

Kombinierte Flüssigkeits-NMR- und UV/Vis-Spektroskopie: Untersuchung der Struktur starker OH-O-H-Wasserstoffbrücken von Phenolen mit Carbonsäuren**

Peter M. Tolstoy,* Benjamin Koeppen, Gleb S. Denisov und Hans-Heinrich Limbach

Es gehört zum Standard bei der Aufklärung der Struktur organischer Substanzen, eine ganze Palette von komplementären Methoden, wie der NMR-, IR-, Raman- und UV/Vis-Spektroskopie und der Massenspektrometrie, einzusetzen.^[1] Die Experimente werden üblicherweise an unterschiedlichen Proben durchgeführt, die den speziellen Erfordernissen der jeweiligen Methode entsprechend präpariert werden.

Allerdings können unterschiedliche Proben eines bestimmten Systems eine unterschiedliche Zusammensetzung haben, was wiederum den Aggregationsgrad der enthaltenen Moleküle und damit deren Konformationen beeinflussen kann. Letztere sind abhängig vom Lösungsmittel und der Temperatur und nicht einfach zu analysieren. So können, um die Vergleichbarkeit der mit verschiedenen Techniken erhaltenen Spektren sicherzustellen, Messungen an derselben Probe unter identischen Bedingungen erforderlich sein. Zu diesem Zweck wurde die Kombination von verschiedenen spektroskopischen Methoden vorgeschlagen, z.B. von Raman-, UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie,^[2] von Röntgenphotoemissionsspektroskopie (XPS), Ultraviolettolektronenspektroskopie (UPS) und Flammenemissionsspektroskopie (FES)^[3] sowie von EPR-Spektroskopie, UV/Vis-Spektroskopie und Gaschromatographie (GC).^[4] Hunger und Mitarbeiter beschrieben eine Technik, die kombinierte Aufnahmen von UV/Vis- und MAS-NMR-Spektren (MAS = Rotation um den magischen Winkel) ermöglicht.^[5] Dies veranlasste uns, eine Kombination aus NMR- und UV/Vis-Spektroskopie (UVNMR) für flüssige Proben bei niedrigen Temperaturen zu entwickeln, die neue Einblicke in die Säure-Base-Chemie von Komplexen mit starken Wasserstoffbrücken in aprotischen Lösungsmitteln gibt. Solche Systeme sind sehr empfindlich im Hinblick auf Konzentrationen,^[6] Lösungsmittel^[7,9] und Temperatur.^[8,9] NMR-spektroskopische Messungen bei niedrigen Temperaturen haben den Vorteil, dass ein langsamer Austausch von Protonen zwischen wasserstoffbrückengebundenen Komplexen erreicht werden kann, wodurch sich deren NMR-spektroskopische Parameter

und damit Informationen über ihre Struktur erlangen lassen.^[10,11] Darüber hinaus ist es so möglich, den Einfluss der Polarität des Lösungsmittels zu untersuchen, die stark temperaturabhängig ist.^[12]

Der Nutzen der UVNMR-Methode soll in der Folge am Beispiel eines Phenol-Carboxylat-Komplexes in CD_2Cl_2 demonstriert werden. Dieses System wurde aus zwei Gründen gewählt: Erstens haben frühere UV/Vis-Untersuchungen gezeigt, dass die Lage der Absorptionsbanden von Phenolen von deren Protonierungszustand abhängt, und zwar sowohl in protischen^[13] wie auch in aprotischen Lösungsmitteln;^[14,15] allerdings konnten aus diesen UV/Vis-Messungen alleine keine Aussagen über die Struktur von Wasserstoffbrücken abgeleitet werden. Zweitens zeigen die UV/Vis-Spektren von Lösungen von Phenolen mit Basen im Allgemeinen breite, sich überlagernde Banden, die das Vorhandensein mehrerer Spezies in verschiedenen Wasserstoffbrücken- und Protonierungszuständen widerspiegeln.^[16–18] Hier zeigen wir, dass UVNMR es ermöglicht, Frequenzen elektronischer Anregung mit den chemischen Verschiebungen in NMR-Spektren zu korrelieren, die wiederum Informationen über die Struktur von Wasserstoffbrücken liefern können.

