

P_H -ABHÄNGIGKEIT DER ^{13}C -CHEMISCHEN VERSCHIEBUNGEN SECHSGLIEDRIGER STICKSTOFF-HETEROAROMATEN

E. BREITMAIER und K.-H. SPOHN

Aus dem Chemischen Institut der Universität Tübingen, 7400 Tübingen, Auf der Morgenstelle

(Received in Germany 4 December 1972; Received in UK for publication 19 December 1972)

Zusammenfassung—Die ^{13}C -chemischen Verschiebungen der sechsgliedrigen Stickstoff-Heteroaromaten Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Pyridazin, Chinolin und Isochinolin werden in wässrigen Lösungen in Abhängigkeit vom P_H -Wert gemessen. Die Messungen zeigen, daß sich bei der Protonierung des Stickstoffs die ^{13}C -Signale der α -C-Atome nach höherem Feld, die der entfernteren C-Atome meist nach tieferem Feld verschieben. Die P_H -bedingten Verschiebungen können Beträge in der Größenordnung von 10 ppm erreichen. Die P_H -Abhängigkeiten der ^{13}C -chemischen Verschiebungen der gemessenen sechs Heterocyclen folgen klassischen Titrationskurven, deren Wendepunkte die P_K -Werte der heterocyclischen Basen in guter Übereinstimmung mit anderen Meßverfahren ergeben.

Abstract—The ^{13}C chemical shifts of the 6-membered nitrogen heteroaromatic compounds pyridine, pyrazine, pyrimidine, pyridazine, quinoline and isoquinoline have been measured as functions of P_H in aqueous solutions. On protonation of the nitrogen, the ^{13}C signals of the C atoms in α position usually suffer an upfield shift; the signals of the more removed C atoms are mostly shifted to lower field. The P_H shifts can reach amounts in the order of 10 ppm. The P_H dependences of chemical shifts of the six heterocyclic compounds investigated follow classical titration curves, whose turning-points yield the P_K values of the bases in good agreement with other methods of measurement.

EINFÜHRUNG

Die ^{13}C -chemischen Verschiebungen der sechsgliedrigen Stickstoff-Heteroaromaten Pyridin 1, Pyrazin 2, Pyrimidin 3, Pyridazin 4, Chinolin 5 und Isochinolin 6 sind bekannt.^{1,2} Die Daten stützen sich auf Messungen in reinen Flüssigkeiten gegen TMS als internem Standard sowie auf Messungen der mono- und diprotonierten Heteroaromaten als Sulfate in gesättigten wässrigen Lösungen gegen 3-Trimethylsilylpropan-1-natriumsulfonat als internem Standard.^{1,2}

Zahlreiche Stickstoffheterocyclen, darunter vor allem Naturstoffe, gehen nur bei bestimmten P_H -Werten optimal in wässrige Lösung. Andererseits ist Wasser für ^{13}C -NMR-Messungen wegen des Fehlens störender Eigensignale das günstigste Lösungsmittel, insbesondere, wenn wenig Substanz zur Verfügung steht und deshalb zur Verbesserung des Signal:Rauschen Verhältnisses die Spektren hunderttausendfach akkumuliert werden müssen. Wenn es notwendig ist, die ^{13}C -NMR-Spektren dissoziabler oder assoziabler Verbindungen in wässrigen Lösungen zu messen, so ist die Kenntnis des P_H -Verhaltens der ^{13}C -Signale eine Hilfe bei der Signalzuordnung. Aus diesen Gründen wird hier die P_H -Abhängigkeit der ^{13}C -chemischen Verschiebungen von Pyridin 1 und seinen Benzologen 5, 6 sowie von Diazinen 2–4 in wässrigen Lösungen vermessen.

