

SUMMARY

The nonapeptide H-Arg-Phe-Pro-Ser-Phe-Gly-Pro-Pro-Arg-OH with the reversed amino acid sequence of bradykinin has been synthesized according to the scheme outlined above. This peptide exerted no bradykinin activity at concentrations up to 10^{-5} .

Chemische Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

67. Lösungsmittelleffekte in kernmagnetischen Protonenresonanzspektren von substituierten Benzolen

von P. Diehl

(15. I. 62)

1. *Einleitung.* Es ist bekannt, dass Protonenresonanzspektren von gewissen aromatischen Molekeln stark konzentrations- und lösungsmittelabhängig sind, so z. B. verschiebt sich die Resonanz der Benzolprotonen bei «unendlicher» Verdünnung in Hexan um 0,34 ppm¹⁾ nach höherem Feld. Eine derartige Verschiebung kann durch die diamagnetische Anisotropie des Benzolrings, die sich bei fortschreitender Verdünnung immer weniger auswirkt, erklärt werden. Dagegen zeigen verschiedene Messungen von chemischen Verschiebungen aliphatischer Molekeln in aromatischen Lösungsmitteln²⁾ das Vorhandensein von spezifischen zwischenmolekularen Wechselwirkungen.

Eine erste systematische Untersuchung von Lösungsmittelleffekten in substituierten Benzolen wurde von SCHÄFER & SCHNEIDER³⁾ durchgeführt. Das Resultat war das folgende: In *p*-disubstituierten Benzolen werden die Ringprotonen allgemein im Lösungsmittel Aceton nach tieferem Feld, in Benzol nach höherem Feld verschoben. Dabei ist die Verschiebung von Protonen in *m*-Stellung zu polaren Substituenten grösser als in *o*-Stellung. Eine Erklärung dieser Resultate wurde sowohl in sterischen Effekten als auch in bevorzugter H-Brückenbindung in *m*-Stellung gesucht. Allgemein war es den Verfassern nicht möglich, die Lösungsmittelleffekte der individuellen Substituenten zu trennen, da sie sich auf *p*-disubstituierte Benzole mit verschiedenen Substituenten beschränkten.

Im Gegensatz zu den eher qualitativen Erklärungen der Substituenteneffekte in substituierten Benzolen³⁾ stellte BUCKINGHAM⁴⁾ eine elektrostatische Theorie auf, die quantitative Voraussagen ermöglicht. Der Inhalt seiner Theorie ist kurz zusammengefasst der folgende: Wenn eine polare Molekel in einem Medium gelöst wird, polarisiert sie ihre Umgebung; es entsteht nach ONSAGER⁵⁾ ein elektrisches Reaktions-

¹⁾ J. R. ZIMMERMANN & M. R. FOSTER, J. phys. Chemistry 67, 282 (1957).

²⁾ A. A. BOTHNER-BY & R. E. GLICK, J. chem. Physics 26, 1651 (1957); L. W. REEVES & W. G. SCHNEIDER, Canad. J. Chemistry 35, 251 (1957).

³⁾ T. SCHÄFER & W. G. SCHNEIDER, J. chem. Physics 32, 1218 (1960).

⁴⁾ A. D. BUCKINGHAM, Canad. J. Chemistry 38, 300 (1960).

⁵⁾ L. ONSAGER, J. Amer. chem. Soc. 58, 1486 (1936).

feld. Dieses polarisiert die Bindungen und es treten in den Kernresonanzspektren infolge der Ladungsverschiebungen Linienverschiebungen auf. Diese Effekte wachsen proportional einer Funktion der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels. Sie sind also z. B. in Aceton viel grösser als in Hexan. Ferner ist ihre Richtung in *o*- und *m*-Stellung von substituierten Benzolen entgegengesetzt, weil die Komponente des Reaktionsfeldes im einen Fall in Richtung der C-H-Bindung, im andern Fall entgegengesetzt verläuft.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, die Beiträge der individuellen Substituenten zu den Lösungsmittelleinflüssen von Aceton und Benzol auf substituierte Benzole zu messen, ihren Ursprung zu untersuchen und die für ihre Erklärung aufgestellten Theorien zu prüfen.

2. Die Additivität der Lösungsmittelleffekte in disubstituierten Benzolen. – 2. 1. *Para-disubstituierte Benzole*. In einer früheren Arbeit⁶⁾ wurde festgestellt, dass wegen der Kompliziertheit der Analyse von AB_2C_2 -Spektren eine Untersuchung von Substituenteneffekten in monosubstituierten Benzolen nicht in Frage kommt. Ebenso müssen wir beim Studium der Lösungsmittelleffekte auf die monosubstituierten Benzole verzichten. Hingegen besteht eine Möglichkeit, die Lösungsmittelleffekte der individuellen Substituenten zu messen, falls Lösungsmittelleffekte gleich wie Substituenteneffekte additiv sind. Additivität von Lösungsmittelleffekten bedeutet, dass es allgemein möglich sein soll, die chemischen Verschiebungen eines Protons, die beim Lösen einer Substanz in einem bestimmten Lösungsmittel auftreten, durch additive Zerlegung in Beiträge der Substituenten aufzuspalten. Die so erhaltenen Beiträge sollen typisch für die Substituenten und ihre Substitutionslage, sowie für das Lösungsmittel sein. Zum Beispiel bedeute $L_{o,X,Aceton}$ der Beitrag des Substituenten X zum Acetonlösungsmittelleffekt in *o*-Stellung zu X, wobei X ein beliebiger Substituent sein darf.

Die Hypothese der Additivität von Lösungsmittelleffekten muss durch Experimente bestätigt werden. Die beiden bis jetzt aufgestellten Lösungsmittelleffekttheorien^{3) 4)} deuten in beschränktem Mass auf Additivität hin. So z. B. finden SCHÄFER & SCHNEIDER, dass grosse Lösungsmittelleffekte immer in *m*-Stellung zu stark polaren Substituenten auftreten, und folglich Lösungsmittelleffekte substituenten-typisch sind. Die elektrostatische Lösungsmittelleffekttheorie lässt Additivität solange erwarten, als das totale Reaktionsfeld einer Molekel in die Beiträge der einzelnen Reaktionsfelder der Substituenten additiv zerlegt werden kann. Nach dieser Theorie sind Abweichungen von Additivität in *p*-disubstituierten Benzolen zu erwarten, da bei diesen das Quadrupolreaktionsfeld eine wesentliche Rolle spielt, während man auf Grund des linearen Superpositionsprinzips kein ONSAGER-Reaktionsfeld erhält.