Ein ^1H - ^{13}C -NMR-Probenkopf (Bruker; für 5 mm-Röhrchen, TiefTemperatur) wurde mit einer Führung für das Einschieben einer optischen Reflexionssonde versehen. Diese optische Sonde ist eine speziell von Avantes (Eerbeek, Niederlande) angefertigte Modifikation der standardmäßig angebotenen Sonde mit 2.5-mm-Spitze, die sechs Glasfasern (je 200 μm) zur Lichtzuführung und eine Faser zur Rückführung enthält.

In Abbildung 1 ist schematisch der Bereich des modifizierten NMR-Probenkopfes, in dem die Messungen stattfinden, dargestellt. Die Spitze der optischen Sonde befindet sich mittig unterhalb des Bodens des Probenröhrchens. Die Lichtzuführung ist mit einer Halogen-Deuterium-Lichtquelle (Avantes) verbunden, und das in die Rückführung reflektierte Licht wird durch ein AvaSpec-2048-Spektrometer (240–800 nm) analysiert. Die Reflexion geeigneter Lichtmengen wird dadurch erreicht, dass sich ein Polytetrafluorethylen-(PTFE)-Einsatz im Probenröhrchen befindet, der nur eine dünne Schicht Lösung zwischen der inneren Glasoberfläche und der unteren Oberfläche des PTFE-Einsatzes übrig lässt (Schichtdicke 0.02–0.5 mm, je nach Form des Einsatzes; die „effektive“ optische Weglänge kann durch Messung einer Lösung mit bekannter optischer Dichte abgeschätzt werden). Die in dieser Arbeit verwendeten Einsatzes sind im Prinzip zylindrisch, aber an vier Seiten vertikal abgeflacht, um das Vorbeifließen von Probenlösung zu ermöglichen; die unteren

[*] Dr. P. M. Tolstoy, Dipl.-Chem. B. Koeppen, Prof. Dr. H.-H. Limbach
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: tolstoy@chemie.fu-berlin.de

Prof. Dr. G. S. Denisov
Institute of Physics, St. Petersburg State University
Ulianovskaja 1, 198504 St. Petersburg (Russland)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Russischen Stiftung für Grundlagenforschung (08-03-00615) unterstützt.

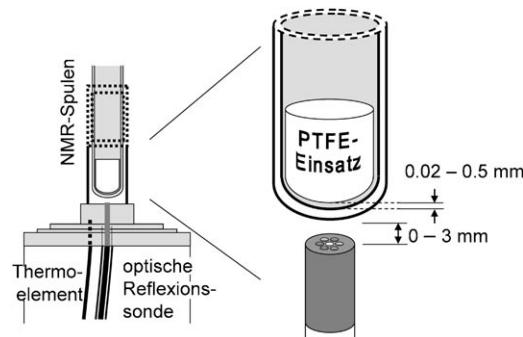


Abbildung 1. Schematischer Ausschnitt des NMR-Probenkopfes mit Probenröhren, der für kombinierte NMR- und UV/Vis-spektroskopische Messungen modifiziert wurde.

Oberflächen sind ähnlich zu den inneren Oberflächen der Probenröhren abgerundet. Es sei angemerkt, dass es, um eine konstante Schichtdicke zu erreichen, notwendig wäre, Probenröhren mit planem Boden und dazu geeignete Einsätze zu verwenden. Die Radiofrequenz(RF)-Spulen für die NMR-Experimente befinden sich oberhalb des PTFE-Einsatzes, sodass für diese Messungen das übliche Probenvolumen zur Verfügung steht. Im aktuellen Aufbau ermöglichen die verwendeten Glasfaserleitungen und die NMR-Probenröhren Messungen im Wellenlängenbereich von 200 bis 2000 nm. Allerdings müssten für Messungen im NIR-Bereich Änderungen am Reflexionsmaterial und am Spektrometer vorgenommen werden. Derzeit lassen sich noch keine Wellenlängen in der IR-Region erreichen. Um die Vorteile der UVNMR zu demonstrieren, haben wir Gemische aus 2-Chlor-4-nitrophenol (**1**), Tetraethylammonium-3-phenylpropionat (**2**) und 3-Phenylpropionsäure (**3**) in CD_2Cl_2 bei 175 K untersucht. Typische Ergebnisse der UVNMR sind im unteren Teil von Abbildung 2 dargestellt.