EXPERIMENTELLES

Als Proben dienten 0.5 molare wässrige Lösungen der Heterocyclen, im Falle von Chinolin und Isochinolin 0.5 molare Lösungen in Wasser (70 Vol %)–Aceton (30 Vol %). Die P_H -Werte wurden bei 25° mit einem P_H -Meter (Metrohm E 512) unter Verwendung einer Glas-elektrode (Metrohm EA 121) gemessen und im Bereich zwischen $P_H = 8$ und $P_H = 0$ durch Titration mit 6 n HCl aus einer Feinbürette eingestellt. Die Elektrode wurde mit Zitrat-Salzsäure Puffer ($P_H = 4.00$) und Phosphat-puffer ($P_H = 7.00$) geeicht.

Zur Messung wurden 2 ml Lösung in ein NMR-Probenrohr mit 10 mm Innendurchmesser gebracht. In diesem Probenrohr wurde mit Hilfe zweier durchbohrter Teflonstopfen eine Kapillare mit 5 mm Innendurchmesser zentriert, die eine Lösung von 2% 1,4-Dioxan in Deuteriumoxid (99.5%) enthält. 1,4-Dioxan diente als externer Standard, Deuteriumoxid zur Stabilisation des Feld/Frequenz-Verhältnisses. Zur Messung der Lösungsmittelverschiebungen bei Chinolin und Isochinolin im System Aceton-Wasser wurden 0.5 molare Lösungen von Chinolin und Isochinolin in Aceton-Wasser-Gemischen der aus Abb 7 und Abb 8 ersichtlichen Zusammensetzung verwendet.

Die protonen-breitbandenkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker-HFX-90 NMR-Spektrometer (22.628 MHz für ^{13}C , 90 MHz für 1H und 13 MHz für 2H -Stabilisation) unter Akkumulation der Impulsinterferogramme (Impulsbreite 4 μ sec, Impulsintervall 0.4 sec entsprechend 100 Hz/cm) mit einem Fabritek 1074 Datenspeicher (4K) und anschließender Fourier-Transformation und Berechnung der "Magni-

tude"-Spektren³ mit einem Digital-PDP-8-I-Rechner (4K) erhalten.

Die chemischen Verschiebungen wurden als Adressendifferenzen digital abgelesen (Genauigkeit ± 1 Adresse). Bei 5000 Hz pro 2048 Adressen und 22.628 MHz ergibt sich als Umrechnungsfaktor 0.108 ppm/Adresse. Infolge des geringen Unterschiedes der Volumenssuszeptibilitäten zwischen H_2O und D_2O , $0.016 \cdot 10^{-6}$,⁴ liegt die Suszeptibilitätskorrektur für Dioxan in D_2O , $(2\pi/3) \cdot 0.016$ ppm,⁴ als externem Standard deutlich unterhalb der Meßgenauigkeit von ± 0.108 ppm.

Zwecks Vergleichbarkeit mit neueren Literaturdaten wurden die δ -Werte gegen Dioxan, δ_{Dioxan} , nach der Beziehung

$$\delta_{TMS} = \delta_{Dioxan} - 66.5 \text{ (ppm)}$$

auf externes TMS umgerechnet. Für genaue Vergleiche vergrößern sich die δ_{TMS} -Beträge um eine Suszeptibilitätskorrektur von 0.05 ppm.⁴

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Messergebnisse sind in den Abb 1–6 graphisch dargestellt. Die Signalzuordnungen wurden bereits von Grant *et al.* beschrieben.^{1,2} Sie stützen sich auf die Korrelation berechneter Ladungsdichten und Bindungsordnungen mit ^{13}C -chemischen Verschiebungen, auf den Vergleich von ^{13}C - 1H -Kopplungskonstanten, sowie im Falle des Chinolins und Isochinolins auf die Messung von 5- und 7-Deuteriochinolin sowie 5- und 7-Deuterioisochinolin.²

Infolge schlechter Wasserlöslichkeit mussten Chinolin und Isochinolin im System Aceton-Wasser (30:70) vermessen werden. Da die Signale der C-Atome 4a, 5, 6, 7, 8 des Chinolins und 5, 6, 7, 8, 8a des Isochinolins sehr dicht beisammen liegen,