Die einfachste Prüfung, ob Lösungsmittelleffekte in substituierten Benzolen additiv sind, ist durch die Analyse von A_2B_2 -Spektren der Molekeln *p*- C_6H_4XY , *p*- C_6H_4YZ und *p*- C_6H_4XZ möglich. Wir benützen die folgenden Bezeichnungen: δ sei allgemein eine chemische Verschiebung, im speziellen Fall, der jetzt diskutiert wird, bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan). $S_{o,X}$ ist die chemische Verschiebung, bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan), die ein Ringproton im Lösungsmittel Hexan dadurch erfährt, dass es sich in *o*-Stellung zum Substituenten X befindet. $L_{o,X,\alpha}$ bedeutet, wie

⁶⁾ P. DIEHL, *Helv.* 44, 829 (1961).

oben erwähnt, die Änderung der chemischen Verschiebung eines Ringprotons, das sich in *o*-Stellung zum Substituent X befindet beim Übergang vom Lösungsmittel Hexan zum Lösungsmittel α . Wir erhalten dann für die Molekel $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{XY}$ im Lösungsmittel α unter Voraussetzung der Additivität die folgenden Beziehungen:

Chemische Verschiebung des Protons in *o*-Stellung zu X:

$$\delta_{o,X,\alpha}^{XY} = S_{o,X} + S_{m,Y} + L_{o,X,\alpha} + L_{m,Y,\alpha} \quad \text{I}$$

Chemische Verschiebung des Protons in *o*-Stellung zu Y:

$$\delta_{o,Y,\alpha}^{XY} = S_{o,Y} + S_{m,X} + L_{o,Y,\alpha} + L_{m,X,\alpha} \quad \text{I}$$

Der Unterschied der chemischen Verschiebungen, welcher dem Spektrum leicht entnommen werden kann, ist gegeben durch:

$$\Delta_{\alpha}^{XY} = \delta_{o,X,\alpha}^{XY} - \delta_{o,Y,\alpha}^{XY} = S_{o,X} + S_{m,Y} - S_{o,Y} - S_{m,X} + L_{o,X,\alpha} + L_{m,Y,\alpha} - L_{o,Y,\alpha} - L_{m,X,\alpha} = \Delta^{XY} + \Delta L_{\alpha}^{XY} \quad \text{II}$$

Tabelle 1. Gemessene und berechnete Unterschiede der chemischen Verschiebungen von *p*-disubstituierten Benzolderivaten in den Lösungsmitteln Aceton und Benzol

Masseinheit: $10^{-8} = 1$ ppm (part per hundred million)

Konzentration: 5 Mol-%

Negatives Vorzeichen bedeutet, dass das Proton in *o*-Stellung zum Substituenten X bei tieferem Feld liegt

Substituent		$\Delta_{\text{Aceton}}^{XY}$		$\Delta_{\text{Benzol}}^{XY}$	
X	Y	gemessen	berechnet	gemessen	berechnet
Cl	F	-26	-25	-35	-34
Br	F	-45	-44	-55	-55
Br	Cl	-21	-20	-22	-20
J	F	-75	-78	-84	-88
J	Cl	-53	-51	-52	-52
J	Br	-33	-32	-31	-31
CH ₃	F	-19	-18	0	-3
CH ₃	Cl	+9	+6	+38	+37
CH ₃	Br	+27	+28	+59	+59
CH ₃	J	+60	+59	+92	+89
CN	F	-51	-43	-48	-39
CN	Cl	-17	-17	0	-4
CN	CH ₃	-25	-25	-42	-39
NO ₂	F	-90	-82	-124	-120
NO ₂	CH ₃	-63	-64	-119	-124
OCH ₃	F	+11	+9	+24	+25
OCH ₃	Br	+53	+57	+77	+80
NH ₂	F	+16	+9	+60	+59
NH ₂	Cl	+38	+34	+98	+92
NH ₂	Br	+56	+56		
NH ₂	J	+82	+89	+142	+148
OH	Cl	+33	+36	+72	+67
OH	Br	+51	+54	+90	+93
OH	CH ₃	+27	+24	+28	+33
NO ₂	Cl	-56	-55	-84	-82
OCH ₃	NO ₂	+109	+93	+159	+146
OH	NO ₂	+113	+90		
NO ₂	NH ₂	+130	+100		

Der Verschiebungsunterschied im Lösungsmittel α lässt sich in den Verschiebungsunterschied in Hexan Δ^{XY} und einen Lösungsmittelffekt ΔL_{α}^{XY} zerlegen, der ein «Zusammenrücken» oder «Auseinanderschieben» der Resonanzen bewirkt.

Durch Einsetzen der Indices X und Z, bzw. Y und Z an Stelle von X und Y, erhalten wir aus den obigen Gleichungen entsprechende Beziehungen für die Molekeln C_6H_4XZ und C_6H_4YZ . Aus diesen können wir, gleich wie bei der Untersuchung der Substituenteneffekte⁶⁾, die folgenden Beziehungen herleiten:

$$\Delta_{\alpha}^{XY} = \Delta^{XZ} - \Delta^{YZ} + \Delta L_{\alpha}^{XZ} - \Delta L_{\alpha}^{YZ} = \Delta_{\alpha}^{XZ} - \Delta_{\alpha}^{YZ}. \quad \text{III}$$

Sind also sowohl Substituenten- als auch Lösungsmittelfeffekte in substituierten Benzolen additiv, so ist unabhängig vom Lösungsmittel der Unterschied der chemischen Verschiebungen im A_2B_2 -Spektrum der Molekel $p\text{-}C_6H_4XY$ gleich der Differenz der Verschiebungsunterschiede in den A_2B_2 -Spektren der Molekel $p\text{-}C_6H_4XZ$ und $p\text{-}C_6H_4YZ$. Finden wir nun experimentell, dass diese Beziehung unabhängig vom Lösungsmittel erfüllt ist, so ist damit die Additivität der Lösungsmittelfeffekte bewiesen, da in einer früheren Arbeit⁶⁾ bereits gezeigt wurde, dass Substituenteneffekte im Lösungsmittel Hexan additiv sind.

