new band is attributed to stretching vibration  $\nu\text{CO}$  of protonated diketopiperazine molecules. The result agrees with previously discussed work about protonated acetamide.

Questa Nota fa parte di un programma di ricerca vibrazionale Raman laser e ultrasuoni più vasto riguardante il comportamento del gruppo  $-\text{C}-\text{N}-$  tipico dei polipeptidi, in ambienti vari.



In precedenti Note [1-3] abbiamo esaminato gli spettri Raman e u.r. dell'acetamide  $\text{CH}_3\text{CONH}_2$ , del suo emicloridrato  $(\text{CH}_3\text{CONH}_2)_2 \cdot \text{HCl}$  e quelli Raman di soluzioni acquose e acquose acide di acetamide.

Sulla base delle nostre misure abbiamo potuto avvalorare l'ipotesi che il protone si attacca al gruppo ammidico attraverso l'ossigeno carbonilico, formando uno ione « ossonio », piuttosto che attraverso l'azoto, per formare uno ione « ammonio ».

In questa Nota verranno discussi gli spettri Raman e u.r. della dichetopiperazina e quelli Raman della sua soluzione acquosa satura e di sue soluzioni acquose acide.

La dichetopiperazina costituisce un caso semplice di polipeptide ciclico.

(\*) Cattedra di Chimica della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Bologna.

(\*\*) Centro Studio per la Spettroscopia Raman dell'Università di Bologna.

(\*\*\*) Centro Studi di Chimica e Chimica fisica applicata alle caratteristiche di impiego dei materiali.

(\*\*\*\*) Nella seduta del 12 marzo 1977.

## PARTE SPERIMENTALE

La dichetopiperazina è stata preparata secondo H. F. Schott *et al.* [4].

Per ottenere i campioni destinati all'indagine spettroscopica Raman laser si è proceduto a ricristallizzazioni successive con carbone decolorante attivo (Merck) allo scopo di eliminare una fortissima banda di fluorescenza che impediva la registrazione dello spettro.

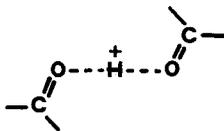
Gli spettri Raman della dichetopiperazina cristallina, della soluzione acquosa satura e di sue soluzioni acquose acide (in HCl 6 e 12 N) sono stati registrati utilizzando uno spettrometro Cary mod. 81 con sorgente eccitatrice ad Ar<sup>+</sup> (riga eccitatrice a 4880 Å).

Le soluzioni acquose acide sono state preparate sciogliendo la stessa quantità di dichetopiperazina in uno stesso volume di soluzione acquosa variamente concentrata in HCl (6 e 12 N).

Gli spettri u.r. del solido sono stati eseguiti con uno spettrometro Perkin Elmer mod. 225, tra 4000 e 200 cm<sup>-1</sup>.

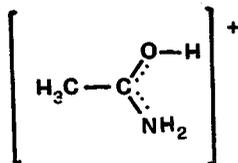
## DISCUSSIONE

In una precedente indagine [1], studiando lo spettro Raman e u.r. dell'emicloridrato di acetamide si è dedotto come il protone si leghi a ponte fra gli atomi di ossigeno di due molecole di acetamide formando lo ione (I)



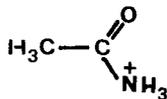
(I)

caratterizzato da legami di idrogeno O---H<sup>+</sup>---O di ugual « forza ». In una successiva indagine [2, 3], esaminando gli spettri Raman di soluzioni acquose acide di acetamide, si è potuto evidenziare la formazione di uno ione ossonio (II)



(II)

piuttosto che di uno ione ammonio (III)



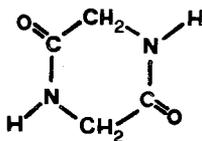
(III)

In particolare si osservava al crescere della acidità un indebolimento della banda attribuibile alla oscillazione  $\nu\text{CO}$  della acetamide e la comparsa, verso i più alti numeri d'onda, di una nuova banda che andava via via intensificandosi. Tale nuova banda è stata da noi attribuita alla oscillazione antisimmetrica di valenza  $\nu\text{N}\cdots\text{C}\cdots\text{O}$  (accoppiata con quella di deformazione  $\delta\text{OH}$ ) di uno ione ossonio (II). Avvalorava l'ipotesi la presenza di una analoga banda nello spettro Raman del cloridrato di acetamide  $\text{CH}_3\text{CONH}_2 \cdot \text{HCl}$  in soluzione acquosa acida, nonché nello spettro Raman di una soluzione acquosa di acido acetico in  $\text{HCl}$  12 N.

