

**Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente,
31. Mitt.¹:**

Die Spin-Gitter-Relaxation in den ¹H-NMR-Spektren von
Bilatrienen-abc

Heinz Falk*, Ernst Haslinger und Thomas Schlederer

Institut für Organische Chemie, Universität Wien,
A-1090 Wien, Österreich

(Eingegangen 22. Februar 1979. Angenommen 2. April 1979)

*On the Chemistry of Pyrrole Pigments, XXXI: Spin-Lattice-Relaxation in the
¹H-NMR-spectra of Bilatrienes-abc*

The ¹H-NMR spin lattice relaxation times of aetiobiliverdin-IV- γ and biliverdindimethylester were determined using the inversion recovery technique. The relaxation times of protons attached to the terminal rings A and D are longer than those situated at the rings B and C which points to a higher mobility of rings A and D. Moreover these measurements allowed an independent assignment of the ¹H-NMR-signals of the methyl groups of biliverdindimethylester.

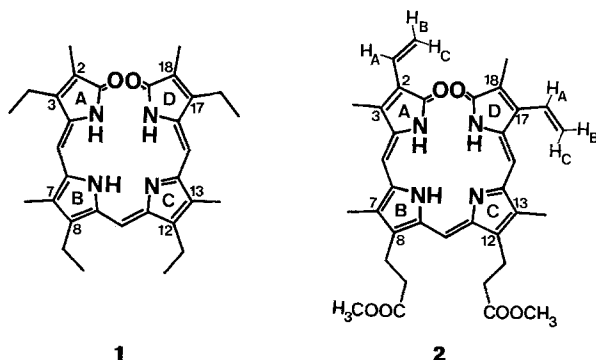
(*Keywords: Bilatrienes-abc; ¹H-NMR spectra; Spin-lattice-relaxation*)

Einleitung

Die Spin-Gitter-Relaxationszeiten von Protonen in großen, starren organischen Molekülen gestatten es, Informationen über Struktur² und Konformation³ dieser Systeme abzuleiten. Darüber hinaus ist es in günstig gelagerten Fällen sogar möglich, Korrelationszeiten für die interne Beweglichkeit von Methylgruppen und ganzen Molekülfragmenten zu erhalten⁴.

Wir haben kürzlich über die Bildung, Struktur, Konfiguration und Konformation von diastereomeren (geometrisch isomeren) Bilatrienen-abc, insbesondere des Biliverdindimethylesters berichtet⁵ und in diesem Zusammenhange die ¹H-NMR-Spektren dieser Verbindungen analysiert. Die Zuordnung der Methylgruppensignale wurde dabei im wesentlichen durch LIS-Experimente getroffen. Um die Anwend-

barkeit von T_1 -Experimenten, also die Messung von Spin-Gitter-Relaxationszeiten für die Untersuchung dieser Substanzklasse, auszuloten, haben wir nun die Spin-Gitter-Relaxationszeiten der Protonen von (Z,Z,Z)-Aetiobiliverdin-IV- γ (**1**) und Biliverdindimethylester (**2**) vermessen. Damit ergibt sich vor allem für das Naturstoffsystem **2** ein weiteres, von vorausgegangenen Experimenten⁵ unabhängiges Zuordnungskriterium, was uns auch in Hinblick auf Zweifel⁶ an der von uns früher gegebenen Zuordnung⁵ von Interesse schien.



Methodik

Die Spin-Gitter-Relaxation ist die strahlungslose Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichtes nach einer Störung des Kernspinsystems durch einen Hochfrequenzpuls und wird durch fluktuierende Magnetfelder hervorgerufen. Grundsätzlich wird die Spin-Gitter-Relaxationszeit T_1 durch gleichzeitiges Zusammenwirken mehrerer Relaxationsmechanismen bestimmt, da es ja mehrere Quellen für solche Felder geben kann. In verdünnten Lösungen werden jedoch Beiträge von intermolekularen Wechselwirkungen vernachlässigbar, wenn man überdies magnetisch inerte* Lösungsmittel verwendet. Unter diesen Bedingungen gilt für Protonen, daß die intramolekulare Dipol-Dipol-Wechselwirkung die Relaxation dominiert⁷. Für die Relaxation eines Kerns A durch den Kern B gilt dann Beziehung (1)

$$T_{1A}^{-1} = K \cdot \gamma_A^2 \cdot \gamma_B^2 \cdot r_{AB}^{-6} \cdot \tau_c \quad (1)$$

In (1) sind γ_A und γ_B die entsprechenden gyromagnetischen Verhältnisse, r_{AB} der Kernabstand und τ_c eine Korrelationszeit, die die zeitliche Umorientierung des Vektors \vec{r}_{AB} beschreibt. Da Protonen ein großes gyromagnetisches Verhältnis besitzen und der Kernabstand mit der sechsten Potenz in (1) eingeht, werden nur die allernächsten Protonen im selben Molekül einen signifikanten Beitrag zur Relaxation liefern.