In Tabelle 1 wird eine Zusammenstellung von gemessenen und berechneten Verschiebungsunterschieden in p -disubstituierten Benzolen in den Lösungsmitteln Aceton und Benzol gegeben. Die gerechneten Werte stellen Mittelwerte von verschiedenen Systemen mit je 3 Verbindungen dar. (Δ_{α}^{XY} lässt sich allgemein durch Differenzen der Form $\Delta_{\alpha}^{XP} - \Delta_{\alpha}^{YP}$ mit beliebigen Substituenten P berechnen.)

Die Tabelle 1 zeigt, dass im Lösungsmittel Aceton in 21 von 28 und in Benzol in 17 von 25 Fällen die berechneten Werte mit den gemessenen innerhalb der erwarteten Genauigkeit (± 3 ppm) übereinstimmen. Wesentliche Abweichungen treten dann auf, wenn zwischen den Substituenten mesomere Wechselwirkungen vorhanden sind, wie z. B. in p -Nitrophenol und p -Nitrilanilin. Allgemein sind also Lösungsmittelfeffekte in denjenigen Molekeln nicht additiv, welche auch eine Nichtadditivität der Substituenteneffekte⁶⁾ aufweisen.

Auf Grund der obigen Resultate können wir eine approximative Additivität der Lösungsmittelfeffekte in den Fällen Aceton und Benzol mit den erwähnten Einschränkungen als bewiesen ansehen.

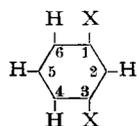
Es stellt sich nun das Problem der absoluten Messung der individuellen Lösungsmittelfeffekte. Aus der Beziehung

$$\delta_{o,X}^{XY} = S_{o,X} + S_{m,Y} + L_{o,X,\alpha} + L_{m,Y,\alpha}$$

ist ersichtlich, dass sich aus chemischen Verschiebungen von p -disubstituierten Benzolen keine individuellen Lösungsmittelfeffekte bestimmen lassen, da sich stets zwei L -Werte von verschiedenen Substituenten oder von verschiedenen Substitutionslagen des gleichen Substituenten überlagern. Hingegen folgt aus der Kenntnis des absoluten Werts eines einzigen Lösungsmittelfeffekts $L_{o,X,\alpha}$ und der chemischen Verschiebung $\delta_{o,X}^{XY}$ der Lösungsmittelfeffekt $L_{m,Y,\alpha}$, da wir die S -Werte in einer früheren Arbeit⁶⁾ bestimmt haben. Wie bei der Messung der Substituenteneffekte sind wir deshalb auch hier gezwungen, die Grösse $L_{o,X,\alpha}$ in einem m -disubstituierten Benzol zu bestimmen und durch Einsetzen des Wertes in chemische Verschiebungen von p -disubstituierten Benzolen sukzessive die weiteren L -Werte zu errechnen.

2.2. *m*-Disubstituierte Benzole. Eine experimentelle Prüfung der Additivitätshypothese muss auch im Fall der *m*-disubstituierten Benzole durchgeführt werden. Dies geschieht auf einfache Weise auf Grund der folgenden Beziehungen:

Chemische Verschiebungen:

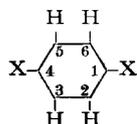


$$\delta_2 = 2S_{o,X} + 2L_{o,X,\alpha}$$

$$\delta_4 = \delta_6 = S_{o,X} + S_{p,X} + L_{o,X,\alpha} + L_{p,X,\alpha}$$

$$\delta_5 = 2S_{m,X} + 2L_{m,X,\alpha}$$

IV



$$\delta_2 = \delta_3 = \delta_5 = \delta_6 = \delta = S_{o,X} + S_{m,X} + L_{o,X,\alpha} + L_{m,X,\alpha}$$

V

Sind Lösungsmittelleffekte in *m*-disubstituierten Benzolen additiv, dann ist unabhängig vom Lösungsmittel die chemische Verschiebung der Ringprotonen in der Molekel *p*-C₆H₄X₂ gleich dem arithmetischen Mittel der chemischen Verschiebungen der 2- und 5-Protonen der Molekel *m*-C₆H₄X₂. Die Prüfung dieser Beziehung ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2. Chemische Verschiebung (in ppm) von Protonen in *m*- und *p*-disubstituierten Benzolen bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan)

Konzentration: 5 Mol-% in Aceton bzw. Benzol

Substituent X	Lösungsmittel Aceton		Lösungsmittel Benzol	
	<i>m</i> -C ₆ H ₄ X ₂ ($\delta_2 + \delta_5$)/2	<i>p</i> -C ₆ H ₄ X ₂ δ	<i>m</i> -C ₆ H ₄ X ₂ ($\delta_2 + \delta_5$)/2	<i>p</i> -C ₆ H ₄ X ₂ δ
Br	(- 59 - 13)/2 = - 36	- 35	(+ 10 + 116)/2 = + 63	+ 72
Cl	(- 26 - 20)/2 = - 23	- 21	[(+ 38 ± 12) + 104]/2 = + 71 ± 6	+ 80
OCH ₃	(+ 69 + 4)/2 = + 36,5	+ 33	(+ 106 + 51)/2 = + 78,5	+ 77
NO ₂	(- 173 - 84)/2 = - 128,5	- 130	(- 102 + 98)/2 = - 2	+ 2
CO ₂ CH ₃	(- 133 - 44)/2 = - 88,5	- 90	[- 131 + (38 ± 12)]/2 = - 46,5 ± 6	- 43
OH	(+ 89 + 19)/2 = + 54	+ 50		

Bei den Substituenten Cl und CO₂CH₃ sind Verschiebungsangaben mit dem Fehler ± 12 versehen, da die entsprechenden Protonenlinien unter der Resonanz des Lösungsmittels Benzol liegen.

Additivität der Lösungsmittelleffekte ist auf Grund der Angaben von Tabelle 2 also auch in *m*-disubstituierten Benzolen in guter Näherung vorhanden.