Probe A, die das Phenol **1** in einer Konzentration von etwa 1 mm enthält, zeigt kein Signal im Tieffeldbereich des ^1H -NMR-Spektrums. Man findet ein gut aufgelöstes Dublett bei $\delta = 7.1$ ppm (o-CH_- gekoppelt mit dem $m\text{-CH}_-$ Atom) und ein breiteres Singulett um $\delta = 6.6$ ppm (OH_-). Die Signale der $m\text{-CH}_-$ Atome bei $\delta = 7.8$ und 8.1 ppm sind nicht gezeigt. Das Maximum der UV/Vis-Absorptionsbande befindet sich bei 311 nm.

Probe B enthält 29 mm **2**. Der Phenylrest ergibt ein starkes Multiplett

zwischen $\delta = 7.1$ und 7.3 ppm, das auch in allen folgenden Proben auftritt und nicht weiter diskutiert wird. Kein Signal findet sich im Tieffeldbereich des ^1H -NMR-Spektrums, und es wird keine Absorption in der dargestellten UV/Wis-Region detektiert. Dies belegt 1) das Fehlen starker Wasserstoffbrücken und 2) die Transparenz des Carboxylats und des Genions zwischen 300 und 500 nm.

Probe C wurde aus Probe B durch Zugabe einer kleinen Menge von **1** erhalten. **1** wird dabei fast vollständig in das Phenolat **5** umgewandelt, wie das Erscheinen des o-CH_- -Signals bei $\delta = 6.2$ ppm zeigt. Solche Hochfeldverschiebungen der Signale der phenolischen o-CH_- und $p\text{-CH}_-$ Atome bei Deprotonierung der Hydroxygruppe wurden bereits bei einigen Systemen mit intramolekularen Wasserstoffbrücken gefunden.^[19] Die Deprotonierung wird durch das Absorptionsmaximum bei 430 nm angesichts der Tatsache bestätigt, dass **1** in Wasser bei niedrigem pH-Wert eine UV/Vis-Bande bei 315 nm, bei hohem pH-Wert aber eine Bande bei 400 nm