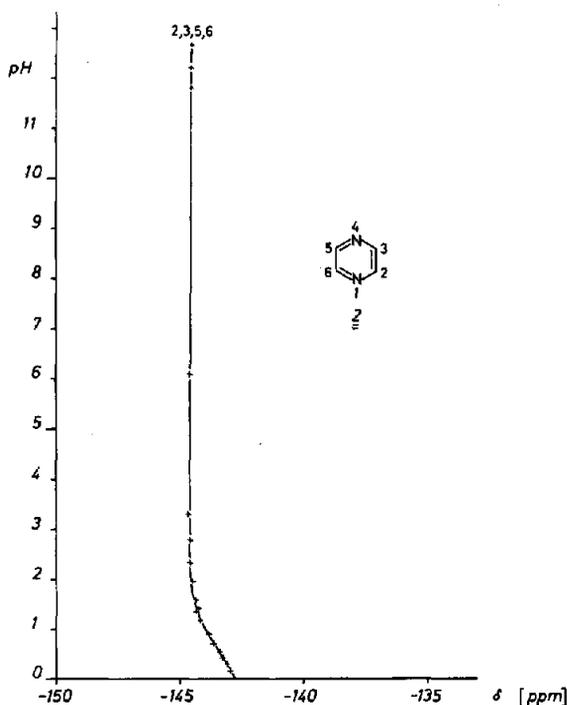


Abb 2. ^{13}C -chemische Verschiebungen von Pyrazin in Abhängigkeit vom pH.

kann sich die Signalsequenz in Aceton-Wasser (30:70) gegenüber den reinen Verbindungen² für die genannten C-Atome infolge von Lösungsmittel-effekten ändern. Um trotzdem eine Signalzuordnung im System Aceton-Wasser zu treffen, wurden

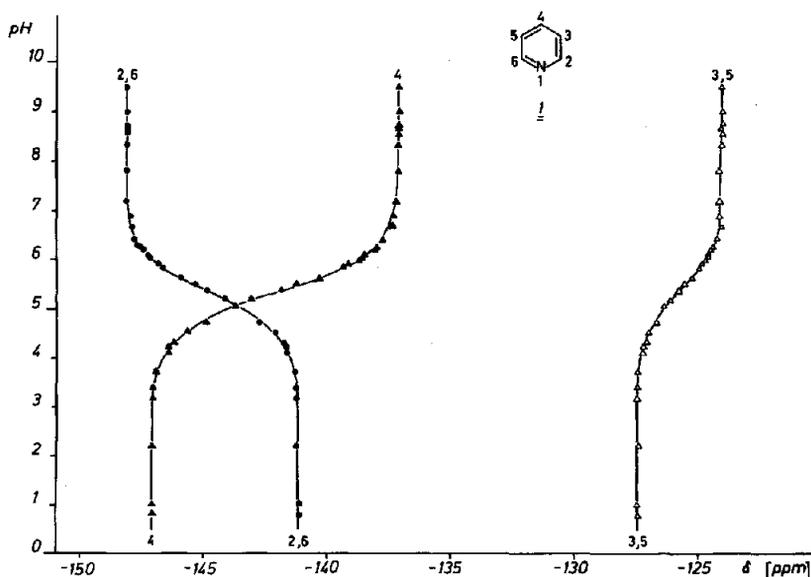


Abb 1. ^{13}C -chemische Verschiebungen von Pyridin in Abhängigkeit vom pH.