* Das Lösungsmittel sollte keine magnetischen Kerne oder nur solche mit kleinem gyromagnetischen Verhältnis enthalten.

Für Protonen in Methylgruppen, in denen die Relaxation praktisch nur durch die andern beiden Protonen am selben C-Atom bewirkt wird und sich am gegenseitigen Abstand derselben nichts ändert, vereinfacht sich (1) zu $T_{1\text{ Methyl}}^{-1} = K' \cdot \tau_c$. Damit hängt die Relaxation von Methylgruppen nur von ihrer internen Beweglichkeit ab. Methylgruppen mit unterschiedlichem Abstand von einem „Bewegungszentrum“ in starren, meist makrozyklischen Systemen können so einfach unterschieden werden⁸. Das Gesagte gilt aber natürlich auch für flexible Großmoleküle, bei denen allzu freie Bewegungen durch entsprechende Rotationsbarrieren eingeschränkt sind.

Obwohl Absolutmessungen von Relaxationszeiten mit großen Fehlern behaftet sind, ist ein relativer Vergleich derselben mit großer Genauigkeit möglich. Wählt man als Bezugszeitpunkt den Nulldurchgang eines Signals, so zeigen dann alle Kerne mit kürzerer Relaxationszeit schon positive Signale, alle mit längeren T_1 -Werten noch negative. Es ist dann möglich, extrem geringe T_1 -Differenzen, deren genaue Bestimmung aus den Messungen kaum möglich ist, einwandfrei zu erkennen, was ja die potentielle Stärke dieses „vierten Parameters“ der Kernresonanzspektroskopie ausmacht.

Die Spin-Gitter-Relaxationszeiten T_1 wurden nach der Inversion-recovery-Methode gemessen: Die dazu nötigen Relaxationsexperimente wurden auf einem Varian XL 100-1S Kernresonanzspektrometer (100 MHz) durchgeführt. Im *Fourier*-transform-mode ist dieses Gerät mit einem Varian 16k L-100 on-line-Rechner kombiniert. Es wurden ein bis fünfzig Impulsresponses akkumuliert. Die Messungen wurden in Röhren von 5 mm Durchmesser in CDCl_3 (Deuterierungsgrad 99,5%) bei 30 °C durchgeführt. Vor Bereiten der Lösungen filtrierte man das Lösungsmittel über Al_2O_3 neutral, Aktivitätsstufe II—III). Die Deuteriumresonanz diente als Lock-Signal zur Stabilisierung des Feld-Frequenz Verhältnisses. Obwohl bei den relativ kurzen Relaxationszeiten dieser Moleküle die Anwesenheit des Luftsauerstoffs nicht kritisch ist⁸, wurde durch die Meßlösungen einige Minuten Argon geleitet. Typische Parameter für die Pulsexperimente waren: Aquisitionszeit 4s, Pulsweite des 90°-Pulses: 27 μs , Pulsdelay: 6s, Digitale Auflösung: 0,25 Hz/Datenpunkt. Die rechnerische Auswertung der Experimente erfolgte durch nicht linearen least squares fit mit dem Programm MINUIT an der Großrechenanlage der Univ. Wien: Die Genauigkeit der T_1 -Werte ist, wenn nicht anders angegeben, $\pm 5\%$. Die Verbindungen **1** und **2** haben wir im Rahmen vorausgegangener Mitteilungen charakterisiert⁵.