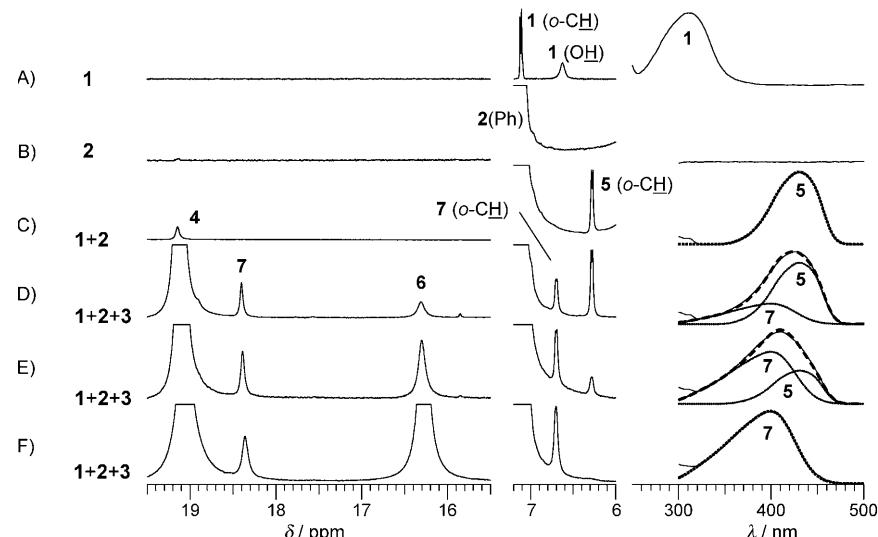
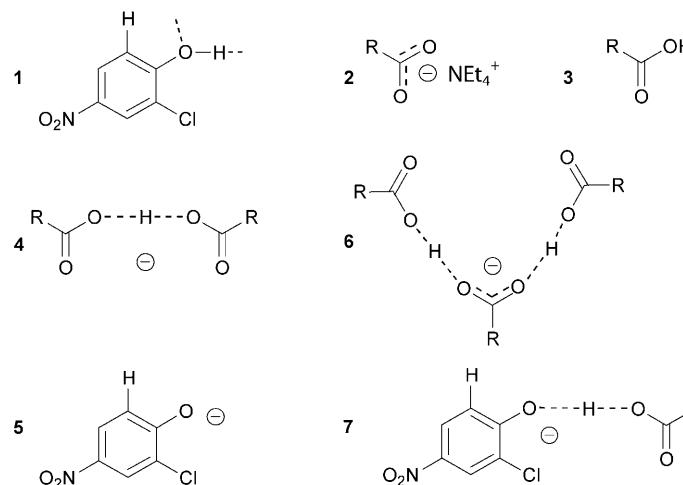


Abbildung 2. Kombinierte ^1H -NMR- und UV/Vis-Spektren von **1–3** in CD_2Cl_2 , aufgenommen bei 175 K; R = PhCH_2CH_2 . Jeweilige Konzentrationen von **1/2/3** in mm: A) 1:0:0; B) 0:29:0; C) 1:28:0; D) 1:23:17; E) 1:22:19; F) 1:21:23.

zeigt.^[20] Interessanterweise erscheint ein schwaches Signal bei $\delta = 19.1$ ppm, dessen Lage typisch für ein homokonjugiertes Carboxylat wie **4** ist, dessen Tieffeldverschiebung durch die Bildung einer sehr starken Wasserstoffbrücke zustande kommt.^[10]

Die Proben D–F wurden durch sukzessive Zugabe von **3** erhalten. Hauptsächlich bewirkt diese Zugabe eine starke Zunahme des Signals von **4**. Allerdings führt sie auch 1) zum Erscheinen und der Zunahme eines neuen Signals bei $\delta = 16.3$ ppm und 2) zum gleichzeitigen Erscheinen zweier Signale gleicher Intensität bei $\delta = 18.4$ und 6.7 ppm. Die Zuordnung des Signals bei $\delta = 16.3$ ppm ist einfach: Es ist charakteristisch für das zweifach protonenverbrückte Tricarboxylat **6**, dessen Essigsäure-Analogon bereits gefunden wurde.^[10b] Wir ordnen das Signal bei $\delta = 18.4$ ppm dem neuen Komplex **7** zu, der ebenfalls eine sehr starke Wasserstoffbrücke aufweist. Diese Zuordnung wird durch die Tatsache bestätigt, dass das Signal des *o*-CH-Atoms von **7** zwischen den entsprechenden Signalen von **1** und **5** erscheint. Dieses NMR-spektroskopische Ergebnis wird auch durch die UV/Vis-Spektren gestützt: Da **4** und **6** nicht zu diesen beitragen, bestehen die Spektren nur aus der Überlagerung der Banden von **5** und **7**. Im Fall von Probe F trägt nur **7** zum Spektrum bei. Die Beiträge beider Spezies zu den Spektren der Proben D und E wurden, wie in Abbildung 2 gezeigt, durch Linienformanalyse ermittelt, wobei die jeweiligen Bandenformen den Spektren von Probe C und F entnommen wurden. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die relativen Intensitäten beider Banden in den UV/Vis-Spektren nicht unbedingt das molare Verhältnis der beiden Spezies wiedergeben müssen, weil deren molare Extinktionskoeffizienten unterschiedlich sein können. NMR-Spektroskopie zeigt hingegen das tatsächliche Mengenverhältnis an.