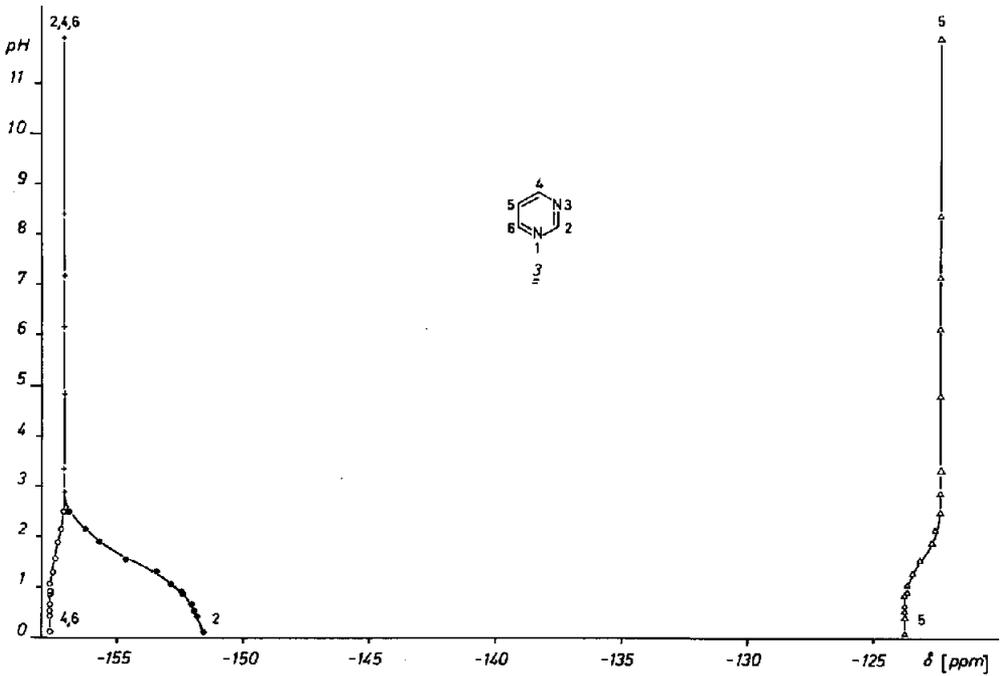


Abb 3. ¹³C-chemische Verschiebungen von Pyrimidin in Abhängigkeit vom pH.