Ergebnisse

Die bei vergleichbaren Konzentrationen gemessenen Spin-Gitter-Relaxationszeiten T_1 sind in der Tab. 1 enthalten. Um eine sichere, unabhängige Zuordnung der Methylgruppensignale von **2** zu gewährleisten, haben wir auch T_1 in Abhängigkeit von der Konzentration von **2** vermessen und darüber hinaus auch das Verdünnungsverhalten der Signallagen studiert. Diese Ergebnisse finden sich ebenfalls in Tab. 1 und in Abb. 1. Die Abb. 2 zeigt ein Schlüsselexperiment für die Verbindung **2**, nämlich den bereits erfolgten Nulldurchgang von drei Signalen des Methylbereiches, wobei das vierte Signal noch invertiert erscheint. Dabei betrug die Konzentration $0,03 \text{ mol l}^{-1}$; es wurden

Tabelle 1. T_1 (s) für **1** ($c = 0,180 \text{ mol l}^{-1}$) und **2** ($c_1 = 0,177$, $c_2 = 0,088$, $c_3 = 0,044 \text{ mol l}^{-1}$)

Proton	Verbindung			
	1 c	c_1	2 c_2	c_3
H-5	0,90	0,56		
H-10	0,80	0,46		
H-15	0,90	0,60		
CH ₃ -2	0,72			
H-2 A		0,60		
H-2 B		0,30		
H-2 C		0,40		
CH ₃ -3	0,76	$0,43 \pm 0,01$	$0,47 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,04$
CH ₂ -3	0,30			
CH ₃ -7	0,64	$0,42 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,03$
α -CH ₂ -8	0,30	0,21		
β -CH ₂ -8		0,30		
CH ₃ -8	0,64	1,06		
α -CH ₂ -12	0,30	0,21		
β -CH ₂ -12		0,30		
CH ₃ -12	0,64	1,06		
CH ₃ -13	0,64	$0,41 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,03$
CH ₂ -17	0,30			
CH ₃ -17	0,76			
H-17-A		0,75		
H-17-B		0,80		
H-17-C		0,90		
CH ₃ -18	0,72	$0,42 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$

500 Signalresponses akkumuliert, um auch nahe dem Nulldurchgang der Signale noch ein annehmbares Signal-Rausch-Verhältnis zu erzielen.

Diskussion

Die Differenzen der T_1 -Werte der Methinprotonen in **1** zeigen deutlich den relaxierenden Einfluß der beiden Ethylgruppen auf H-10. Daß diese Dipol-Dipol-Wechselwirkung dominiert, konnten wir schon früher durch Messung eines besonders ausgeprägten Kern-Overhauser-Effekts bei Einstrahlen der Frequenz der CH₂-Gruppen in Position 8 und 12 an H-10 nachweisen⁵. Bei den Methylgruppen in den Positionen 2 bzw. 18 und 7 bzw. 13 ist jedoch die Differenz der T_1 -Werte auf die unterschiedliche interne Beweglichkeit zurückzuführen. Die kurze Korrelationszeit, also größere Beweglichkeit, besitzen demnach die Methylgruppen an den Ringen A und D, wobei an der Zuordnung dieser

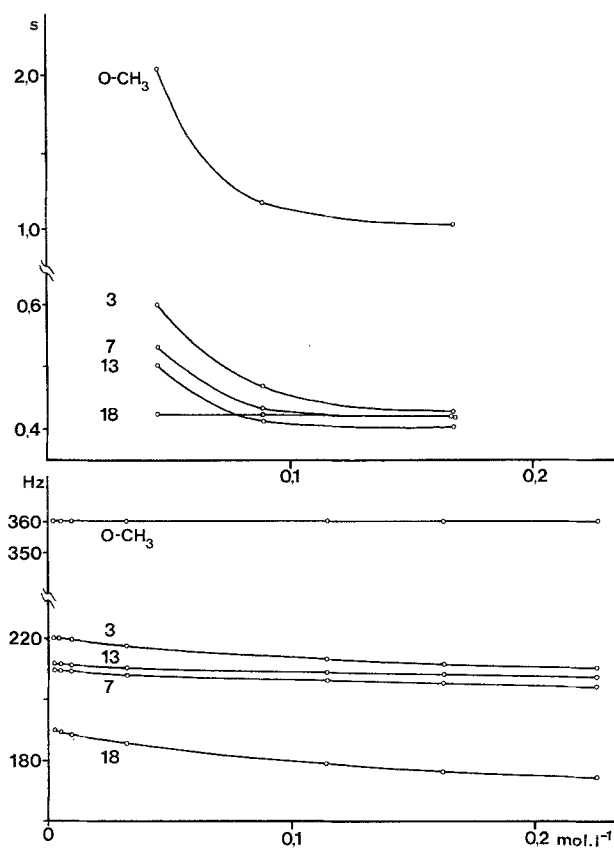


Abb. 1. Abhängigkeit von T_1 und chemischer Verschiebung der Methylprotonen von **2** von der Konzentration

Methylgruppensignale⁵ ja keine Zweifel bestehen. Ein Schwingen der terminalen Ringe in diesem helikalen, (Z, Z, Z)-konfigurierten Molekül⁵ reduziert also offenbar die Korrelationszeiten dieser Methylgruppen und manifestiert sich dementsprechend in längeren T_1 -Werten.