Contemporaneamente, sempre all'aumentare della acidità della soluzione, si osservava un forte indebolimento, fino a scomparsa, della banda a  $1405\text{ cm}^{-1}$  nello spettro Raman dell'acetamide attribuita alla vibrazione di valenza  $\nu\text{CN}$ , e la comparsa di una nuova banda che nello spettro Raman della soluzione più acida veniva a cadere a  $1495\text{ cm}^{-1}$  e che è stata da noi attribuita alla oscillazione simmetrica di valenza  $\nu\text{N}\cdots\text{C}\cdots\text{O}$  di uno ione ossonio (II).

Inoltre compariva a  $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$  una nuova banda attribuibile alla oscillazione  $\delta\text{OH}$ . Da notare che questo ultimo modo di vibrazione risulta fortemente accoppiato con quello antisimmetrico di valenza  $\nu\text{N}\cdots\text{C}\cdots\text{O}$  e che questo accoppiamento contribuisce all'innalzamento della frequenza del gruppo carbonilico della specie protonata.

Si è voluto, in questa Nota, estendere le misure Raman al più semplice polipeptide ciclico, la dichetopiperazina (IV)



(IV)

studiando lo spettro Raman e u.r. del composto cristallino e quelli Raman della soluzione acquosa satura e delle soluzioni acquose acide in  $\text{HCl}$  6 e 12 N.

In fig. 1 vengono riportati gli spettri Raman della dichetopiperazina, della sua soluzione acquosa satura e delle soluzioni acquose acide in  $\text{HCl}$  6 e 12 N; in Tabella I vengono riportati gli spettri u.r. e Raman della dicheto-