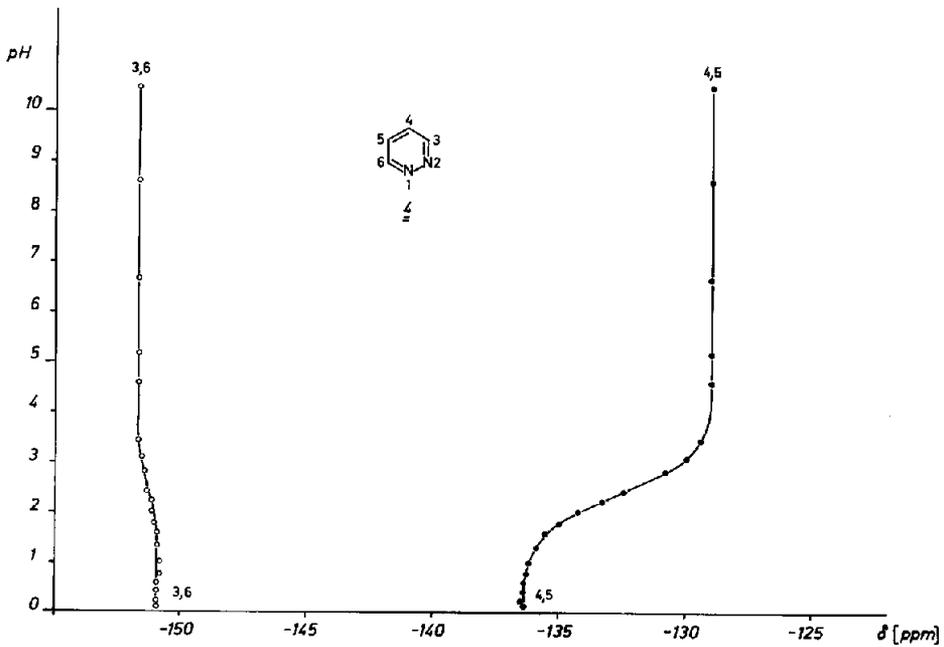
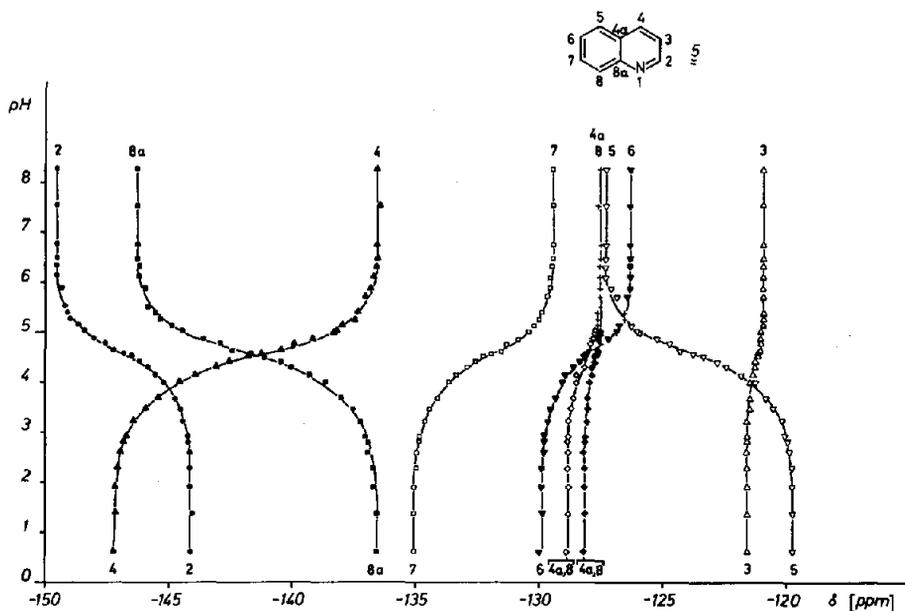
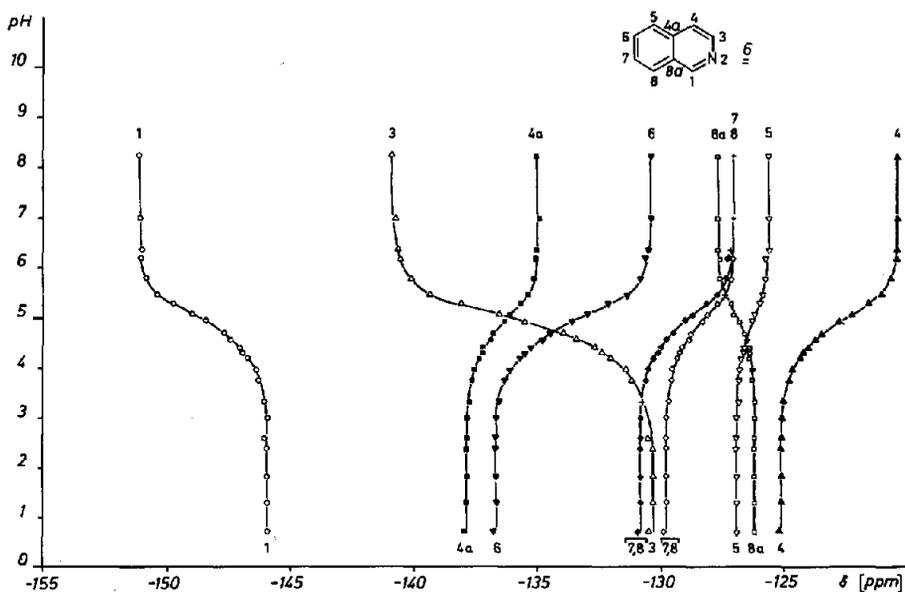


Abb 4. ¹³C-chemische Verschiebungen von Pyridazin in Abhängigkeit vom pH.

die Spektren von Chinolin und Isochinolin jeweils in reinem Zustand sowie 0,5 molar in Aceton-Wasser Gemischen mit Aceton-Konzentrationen zwischen 30 und 100 Vol % gemessen. Die Ergebnisse sind in den Abb 7 und 8 graphisch dargestellt.