Wir können nun aus dem Spektrum des *m*-Dibrombenzols in den Lösungsmitteln Aceton und Benzol auf Grund unserer Kenntnis⁶⁾ der Substituenteneffekte die Lösungsmittelleffekte des Substituenten Br bestimmen. Die chemischen Verschiebungsdaten, sowie die mit Hilfe der Beziehung IV errechneten *L*-Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt. (Die zur Berechnung der Lösungsmittelleffekte verwendeten *S*-Werte sind der Tabelle 3 einer Arbeit über Substituenteneffekte⁶⁾ entnommen.)

2.3. Die Bestimmung der absoluten Lösungsmittelleffekte. Wie bereits erwähnt, lassen sich aus den *L*-Werten der Tabelle 3 und den Angaben über chemische Verschiebun-

gen von *p*-disubstituierten Benzolen in den Lösungsmitteln Aceton und Benzol, die in Tabelle 4 und 5 zusammengestellt werden, die *L*-Werte für beliebige Systeme berechnen. Man geht dabei folgendermassen vor: Aus den bekannten Grössen $S_{o,Br}$, $S_{m,Br}$, $S_{o,X}$, $S_{m,X}$, $L_{o,Br,\alpha}$ und $L_{m,Br,\alpha}$, sowie den chemischen Verschiebungen der 2- und 3-Protonen, erhält man in der Molekel *p*-Br, X-Benzol die Werte von $L_{o,X,\alpha}$ und $L_{m,X,\alpha}$, wobei X ein beliebiger Substituent sein darf. Weiter folgen aus den bekannten *L*- und *S*-Werten sowie den Angaben der Tabellen 4 und 5 die *L*-Werte von beliebigen Substituenten Y.

Tabelle 3. Chemische Verschiebungen und Lösungsmittelleffekte in 1,3-Dibrombenzol, bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan)

Konzentration: 5 Mol-% in Aceton bzw. Benzol; Einheit: 1 pphm

Gemessene Verschiebungen		Lösungsmittelleffekte	
in Aceton	in Benzol	in Aceton	in Benzol
$\delta_2 = -59$	$\delta_2 = +10$	$L_{o,Br} = -8$	$L_{o,Br} = +27$
$\delta_4 = \delta_6 = -40$	$\delta_4 = \delta_6 = +57$	$L_{p,Br} = -16$	$L_{p,Br} = +46$
$\delta_5 = -13$	$\delta_5 = +116$	$L_{m,Br} = -17$	$L_{m,Br} = +47$

Tabelle 4. Chemische Verschiebungen der Protonen von *p*-C₆H₄XY, bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan)

Konzentration: 5 Mol-% in Aceton; Einheit: 1 pphm

Substituenten		$\delta_{o,X}$	$\delta_{o,Y}$	Substituenten		$\delta_{o,X}$	$\delta_{o,Y}$
X	Y			X	Y		
F	F	+5	+5	J	J	-35	-35
F	Cl	-5	-31	J	CH ₃	-42	+18
F	Br	+7	-38	CH ₃	CH ₃	+13	+13
F	J	+8	-67	CH ₃	CN	-18	-43
F	CH ₃	+22	+3	CH ₃	NO ₂	-26	-89
F	CN	-19	-70	NO ₂	NO ₂	-130	-130
F	NO ₂	-21	-111	NO ₂	OCH ₃	-98	+11
F	OCH ₃	+18	+29	OCH ₃	OCH ₃	+33	+33
Cl	Cl	-21	-21	NH ₂	F	+47	+31
Cl	Br	-20	-41	NH ₂	Cl	+50	+12
Cl	J	-7	-60	NH ₂	Br	+47	-9
Cl	CH ₃	-6	+3	NH ₂	J	+58	-24
Cl	CN	-44	-61	NH ₂	NO ₂	+50	-80
Cl	NO ₂	-47	-113	Cl	OH	-3	+30
Br	Br	-35	-35	Br	OH	-18	+33
Br	J	-20	-53	CH ₃	OH	+26	+53
Br	CH ₃	-21	+6	NO ₂	OH	-94	+19
Br	OCH ₃	-24	+29	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	-90	-90

Es bleibt nun die Frage abzuklären, ob die so bestimmten *L*-Werte in einem Lösungsmittel typisch sind, allein für den Substituenten und die Substitutionslage, oder ob sie noch weitere Effekte additiv enthalten. Wie wir experimentell feststellen können, verschiebt sich die Resonanz der Ringprotonen von Benzol auch ohne Substituent beim Übergang vom Lösungsmittel Hexan nach Aceton um $13 \cdot 10^{-8}$ nach tieferem Feld und beim Übergang vom Lösungsmittel Hexan nach Benzol um $38 \cdot 10^{-8}$ nach

Tabelle 5. *Chemische Verschiebungen der Protonen in p-C₆H₄XY bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan)*

Konzentration: 5 Mol-% in Benzol; Einheit: 1 pphm

Substituenten		δ_o, X	δ_o, Y	Substituenten		δ_o, X	δ_o, Y
X	Y			X	Y		
F	F	+101	+101	Br	CH ₃	+34	+93
F	Cl	+100	+65	Br	OCH ₃	+37	+114
F	Br	+111	+56	J	J	+65	+65
F	J	+109	+25	J	CH ₃	+12	+104
F	CH ₃	+80	+80	CH ₃	CH ₃	+55	+55
F	CN	+106	+58	CH ₃	CN	+96	+54
F	NO ₂	+119	-5	CH ₃	NO ₂	+89	-30
F	OCH ₃	+69	+93	NO ₂	OCH ₃	-33	+126
Cl	Cl	+80	+80	OCH ₃	OCH ₃	+77	+77
Cl	Br	+76	+54	NH ₂	F	+142	+82
Cl	J	+87	+35	NH ₂	Cl	+157	+59
Cl	CH ₃	+48	+86	NH ₂	J	+159	+17
Cl	CN	+83	+83	Cl	OH	+65	+137
Cl	NO ₂	+5	+89	Br	OH	+51	+141
Br	Br	+72	+72	CH ₃	OH	+76	+104
Br	J	+72	+41	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	-43	-43

höherem Feld (Konzentration: 5 Mol-%, Suszeptibilität korrigiert). Wir wollen annehmen, dass der Einfluss des Lösungsmittels α , den wir mit $L_{H,\alpha}$ bezeichnen wollen, auf das nicht substituierte Benzol auch in substituierten Benzolen als Teil des totalen Lösungsmittelleffekts auftreten soll. Diese Hypothese lässt sich folgenderweise experimentell prüfen:

Der in Tabelle 3 bestimmte Lösungsmittelleffekt $L_{o, Br, Aceton} = -8$ wurde durch Division des totalen Lösungsmittelleffekts $2 L_{o, Br, Aceton}$ durch 2 erhalten (Beziehung IV). Ist nun aber $2 L_{o, Br, Aceton}$ eine zusammengesetzte Grösse der folgenden Art

$$2 L_{o, Br, Aceton} = 2 L'_{o, Br, Aceton} + L_{H, Aceton}, \quad \text{VI}$$

wie wir das vermuten, so erhalten wir für unser $L_{o, Br, Aceton}$ den Wert

$$L_{o, Br, Aceton} = L'_{o, Br, Aceton} + \frac{1}{2} L_{H, Aceton}. \quad \text{VII}$$

$L_{o, Br, Aceton}$ enthält also ausser dem gesuchten effektiven Lösungsmittelleffekt des Substituenten Br in *o*-Stellung $L'_{o, Br, Aceton}$ zusätzlich den halben Betrag der oben definierten Grösse $L_{H, Aceton}$.

Untersuchen wir als Beispiel den Acetonlösungsmittelleffekt im einfach substituierten Brombenzol, so erwarten wir in *o*-Stellung auf Grund unserer Hypothese einen Effekt der Grösse $L_{o, Br, Aceton} + L_{H, Aceton}$, der um $\frac{1}{2} L_{H, Aceton}$ vom bereits gemessenen $L_{o, Br, Aceton}$ (Tabelle 2) abweicht. In der Tat messen wir auch in Brombenzol einen totalen Lösungsmittelleffekt von $-15 \cdot 10^{-8}$ (gerechnet: $L_{total} = L_{o, Br, Aceton} + \frac{1}{2} L_{H, Aceton} = -8 - 6,5 = -14,5$). Desgleichen finden wir in Brombenzol beim Übergang vom Lösungsmittel Hexan zu Benzol einen totalen Lösungsmittelleffekt des Protons ortho zu Br von $+45 \cdot 10^{-8}$. Auf Grund unserer L' -Hypothese erwarten wir: $L_{total} = L_{o, Br, Benzol} + \frac{1}{2} L_{H, Benzol} = +27 + 19 = +46$.

Diese beiden Beispiele zeigen die Richtigkeit unserer Hypothese. Wir können nun die berechneten effektiven Lösungsmittelleffekte, die nur noch den Einfluss der Substituenten enthalten, in Tabelle 6 zusammenstellen.

Tabelle 6. Werte der effektiven Lösungsmittelleffekte L' von Aceton und Benzol in *m*- und *p*-disubstituierten Benzolen

Der totale Lösungsmittelleffekt ist wie folgt definiert: $L_{\alpha, \text{total}} = \Sigma L'_{\alpha} + L_{H, \alpha}$:

mit $L_{H, \text{Aceton}} = -13$, $L_{H, \text{Benzol}} = +38$.

Positives Vorzeichen bedeutet Verschiebung nach höherem Feld bezogen auf das Lösungsmittel Hexan. Genauigkeit: ± 5 ppm; Einheit: 1 ppm

Substituent	Lösungsmittel Aceton			Lösungsmittel Benzol		
	L'_o	L'_m	L'_p	L'_o	L'_m	L'_p
NH ₂	-5	+10		+7	-10	
OH	+2	+3		+16	+10	
OCH ₃	+1	-1	+4	-7	-5	-7
F	-5	-7		+6	+23	
CH ₃	+2	+1	+4	-2	-5	
Cl	-2	-10	-13	+9	+26	+26
Br	-1	-10	-10	+9	+27	+27
CN	-9	-10		+37	+53	
J	0	-9		+9	+26	
NO ₂	+11	-13		+26	+61	

3. *o*-Disubstituierte und polysubstituierte Benzole. In den vorangehenden Abschnitten haben wir dargelegt, dass sich Lösungsmittelleffekte von Aceton und Benzol in substituierten Benzolen in Anteile zerlegen lassen, die typisch für die Substituenten und ihre Substitutionslage sind. Eine solche additive Zerlegung von Effekten kann offensichtlich nur dann sinnvoll sein, wenn sich die einzelnen Substituenten gegenseitig nicht beeinflussen. Wir erwarten also bei *o*-disubstituierten Benzolen Lösungsmittelleffekte, die aus Tabelle 6 nicht voraussagbar sind. Desgleichen wird es nicht möglich sein, die Lösungsmittelleffekte in polysubstituierten Benzolen vorauszusagen, sobald sich 2 Substituenten in *o*-Stellung befinden oder starke mesomere Wechselwirkungen vorhanden sind. Als Beispiel seien Analysen von Cl-Benzolspektren, die in Tabelle 7 zusammengestellt sind, erwähnt.

Tabelle 7. Gemessene und berechnete chemische Verschiebungen in 1,2-Dichlorbenzol und 1,2,3-Trichlorbenzol bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan)

Konzentration: 5 Mol-% in Aceton bzw. Benzol; Einheit: 1 ppm

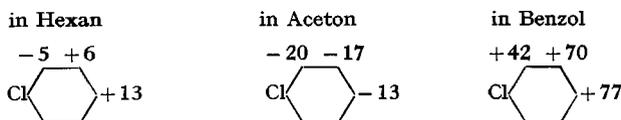
Molekel		Lösungsmittel Aceton			Lösungsmittel Benzol		
		δ_{gemessen}	$\delta_{\text{berechnet}}$	$\delta_{\text{gem.}} - \delta_{\text{berechnet}}$	δ_{gemessen}	$\delta_{\text{berechnet}}$	$\delta_{\text{gem.}} - \delta_{\text{berechnet}}$
1,2-Dichlorbenzol	$\delta_3 = \delta_6$	-36	-24	-12	+54	+74	-20
	$\delta_4 = \delta_5$	-17	-17	0	+97	+109	-12
1,2,3-Trichlorbenzol	$\delta_4 = \delta_6$	-39	-24	-15	+75	+113	-38
	δ_5	-18	-21	+3	+123	+141	-18

In Tabelle 7 finden wir, wie erwartet, Unterschiede zwischen den gemessenen und den auf Grund der Tabelle 5 unserer Arbeit über Substituenteneffekte⁶⁾, sowie der

Tabelle 6 der vorliegenden Arbeit berechneten chemischen Verschiebungen. Eine systematische Untersuchung des Problems ist mit den bis jetzt vorliegenden experimentellen Ergebnissen nicht möglich.