Methylgruppen, die sich anisotrop bewegen, relaxieren jedoch nicht streng nach einem einfachen Exponentialgesetz⁴. Dieser Effekt spielt in den vorliegenden Resultaten aber keine Rolle, da wir für die Berechnung der T_1 -Werte nur die anfängliche Relaxationsrate (bis zu etwa 20% des jeweiligen T_1 -wertes) verwendet haben.

Vergleicht man nun die Relaxationszeiten der Ethylseitenketten von **1**, so wird sofort der Einfluß der internen Beweglichkeit bei CH₂-

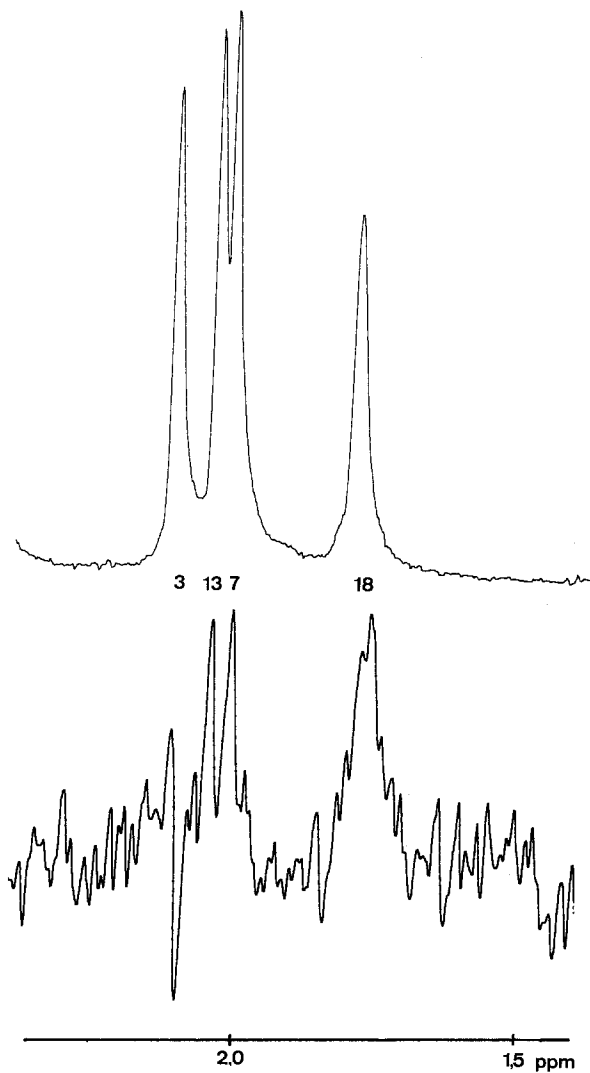


Abb. 2. Normales Spektrum des Methylgruppenbereiches von **2** und partiell relaxiertes Spektrum, aufgenommen 0,320 s nach dem 180°-Puls

und CH₃-Gruppen evident. Bei den Methylgruppentripletts ist sogar eine Zuordnung durch die unterschiedliche Relaxationszeit möglich: Das Tripletts bei höherem Feld hat die kürzere Relaxationszeit, also die längere Korrelationszeit, und ist damit den Methylgruppen an den Ringen B und C zuzuordnen. Dies steht in Einklang mit LIS-Daten von

1⁹, die wir aber aus Gründen der Übersichtlichkeit in eine vorangegangene Mitteilung⁵ nicht aufgenommen hatten.

In **2** besitzt erwartungsgemäß H-10 eine kürzere Relaxationszeit (vgl. Verbindung **1**) als die beiden anderen Methinprotonen, was von der unterschiedlichen Beweglichkeit und Umgebung dieser Protonen in den beiden Partialstruktursystemen herrühren dürfte. Obwohl im stark gekoppelten Vinylgruppensystem die Kreuzrelaxation eine Bestimmung von genauen, interpretierbaren T_1 -Werten erschwert, ist doch deutlich zu sehen (Tab. 1), daß alle Protonen der Vinylgruppe an Ring D längere Relaxationszeiten besitzen. Dies, zusammen mit dem drastischen Verdünnungseffekt auf T_1 von CH₃-3, läßt vermuten, daß bei Assoziation bevorzugt der Ring A in dieses Geschehen involviert ist.