Man sieht, daß sich die ¹³C-Verschiebungen beim Übergang vom reinen Zustand in eine wasserfreie Acetonlösung um höchstens 0,3 ppm ändern. Mit zunehmendem Gehalt an Wasser erhält man dagegen Signalverschiebungen in der Größenordnung

Abb 5. ^{13}C -chemische Verschiebungen von Chinolin in Abhängigkeit vom pH.Abb 6. ^{13}C -chemische Verschiebungen von Isochinolin in Abhängigkeit vom pH.

von 1 ppm bei Verwendung desselben externen Standards für alle Messungen (2% Dioxan in D_2O). Im Falle des Isochinolins beobachtet man mit steigendem Wassergehalt ein Zusammenlaufen der Signale von C-7 und C-8. Im übrigen bleibt die Signalsequenz gleich (Abb 8). Chinolin zeigt dagegen mit steigendem Wassergehalt eine Überkreuzung der Signale von C-7 und C-8 sowie ein Zusammenlaufen der Signale von C-4a und C-8 (Abb 7).

Bei allen übrigen Sechsring-Stickstoff-Heterocyclen, deren ^{13}C -chemische Verschiebungen in Abhängigkeit vom P_H im folgenden beschrieben werden, ist die Signalzuordnung eindeutig.¹

Die P_H -Abhängigkeit der ^{13}C -chemischen Verschiebungen des Pyridins zeigt beim Übergang von $\text{P}_\text{H} = 10$ nach $\text{P}_\text{H} = 1$ für die in bezug auf den basischen Stickstoff α -ständigen äquivalenten C-Atome 2 und 6 eine Hochfeldverschiebung um 7 ppm.

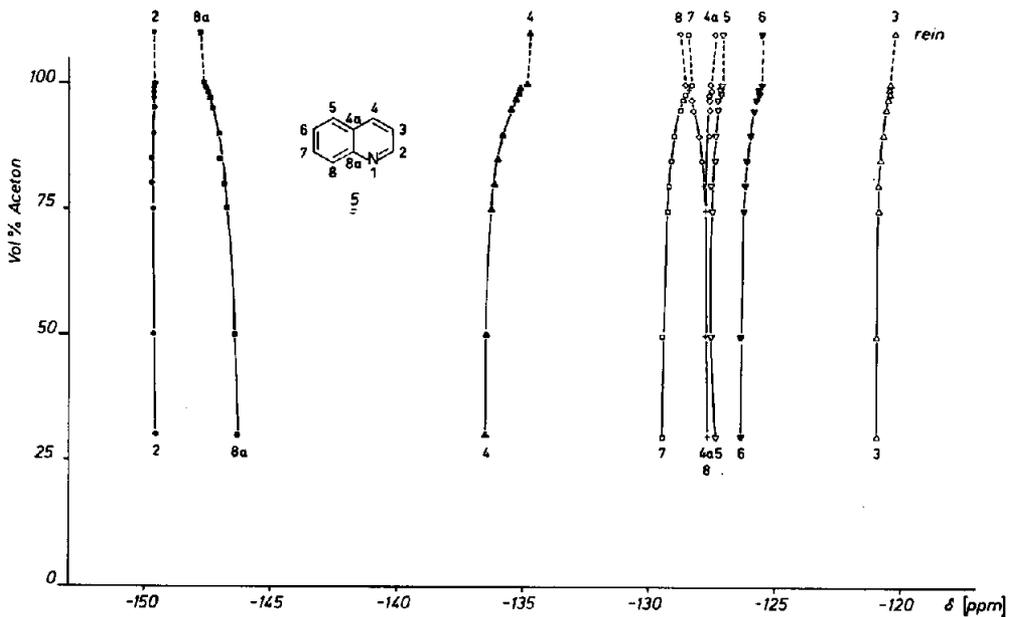


Abb 7. Lösungsmittel- und Konzentrationsabhängigkeit der ^{13}C -chemischen Verschiebungen von Chinolin.