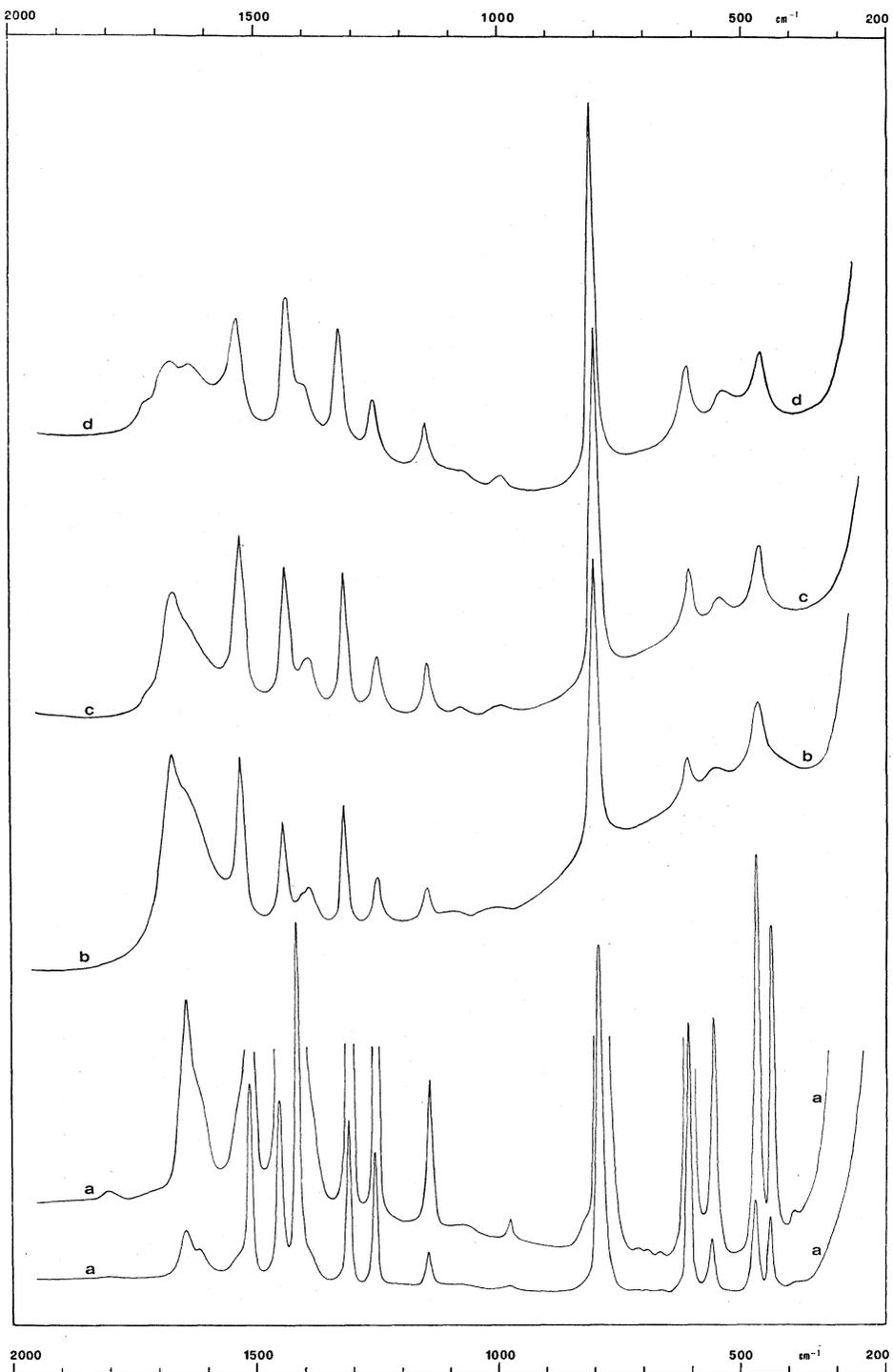


Fig. 1. - Spettri Raman di: *a*) dichetopiperazina, cristallina in diverse condizioni di amplificazione; *b*) dichetopiperazina, soluzione acquosa satura; *c*) dichetopiperazina, soluzione acquosa acida in HCl 6 N; *d*) dichetopiperazina, soluzione acquosa acida in HCl 12 N.

piperazina cristallina; in Tabella II gli spettri Raman della soluzione acquosa satura e di soluzioni acquose acide di dichetopiperazina.

In letteratura non risulta noto alcuno spettro Raman della dichetopiperazina, né in forma cristallina, né in soluzione; è noto invece lo spettro u.r. del dipeptide ciclico cristallino [5-14]. Quello da noi ottenuto (Tabella I) coincide con quelli della letteratura.

Dalla Tabella I si può osservare come non sussista coincidenza fra i numeri d'onda delle bande più intense dello spettro Raman con quelle dello spettro u.r.

Se si considera che la dichetopiperazina cristallizza nel sistema monoclino secondo il gruppo spaziale  $C_{2h}^5$  [15] in cui le molecole interagiscono con legami di idrogeno mediamente forti formando aggregati molecolari centrosimmetrici, ne deriva che modi vibrazionali attivi in u.r. non sono attivi in Raman <sup>(1)</sup>.

Per quanto riguarda poi le assegnazioni vibrazionali, in letteratura non c'è perfetto accordo a questo proposito, e ciò è dovuto al fatto che le vibrazioni risultano fortemente accoppiate. In particolare, la banda carbonilica che cade a  $1700\text{ cm}^{-1}$  nello spettro u.r. della dichetopiperazina cristallina, e che può corrispondere alla banda Raman a  $1649\text{ cm}^{-1}$  <sup>(2)</sup>, risulta sufficientemente una vibrazione di gruppo.

L'attribuzione della banda Raman a  $1649\text{ cm}^{-1}$  a una prevalente componente carbonilica [14] trova conferma nello studio del comportamento degli spettri della soluzione acquosa satura e delle soluzioni acquose acide della dichetopiperazina.

Passando dalla dichetopiperazina solida alla sua soluzione acquosa satura si nota, infatti, come mostrato in fig. 1 e Tabella II, un primo innalzamento della frequenza carbonilica da  $1649$  a  $1673\text{ cm}^{-1}$ .

In soluzione acquosa acida, all'aumentare dell'acidità, si osserva un indebolimento dell'intensità di questa banda e, contemporaneamente, la comparsa, ai più alti numeri d'onda, di una nuova debole banda che va via via intensificandosi e che è localizzabile a  $1725\text{ cm}^{-1}$  nello spettro della soluzione 12 N in HCl.

In analogia con il comportamento spettroscopico da noi osservato per le soluzioni acquose acide di acetamide, si può attribuire la banda a  $1725\text{ cm}^{-1}$  alla vibrazione prevalentemente carbonilica della molecola protonata tramite l'ossigeno.

Nel caso della dichetopiperazina, non sono facilmente evidenziabili dagli spettri delle soluzioni acquose acide le modificazioni già osservate per altre

(1) Un più recente, dettagliato, studio roentgenografico [16] mostra come alla molecola, nel cristallo, competa la simmetria  $C_i$ .

(2) La diversità in numeri d'onda delle due bande può essere attribuita ad un certo grado di accoppiamento delle vibrazioni carboniliche, sia di tipo intramolecolare che di tipo intermolecolare, risultando l'accoppiamento antisimmetrico attivo in u.r. e quello simmetrico attivo in Raman.