Um eine sichere, unabhängige Zuordnung der Methylgruppensignale von **2** zu treffen, haben wir T_1 bei zunehmender Verdünnung gemessen, um so sicherzustellen, daß eine bei diesem System evtl. assoziationsbedingte Verzerrung der Resultate ausgeschlossen werden kann. Die Ergebnisse in Tab. 1 und die graphische Darstellung in Abb. 1 zeigen sehr schön, daß mit abnehmender Konzentration auch die Assoziation abnimmt; ein analoges Verhalten ist auch für Porphine beschrieben worden⁸.

Die Zuordnung der Methylgruppen kann dann wie folgt getroffen werden: Auf Grund der Struktur von **2** ist zu erwarten, daß die Methylgruppen in Position 7 und 13 ähnliches, wenn nicht sogar gleiches Relaxationsverhalten zeigen — jede dieser Gruppen wird ja einerseits von einem Methin-Proton und andererseits einer Methylgruppe des gleichen Strukturtyps und, wie deren Relaxationszeiten aussagen, auch desselben Beweglichkeitstyps flankiert. Vergleicht man nun die Änderung der Relaxationszeiten (Tab. 1, Abb. 1) mit zunehmender Verdünnung, so trifft diese Forderung nur für das „mittlere“ Linienpaar zu. Die starke Änderung von T_1 für die Linie bei höherer Frequenz zeigt wohl an, daß diese Resonanz der Methylgruppe in 3, d. h. dem stärker assoziierenden Ring A zuzuordnen ist. Bezüglich der Differenzierung der Signale der Methylgruppen in 7 und 13 kann naturgemäß über die Relaxationszeitenmessung keine Aussage gemacht werden — vgl. hierzu die Argumente in einer vorangegangenen Mitteilung⁵.

Noch eindeutiger als diese Argumentation ist aber das Verhalten des mittleren Linienpaares nach erfolgtem Nulldurchgang derselben, wie dies in Abb. 2 gezeigt ist. Während die Protonen des Signals bei höchstem Feld noch Anlaß zu einer negativen Amplitude geben, sind die Linien von CH₃-7 und CH₃-13 ebenso wie jene von CH₃-18 schon deutlich positiv.

Diese Befunde zeigen insgesamt, daß die Messung der Spin-Gitter-

Relaxationszeiten im Bereich der Untersuchung von Gallenfarbstoffen vor allem in Hinblick auf die zweifelsfreie Zuordnung von Signalen ein wertvolles Hilfsmittel darstellt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse für die Methylgruppensignalzuordnung des Biliverdindimethylesters sind in Einklang mit der von uns früher getroffenen Zuordnung⁵.

Dank

Die vorliegende Untersuchung wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Herrn Dr. *K. P. Wolschann* (Institut für Theoretische Chemie) danken wir für seine Hilfe bei der Durchführung der numerischen Auswertungen.

Literatur

- ¹ 30. Mitt.: *H. Falk* und *T. Schleder*, *Ann. Chem.*, im Druck.
- ² *L. D. Hall*, *Chem. Soc. Rev.* **4**, 401 (1975); *I. S. Denniss*, *J. K. M. Sanders* und *J. C. Waterton*, *Chem. Commun.* **1976**, 1049.
- ³ *E. Haslinger* und *W. Robien*, *Mh. Chem.* **110**, 1011 (1979).
- ⁴ *E. Haslinger* und *R. Lynden Bell*, *J. Magn. Res.* **31**, 33 (1978).
- ⁵ *H. Falk*, *K. Grubmayr*, *E. Haslinger*, *T. Schleder* und *K. Thirring*, *Mh. Chem.* **109**, 1451 (1978).
- ⁶ *H. Lehner*, *J. E. Braslavsky* und *K. Schaffner*, *Ann. Chem.* **1978**, 1990.
- ⁷ *L. D. Hall*, *Chem. in Canad.* **28**, 19 (1976).
- ⁸ *J. K. M. Sanders*, *J. C. Waterton* und *I. S. Denniss*, *J. Chem. Soc., Perkin I*, **1978**, 1150.
- ⁹ Unveröffentlichte Ergebnisse von *K. Grubmayr*.