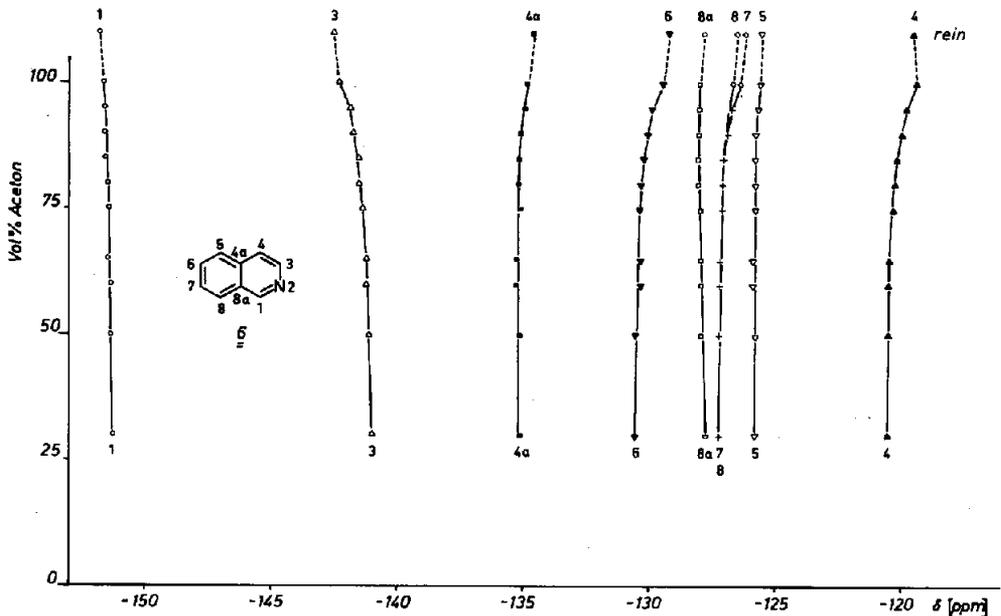


Abb 8. Lösungsmittel- und Konzentrationsabhängigkeit der ^{13}C -chemischen Verschiebungen von Isochinolin.

Tieffeldverschiebungen um 3-5 ppm bzw. 10 ppm beobachtet man dagegen für die äquivalenten C-Atome 3 und 5 bzw. für C-4. Ein zumindest qualitativ entsprechendes Verhalten zeigen auch die Diazine Pyrazin, Pyrimidin und Pyridazin (Abb 2, 3, 4): Hochfeldverschiebungen für die

Signale der α -ständigen C-Atome, Tieffeldverschiebungen für die β -ständigen C-Atome. Die Beträge der Verschiebungen sind bei den Diazinen deutlich kleiner als bei Pyridin; im Falle der äquivalenten C-Atome 4 und 6 des Pyrimidins wird sogar ein schwach inverses Verhalten beobachtet

Tabelle 1. p_{Ka} -Werte einiger N-Heterocyclen aus der p_{Hr} -Abhängigkeit ihrer ^{13}C -chemischen Verschiebungen