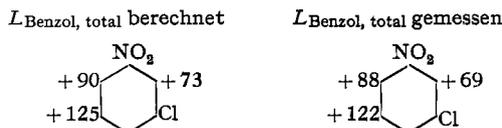
4. *Anwendungen.* Da die Lösungsmittelleffekte, welche in Tabelle 6 der vorliegenden Arbeit angegeben sind, ausschliesslich aus Messungen in *p*- und *m*-disubstituierten Benzolen des Typs $C_6H_4X_2$ stammen, haben wir eine Möglichkeit, unsere Lösungsmittelleffektzerlegung an andern Typen von substituierten Benzolen zu prüfen.

Als erstes Beispiel betrachten wir das monosubstituierte Cl-Benzol. Eine Analyse seines komplizierten AB_2C_2 -Spektrums kommt nicht in Frage, hingegen fällt auf, dass sich das Spektrum der Substanz im Lösungsmittel Aceton praktisch zu einer einzigen Linie zusammenzieht, während in Benzol 3 Gruppen von Linien unterschieden werden können. Wir erhalten aus Tabelle 5 der Arbeit über Substituenteneffekte⁶⁾ und der Tabelle 6 der L' -Werte die folgenden berechneten chemischen Verschiebungen, gemessen in Einheiten 10^{-8} und bezogen auf Benzol (5 Mol-% in Hexan):



In der Tat finden wir in Aceton eine Linie mit leichter Struktur an der Stelle -19 und in Benzol Liniengruppen bei $+50$, $+70$ und $+80$.

Als zweites Beispiel vergleichen wir den berechneten Benzol-Lösungsmittelinfluss auf das Spektrum von *m*-Chlornitrobenzol mit dem gemessenen Wert. Die angegebenen Zahlen bedeuten in diesem Fall die absoluten Veränderungen der chemischen Verschiebungen beim Übergang vom Lösungsmittel Hexan zum Lösungsmittel Benzol, nach Abzug der Suszeptibilitätskorrektur (Einheit: 10^{-8}):



Die Rechnung wird nach der allgemeinen Formel:

$$L_{\alpha, \text{total}} = \sum L'_{\alpha} + L_{H, \alpha} \quad \text{VIII}$$

durchgeführt.

Auch hier finden wir eine schöne Übereinstimmung von Theorie und Experiment und damit eine Bestätigung der additiven Zerlegung der Effekte.

Als letztes Beispiel sei ein polysubstituiertes Benzol, das *sym*-Trichlorbenzol, erwähnt.

Auf Grund der allgemeinen Formel für die chemische Verschiebung eines Protons, bezüglich Benzol (5 Mol-% in Hexan):

$$\delta = \sum S + \sum L' + L_{H, \alpha} \quad \text{IX}$$

rechnen wir eine chemische Verschiebung in Aceton von -27 und messen -29 , entsprechend finden wir in Benzol bei einem berechneten Wert von $+85$ den experimentellen Wert $+74$.

5. *Der Ursprung der Lösungsmittelleffekte.* Wie wir gefunden haben, sind Lösungsmittelleffekte des Acetons auch in *p*-disubstituierten Benzolmolekeln additiv. Dies deutet darauf hin, dass die Reaktionsfeldtheorie⁴⁾ in ihrer einfachen Form zum Verständnis der Experimente nicht genügt. Man würde auf Grund des schwächeren, vom elektrischen Quadrupol herrührenden Reaktionsfeldes in *p*-disubstituierten Benzolen kleinere Lösungsmittelleffekte erwarten als in monosubstituierten Benzolen. Auch die Gleichheit der Lösungsmittelleffekte in *m*- und *p*-Stellung widerspricht der einfachen Reaktionsfeldtheorie. Diese sagt nämlich aus, dass die Effekte in *p*-Stellung doppelt so gross sind wie in *m*-Stellung. Beide Widersprüche lassen sich jedoch qualitativ durch inhomogene Reaktionsfelder erklären, die man in substituierten Benzolen wegen der exzentrischen Lage des elektrischen Dipols und seiner Komponenten im Benzolring erwartet. Während in BUCKINGHAM's Theorie die Stärke des Reaktionsfeldes durch die Eigenschaften der gelösten Molekel Dipolmoment, Radius und Brechungsindex sowie durch die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels eindeutig festgelegt ist, wird im Fall eines inhomogenen Reaktionsfeldes die Ladungsverteilung der Molekel wesentlich. Da ein derartiges Reaktionsfeld rechnerisch schwer zu erfassen ist, benützen wir die folgende multiplikative Zerlegung zur Beschreibung der Lösungsmittelleffekte:

$$L'_{o,X,\alpha} = f_{o,X,H} \cdot e_{\alpha} \cdot X$$

Das heisst, der Einfluss des Lösungsmittels α auf das Proton in *o*-Stellung zum Substituenten X ist gegeben durch das Produkt aus einer Eigenschaft des Protons, welche es auf Grund seiner Lage in *o*-Stellung zum Substituenten X hat und der Grösse e_{α} . e_{α} beschreibt die Eigenschaft des Lösungsmittels. Als Grösse $f_{o,X,H}$ benützen wir HAMMETT-Konstanten, die bekanntlich ein Mass für lokale Ladungsdichten darstellen. Die Unbekannte e_{α} bestimmen wir experimentell. Im Falle des Lösungsmittels Aceton erwarten wir, dass e_{Aceton} lediglich durch eine Funktion der Dielektrizitätskonstanten festgelegt ist.