Die Spektren in Abbildung 2 illustrieren bereits einen Vorteil der kombinierten UVNMR, nämlich die leichtere Verfolgung der Zusammensetzung eines Systems, die durch komplizierte Gleichgewichte bestimmt wird. Ein zweiter Vorteil besteht darin, dass sich anhand der Intensitäten der NMR-Signale relative integrierte Absorptionskoeffizienten ermitteln lassen. Darüber hinaus liefert UVNMR Informationen über die Struktur der Wasserstoffbrücke in **7**. Die NMR-Spektroskopie zeigt die Bildung einer sehr starken Wasserstoffbrücke. Allerdings ist es im Fall von OHO-Brücken schwierig, alleine mithilfe von NMR-Spektroskopie zu bestimmen, ob sich das H-Atom links oder rechts der Mitte der Brücke befindet oder ob ein schneller Protonentransfer zwischen zwei tautomeren Formen vorliegt.^[10a] Hierbei ist das UV/Vis-Spektrum hilfreich: Die elektronische Absorptionsbande von **7** befindet sich näher an der Bande des Anions **5** als an jener der Neutralform **1**. Dies lässt darauf schließen, dass sich das H-Atom in **7** im Mittel näher am Carboxylat befindet – im Gegensatz zu der Tatsache, dass die Carbonsäure **3** in Wasser stärker sauer reagiert als das Phenol **1**. Die Lage der UV/Vis-Absorptionsbande von **7** zwischen den Banden von **1** und **5** belegt einen Zusammenhang zwischen den elektronischen Absorptionsfrequenzen von Phenol-Carboxylat-Komplexen und der Struktur ihrer Wasserstoffbrücken. Darüber hinaus kann man mit der Kenntnis der Eigenschaften der beteiligten Spezies aus den NMR-Spek-

trokopiedaten die elektronische Bande von **7** genauer untersuchen, um Informationen über eine intrinsische Barriere oder eine Lösungsmittelbarriere für den Protonentransfer zu erhalten.^[21,22]

Der hier beschriebene Aufbau kann nützlich sein, wenn die Zusammensetzung eines Systems sehr empfindlich auf die Konzentrationen der wechselwirkenden Komponenten und auf die Temperatur reagiert, besonders in Systemen, in denen langsame chemische Reaktionen oder Photoreaktionen ablaufen.^[23] Die UVNMR könnte auch zum Verständnis des Zusammenhangs zwischen der Struktur von Wasserstoffbrücken und den optischen Eigenschaften des Chromophors in aktiven Zentren von Signalproteinen wie PYP beitragen.^[24]