TABELLA I

*Spettri Raman e u.r. di dichetopiperazina cristallina.*

Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	u.r. ( $\text{cm}^{-1}$ )	Raman ( $\text{cm}^{-1}$ )	u.r. ( $\text{cm}^{-1}$ )
3510 <i>dd</i>			
3320 <i>dd</i>	3325 <i>m</i>	1547 <i>fl</i>	1550 <i>dd, fl</i>
3215 <i>fl</i>		1518 <i>f</i>	1525 <i>dd, fl</i>
	3190 <i>f</i>		1484 <i>fl</i>
3161 <i>m</i>	3165 <i>f</i>		1471 <i>ff</i>
	3115 <i>fl</i>	1456 <i>f</i>	
3098 <i>dd</i>			1445 <i>f</i>
	3080 <i>fl</i>	1419 <i>ff</i>	1412 <i>d, fl</i>
3042 <i>dd</i>	3040 <i>f</i>	1385 <i>fl</i>	
3000 <i>fl</i>			1339 <i>f</i>
	2985 <i>f</i>	1313 <i>f</i>	
2957 <i>ff</i>		1260 <i>f</i>	1250 <i>m</i>
2930 <i>ff</i>	2925 <i>fl</i>		1215 <i>dd</i>
	2915 <i>f</i>	1147 <i>m</i>	1158 <i>dd</i>
2872 <i>fl</i>	2875 <i>f</i>		1115 <i>dd</i>
2833 <i>d</i>		1078 <i>dd, l</i>	1072 <i>f</i>
2810 <i>fl</i>		982 <i>dd</i>	996 <i>m</i>
	2783 <i>dd, fl</i>		913 <i>f</i>
2765 <i>fl</i>		830 <i>fl</i>	840 <i>f, l</i>
	2743 <i>d, fl</i>		807 <i>f</i>
2725 <i>dd</i>		796 <i>ff</i>	
2664 <i>dd</i>		773 <i>fl</i>	768 <i>dd, fl</i>
2630 <i>dd</i>	2640 <i>dd</i>	716 <i>dd</i>	
2568 <i>dd</i>		698 <i>dd</i>	
	2530 <i>dd</i>	672 <i>dd</i>	
2490 <i>dd</i>	2485 <i>dd</i>		623 <i>dd</i>
2415 <i>dd</i>		610 <i>f</i>	
	2260 <i>dd</i>	562 <i>m</i>	
	2225 <i>dd</i>		550 <i>dd</i>
2130 <i>dd</i>		473 <i>m</i>	
2085 <i>dd</i>		442 <i>m</i>	448 <i>ff</i>
1985 <i>dd</i>		393 <i>dd</i>	
	1950 <i>d</i>		344 <i>dd</i>
1810 <i>dd</i>	1805 <i>dd</i>		298 <i>dd</i>
1733 <i>dd</i>		234 <i>m</i>	
	1700 <i>ff</i>	160 <i>d</i>	
	1678 <i>f</i>	142 <i>m</i>	
1649 <i>m</i>		124 <i>m</i>	
1614 <i>d, fl</i>		103 <i>d</i>	
	1585 <i>dd, fl</i>	69 <i>ff</i>	
		51 <i>ff</i>	

*ff* = fortissimo; *f* = forte; *m* = media; *d* = debole; *dd* = debolissima; *fl* = flesso; *l* = larga.

bande dello spettro Raman dell'acetamide ( $\nu\text{CN}$ ,  $\delta\text{OH}$ ). Ciò probabilmente è dovuto al minor carattere di vibrazione di gruppo assunto da queste vibrazioni nel caso della dichetopiperazina (come è anche deducibile dai risultati dell'analisi di coordinate normali e della distribuzione dell'energia potenziale della molecola [14]) e a un diverso grado di protonazione.