Die grossen Lösungsmittelleffekte des Benzols sind bedingt durch seine starke diamagnetische Anisotropie, die sich je nach der räumlichen Konfiguration, d. h. dem mittleren Abstand des Benzols von der gelösten Molekel und seiner relativen Orientierung, mehr oder weniger auswirkt. Die räumliche Konfiguration kann sowohl durch das Reaktionsfeld als auch durch direkte Donor-Akzeptor-Wechselwirkungen bedingt sein. Da in beiden Fällen eine Proportionalität der Lösungsmittelleffekte zur Ladungsdichte am Ort des betrachteten Protons zu erwarten ist, vermuten wir, dass die Beziehung X auch für Benzol gültig ist. Das bedeutet aber, dass grosse Lösungsmittelleffekte in Aceton grosse Effekte in Benzol bedingen und umgekehrt. Die L' -Werte der Tabelle 6 zeigen in der Tat eine derartige Proportionalität.

5.1. *Die Lösungsmittelleffekte in m-Stellung:* $L'_{m,\text{Aceton}}$ und $L'_{m,\text{Benzol}}$. Die Lösungsmittelleffekte L'_m der Tabelle 6 sind in den Fig. 1 und 2 als Funktion der HAMMETT-Parameter-Kombination $\sigma_i + \frac{1}{2}\sigma_r$ dargestellt. Innerhalb der Fehlergrenzen liegen die Punkte sämtlicher Substituenten auf Geraden der folgenden Form: (Einheit: 1 pphm)

$$L'_{m,\text{Aceton}} = -22 \sigma_i - 11 \sigma_r, \quad \text{XI}$$

$$L'_{m,\text{Benzol}} = +74 \sigma_i + 37 \sigma_r + 5 \quad \text{XII}$$

Fig. 1 und 2 zeigen, dass die gleiche Eigenschaft der Protonen, die sich durch HAMMETT-Parameter ausdrücken lässt, sowohl in Aceton als auch in Benzol die Grösse der Lösungsmittelleffekte mitbestimmt. Ferner folgt aus den Beziehungen XI und XII die relative Grösse der «Einheitslösungsmittelleffekte» e_α :

$$e_{\text{Aceton}}/e_{\text{Benzol}} = -22/74 \sim -1/3;$$

das heisst, verschiebt sich die Resonanz eines Protons in *m*-Stellung zu einem beliebigen Substituenten im Lösungsmittel Aceton um einen bestimmten Betrag nach tieferem Feld (bezüglich der Lage im Lösungsmittel Hexan und nach Abzug der Suszeptibilitätskorrektur), dann erfährt diese Resonanz im Lösungsmittel Benzol eine Verschiebung um den angenähert dreifachen Betrag nach höherem Feld.

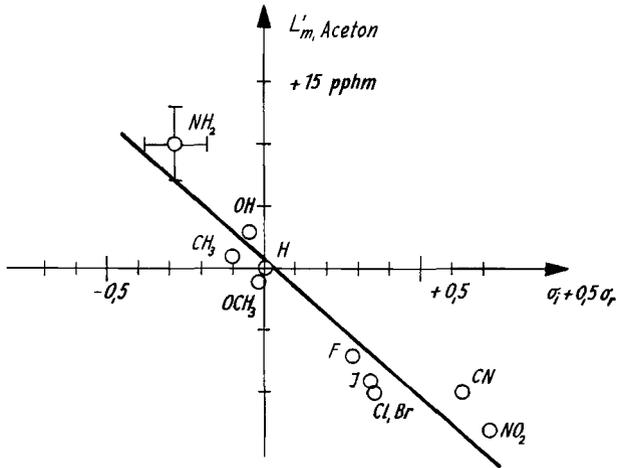


Fig. 1. Lösungsmittelleffekt von Aceton in *m*-Stellung von substituierten Benzolen als Funktion der HAMMETT-Konstanten $\sigma_p + \frac{1}{2} \sigma_r$
Einheit: 1 pphm; positives Vorzeichen bedeutet Verschiebung nach höherem Feld

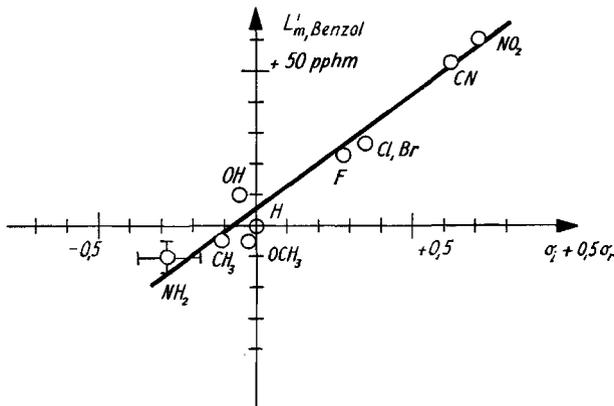


Fig. 2. Lösungsmittelleffekt von Benzol in *m*-Stellung von substituierten Benzolen als Funktion der HAMMETT-Konstanten $\sigma_p + \frac{1}{2} \sigma_r$
Einheit: 1 pphm; positives Vorzeichen bedeutet Verschiebung nach höherem Feld

Die HAMMETT-Konstante $\sigma_i + \frac{1}{2}\sigma_r$ gewährleistet die beste lineare Beziehung zu den L' -Werten. Sie stellt ein Mass dar für die mittlere Ladungsdichte der m - und p -Stellung des monosubstituierten Benzols.

Die L'_{Aceton} -Werte entsprechen in der Grössenordnung den Vorstellungen der Reaktionsfeldtheorie⁴).

5.2. Der Lösungsmittelleffekt in o -Stellung: $L'_{o, \text{Benzol}}$. Die Lösungsmittelleffekte in o -Stellung sind allgemein kleiner als in m -Stellung.