Eingegangen am 18. Dezember 2008
Online veröffentlicht am 27. Mai 2009

Stichwörter: NMR-Spektroskopie · UV/Vis-Spektroskopie · Wasserstoffbrücken

- [1] Beispiele: a) E. Pretsch, P. Buehlmann, C. Affolter, *Structure Determination of Organic Compounds*, Springer, Berlin, **2003**; b) R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, Wiley, New York, **2005**; c) M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, Thieme, Stuttgart, New York, **1997**.
- [2] J. Noh, Y. D. Suh, Y. K. Park, S. M. Jin, S. H. Kim, S. I. Woo, *Rev. Sci. Instrum.* **2007**, 78, 072205.
- [3] H. Yamaguchi, T. Yamada, M. Kudo, Y. Takakuwa, K. Okano, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, 88, 202101.
- [4] A. Brückner, *Chem. Commun.* **2001**, 2122–2123.
- [5] M. Hunger, W. Wang, *Chem. Commun.* **2004**, 584–585.
- [6] Z. Dega-Szafran, A. Kania, M. Grundwald-Wyspianska, M. Szafran, E. Tykarska, *J. Mol. Struct.* **1996**, 381, 107–125.
- [7] J. D. Roberts, *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 889–896.
- [8] a) S. N. Smirnov, N. S. Golubev, G. S. Denisov, H. Benedict, P. Schah-Mohammedi, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 4094–4101; b) N. S. Golubev, I. G. Shenderovich, S. N. Smirnov, G. S. Denisov, H.-H. Limbach, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 492–497; c) H.-H. Limbach, M. Pietrzak, S. Sharif, P. M. Tolstoy, I. G. Shenderovich, S. N. Smirnov, N. S. Golubev, G. S. Denisov, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 5195–5204; d) M. Pietrzak, A. Try, B. Andrioletti, J. Sessler, P. Anzenbacher, H.-H. Limbach, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 1139–1142; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1123–1126.
- [9] a) N. S. Golubev, G. S. Denisov, S. N. Smirnov, D. N. Shchepkin, H.-H. Limbach, *Z. Phys. Chem.* **1996**, 196, 73–84; b) I. G. Shenderovich, A. P. Burtsev, G. S. Denisov, N. S. Golubev, H.-H. Limbach, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, 39, S91–S99.
- [10] a) P. Schah-Mohammedi, I. G. Shenderovich, C. Detering, H. H. Limbach, P. M. Tolstoy, S. N. Smirnov, G. S. Denisov, N. S. Golubev, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 12878–12879; b) P. M. Tolstoy, P. Schah-Mohammedi, S. N. Smirnov, N. S. Golubev, G. S. Denisov, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5621–5634; c) I. G. Shenderovich, P. M. Tolstoy, N. S. Golubev, S. N. Smirnov, G. S. Denisov, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11710–11720; d) I. G. Shenderovich, H. H. Limbach, S. N. Smirnov, P. M. Tolstoy, G. S. Denisov, N. S. Golubev, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, 4, 5488–5497.
- [11] N. S. Golubev, S. N. Smirnov, P. M. Tolstoy, S. Sharif, M. D. Toney, G. S. Denisov, H.-H. Limbach, *J. Mol. Struct.* **2007**, 844–845, 319–327.

- [12] S. Sharif, E. Fogle, M. D. Toney, G. S. Denisov, I. G. Shenderovich, P. M. Tolstoy, M. Chan Huot, G. Buntkowsky, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9558–9559.
- [13] G. Kortüm, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. A* **1941**, *74*, 409–416.
- [14] M. M. Kreevoy, T. M. Liang, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3315–3322.
- [15] H. Baba, A. Matsuyama, H. Kokubun, *Spectrochim. Acta Part A* **1969**, *25*, 1709–1722.
- [16] J. Magoński, *J. Phys. Org. Chem.* **2002**, *15*, 204–210.
- [17] R. Süttinger, F. Strohbusch, *Ber. Bunsen-Ges.* **1984**, *88*, 744–750.
- [18] M. Rospenk, L. Sobczyk, P. Schah-Mohammedi, H. H. Limbach, N. S. Golubev, S. M. Melikova, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, S81–S90.
- [19] a) K. F. Wong, S. Ng, *Spectrochim. Acta Part A* **1976**, *32*, 1671–1673; b) Y. Pei, L. Kong, X. Li, T. Zhu, *Bopuxue Zazhi* **1992**, *9*, 303–306.
- [20] H. N. Simpson, C. Kinney Hancock, E. A. Meyers, *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 2678–2683.
- [21] a) C. L. Perrin, J. S. Lau, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11820–11824; b) C. L. Perrin, J. B. Nielson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12734–12741.
- [22] S. Sharif, G. S. Denisov, M. D. Toney, H.-H. Limbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6313–6327.
- [23] Beispiel: K. M. Tait, J. A. Parkinson, D. I. Gibson, P. R. Richardson, W. J. Ebenezer, M. G. Hutchings, A. C. Jones, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 1010–1018.
- [24] a) S. Anderson, S. Crosson, K. Moffat, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2004**, *60*, 1008–1016; b) C. P. Joshi, B. Borucki, H. Otto, T. E. Meyer, M. A. Cusanovich, M. P. Heyn, *Biochemistry* **2005**, *44*, 656–665.