TABELLA II

*Spettri Raman di soluzioni di dichetopiperazina.*

Dichetopiperazina in $\text{H}_2\text{O}$ (soluz. satura) ( $\text{cm}^{-1}$ )	Dichetopiperazina in $\text{HCl}$ 6 N ( $\text{cm}^{-1}$ )	Dichetopiperazina in $\text{HCl}$ 12 N ( $\text{cm}^{-1}$ )
461 <i>m</i>	462 <i>m</i>	456 <i>m</i>
548 <i>d</i>	545 <i>d</i>	535 <i>d</i>
611 <i>m</i>	607 <i>m</i>	608 <i>m</i>
799 <i>ff</i>	800 <i>ff</i>	803 <i>ff</i>
1015 <i>dd</i>	1000 <i>dd</i>	992 <i>d</i>
1090 <i>dd</i>	1076 <i>dd</i>	1065 <i>dd</i>
1150 <i>m</i>	1147 <i>m</i>	1147 <i>m</i>
1248 <i>m</i>	1251 <i>m</i>	1253 <i>m</i>
1316 <i>f</i>	1320 <i>f</i>	1323 <i>f</i>
1391 <i>d</i>	1393 <i>d</i>	1390 <i>fl</i>
1410 <i>dd, fl</i>		
1443 <i>f</i>	1440 <i>f</i>	1429 <i>f</i>
1530 <i>f</i>	1533 <i>f</i>	1533 <i>f</i>
1638 <i>m, fl</i>	1640 <i>m, fl</i>	1626 <i>m</i>
1673 <i>f</i>	1672 <i>m</i>	1670 <i>m</i>
	1730 <i>fl</i>	1725 <i>d, fl</i>

*ff* = fortissima; *f* = forte; *m* = media; *d* = debole; *dd* = debolissima; *fl* = flesso;  
*l* = larga.

Merita infine osservare come lo spettro Raman della dichetopiperazina cristallina presenti notevoli differenze, sia per la posizione che per l'intensità di alcune di bande, da quello della dichetopiperazina in soluzione acquosa.

Riteniamo che ciò sia attribuibile, come altri Autori [5] avevano già osservato nella discussione dello spettro u.r. relativamente alle vibrazioni di valenza  $\nu_{\text{NH}}$ , all'esistenza nel cristallo di forti perturbazioni intermolecolari comportate dai legami di idrogeno  $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$  di media forza e all'accoppiamento fra modi di vibrazioni molecolari e quelli reticolari.

In soluzione si verrebbe a realizzare un diverso grado di interazione intermolecolare, come suggerito da studi calorimetrici di associazioni di dichetopiperazina in acqua [17], a cui può partecipare, probabilmente, anche l'acqua.

Ci riserviamo di riprendere questo argomento in uno studio spettroscopico vibrazionale più generale sulle modificazioni di legami di idrogeno intermolecolari nel passaggio dallo stato solido allo stato di soluzione acquosa.

Gli Autori ringraziano vivamente il prof. G. B. Bonino per i consigli e le discussioni riguardo alla presente ricerca, e il prof. G. Semerano, Direttore dell'Istituto Chimico «G. Ciamician», per aver messo a disposizione le apparecchiature necessarie.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1975) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 58, 919.
- [2] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1976) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », 60, 135.
- [3] A. BERTOLUZZA, C. FAGNANO, M. A. MORELLI e R. TOSI (1976) - V International Conference on Raman Spectroscopy, Freiburg 2-8 September, 1976.
- [4] H. F. SCHOTT, J. B. LARKIN, L. B. ROCKLAND e M. S. DUNN (1947) - « J. Org. Chem. », 12, 490.
- [5] R. NEWMAN e R. M. BADGER (1951) - « J. Chem. Phys. », 19, 1147.
- [6] T. SHIMANOUCI, K. KURATANI e S. MIZUSHIMA (1951) - « J. Chem. Phys. », 19, 1479.
- [7] T. MIYAZAWA (1960) - « J. Mol. Spectroscopy », 4, 155.
- [8] YU. N. CHIRGADZE (1963) - « Optika i Spektroskopiya », 2, 242.
- [9] K. FUKUSHIMA, Y. IDEGUCHI e T. MIYAZAWA (1964) - « Bull. Chem. Soc. Japan », 37, 349.
- [10] T. SHIMANOUCI e I. HARADA (1964) - « J. Chem. Phys. », 41, 2651.
- [11] A. CHEMIZARD e S. DAVID (1966) - « Bull. Soc. Chim. France », 184.
- [12] M. ASAI, K. NODA e A. SADO (1970) - « Ann. Sci. Kanazawa Univ. », 7, 63.
- [13] S. KARPLUS e S. LIFSON (1971) - « Biopolymers », 10, 1973.
- [14] M. ASAI, K. NODA e A. SADO (1974) - « Spectrochim. Acta », 30 A, 1147.
- [15] R. B. COREY (1938) - « J. Am. Chem. Soc. », 50, 1958.
- [16] R. DECEILH e R. E. MARSH (1959) - « Acta Crystallogr. », 12, 1007.
- [17] S. J. GILL e L. NOLL (1972) - « J. Phys. Chem. », 76, 3065.