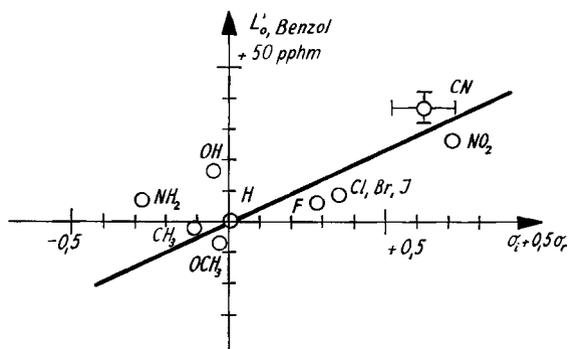


Fig. 3. Lösungsmittelleffekte von Benzol in o -Stellung von substituierten Benzolen als Funktion der HAMMETT-Parameter $\sigma_i + \frac{1}{2}\sigma_r$

Einheit: 1 pphm; positives Vorzeichen bedeutet Verschiebung nach höherem Feld

Aus einer Darstellung der Werte von $L'_{o, \text{Benzol}}$ als Funktion der HAMMETT-Konstanten $\sigma_i + \frac{1}{2}\sigma_r$ (Fig. 3) geht hervor, dass eine lineare Beziehung in o -Stellung bedeutend schlechter erfüllt ist als in m -Stellung. Zur Erklärung dieses Verhaltens können wir z. B. die Wechselwirkungsfähigkeit des Substituenten direkt mit dem Lösungsmittel heranziehen. Diese ist vermutlich verantwortlich für die extreme Lage der Punkte NH_2 und OH in Fig. 3. Eine Wechselwirkung zwischen diesen Substituenten und dem Benzolring schiebt infolge einer damit verbundenen erhöhten Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Benzols in der Nähe der o -Protonen die Resonanzen nach höherem Feld. In der Gleichung X müssten derartige Einflüsse durch Einführung eines neuen kleineren und variablen e_α -Wertes für o -Stellung berücksichtigt werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass mit der Kenntnis der L' -Werte eine systematische Behandlung von Lösungsmittelleffekten möglich ist. Die L' -Werte gestatten es, unbekannte Substituenten in Benzolmolekeln auf Grund ihres Lösungsmittelverhaltens in Kernresonanzspektren zu identifizieren. Ferner zeigt es sich, dass die Vorstellungen der Reaktionsfeldtheorie in verallgemeinerter Form auch in komplizierten Molekeln die Diskussion der Acetonlösungsmittelleffekte gestatten. Die Proportionalität der Effekte im Fall des Benzols zu HAMMETT-Konstanten und damit zu Ladungsdichten im Benzolring deutet auf π -Komplexbindung hin.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Beiträge des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS unterstützt. Prof. Dr. T. SCHÄFER (Winnipeg, Canada) bin ich für das Überlassen von unveröffentlichten chemischen Verschiebungsdaten, Dr. H. G. LEEMANN (SANDOZ A.G.) für das Herstellen von Präparaten und Prof. Dr. P. HUBER für seine Unterstützung und Beratung zu grossem Dank verpflichtet.

SUMMARY

The solvent effects of acetone and benzene in the proton resonance spectra of substituted benzene molecules can be divided into contributions from the individual substituents. These additive contributions are measured. There are departures from additivity in *ortho*-disubstituted benzene. The solvent effects thus measured can be used to predict solvent effects in mono- and polysubstituted benzene as long as there is negligible interaction between the substituents.

Solvent effects of acetone and benzene in *m*- and *p*-position of substituted benzene are proportional to HAMMETT-Parameters of the protons in question. In addition acetone solvent effects can be explained qualitatively by an inhomogenous electrostatic reactionfield.

Physikalisches Institut der
Universität Basel

68. Die Abhängigkeit der strahleninduzierten Formiatoxydation im System (Katalase-¹⁴C-Formiat) von verschiedenen Milieufaktoren¹⁾

von H. Aebi und J. P. Heiniger

(16. I. 62)

Ameisensäure wird aerob durch ionisierende Strahlen zu CO₂ oxydiert, und zwar – je nach Versuchsbedingungen – in einer Ausbeute von $G_{+CO_2} = 2,5 - 3,8$ (HART²⁾). Durch Zugabe kleiner Mengen von krist. Leber-Katalase gelingt es, die Strahlenausbeute (bei pH 6,8) auf einen G -Wert von $G_{+CO_2} = 5-6$ zu erhöhen. In Gegenwart dieses Enzyms setzt sich strahlengebildetes H₂O₂, das sich sonst anhäufen oder anderweitig reagieren würde, peroxydatisch mit (zusätzlichen) Ameisensäuremengen um. Wie in einer früheren Arbeit gezeigt worden ist, ergibt sich bei Verwendung von ¹⁴C-Formiat, ein für strahlenchemische Zwecke verwendbares Indikator-System³⁾. Sofern Enzym und H-Donor (= Ameisensäure) in Konzentrationen zugesetzt werden, die dem Sättigungswert nahekommen, dann besteht – jedenfalls bis zu 20000 r – direkte Proportionalität zwischen Strahlendosis und gebildeter ¹⁴CO₂-Menge.

Beim ¹⁴CO₂, das bei Bestrahlung des Systems Katalase + ¹⁴C-Formiat gebildet wird, muss auf Grund obiger Feststellungen zwischen einem nicht-enzymatisch und einem enzymatisch gebildeten Anteil unterschieden werden. Im Hinblick auf die praktische Anwendung, sowie auf die Interpretation ist nun von Interesse, in welchem Ausmass die Bildung beider Komponenten durch Milieufaktoren beeinflusst wird. Diese Frage soll für die folgenden Faktoren zu beantworten versucht werden: a) Art der Gasphase (O₂, N₂, N₂O), b) pH-Abhängigkeit, c) Einfluss der Temperatur und d) Effekte von Seiten inerter Zusätze, wie z. B. Proteine und Elektrolyte. Die gleichfalls untersuchten Deuterium-Isotopieeffekte sind zusammen mit den Versuchen in verschiedener Gasphase geeignet, weitere Anhaltspunkte über den Reaktionsmecha-

¹⁾ Über einen Teil der hier publizierten Versuche wurde anlässlich eines Symposiums über «Radiation effects and milieu» am 29. 5. 61 in Montreux berichtet.

²⁾ E. J. HART, J. Amer. chem. Soc. 76, 4312 (1954).

³⁾ H. AEBI, R. GRESSLY, R. OESTREICHER & A. ZUPPINGER, Helv. 42, 2531 (1959).