	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5	C 6	C 7	C 8	C 4a	C 8a	p_{Ka} NMR	Konzentration Mol/l	p_{Ka} Lit.
p_{Ka} Pyrazin	a	0.60 ^c					0.60	0.5	0.51-1.1 ⁷				
	b	0.63 ^c					0.63		0.6 ⁸				
p_{Ka} Pyridazin	a	2.50 ^d	2.35 ^e	2.35 ^e	2.50 ^d	2.50 ^d					2.42	0.5	2.24-2.9 ⁷
	b	2.39 ^d	2.38 ^e	2.38 ^e	2.39 ^d	2.39 ^d					2.39		2.33 ⁸
p_{Ka} Pyrimidin	a	1.50	1.80 ^f	1.80 ^f	1.65	1.80 ^f					1.65	0.5	1.23-1.31 ⁷
	b	1.52	1.66 ^f	1.46	1.66 ^f	1.66 ^f					1.55		1.30 ⁸
p_{Ka} Pyridin	a	5.35 ^g	5.35 ^h	5.35	5.35 ^h	5.35 ^g					5.35	0.5	5.11-5.44 ⁷
	b	5.34 ^g	5.42 ^h	5.36	5.42 ^h	5.34 ^g					5.37		5.23 ⁸ 5.35-5.5 ⁹
p_{Ka} Chinolin	a	4.55	4.40	4.50	4.55	4.55	4.50	(a) 4.40 ⁱ (b) 4.26 ⁱ	(a) 4.45 ^k (b) 4.47 ^k	4.55	4.49	0.5 ⁿ	3.97-4.96 ⁷
	b	4.57	4.41	4.51	4.54	4.55	4.52	(a) 4.45 ^k (b) 4.47 ^k	(a) 4.40 ⁱ (b) 4.26 ⁱ	4.56	4.49		4.8-5.0 ⁸
p_{Ka} Isochinolin	a	4.95	4.95	4.95	4.95	4.95	(a) 4.90 ⁿ (b) 4.93 ⁱ	(a) 5.00 ^m (b) 4.98 ^m	4.90	5.00	4.95	0.5 ⁿ	5.36-5.42 ⁷
	b	5.00	4.96	4.98	4.88	4.98	(a) 5.00 ^m (b) 4.98 ^m	(a) 4.90 ⁿ (b) 4.93 ⁱ	4.92	5.02	4.96		4.94 ⁸ 5.4 ⁹

^aaus der graphischen Wendepunktbestimmung^ggraphisch nach der Henderson-Hasselbach Gleichung^{e-m} ^{13}C -Signale fallen jeweils zusammenⁿin 30 Vol% Aceton-Wasser-Lösungsmittelgemisch gemessen

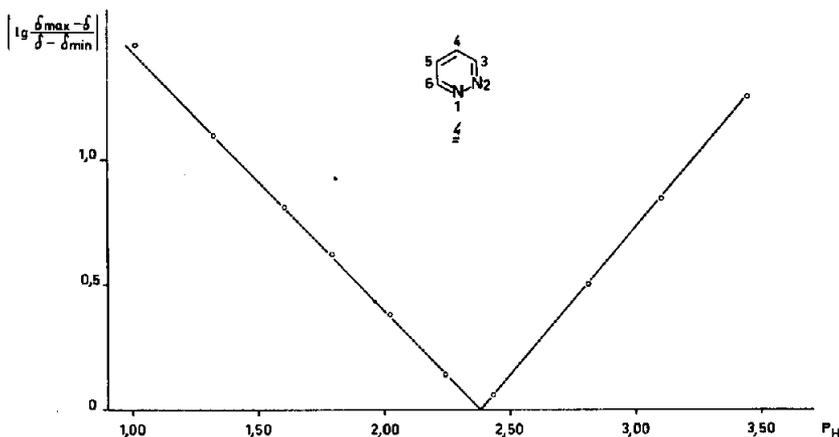


Abb 9. Bestimmung des P_K -Wertes von Pyridazin nach der Henderson-Hasselbach Gleichung.

(Abb 3). Zwischen $P_H = 1$ und $P_H = 0$ macht sich bei Pyrimidin und Pyridazin bereits die Di-protonierung bemerkbar. Die Protonierung der Stickstoffe des Chinolins und Isochinolins wirkt auf die ^{13}C -chemischen Verschiebungen qualitativ entsprechend wie beim Pyridin. Bei der An-kondensation eines Benzolrings differenzieren sich die α - und β -C-Atome des Pyridinrings hinsichtlich der chemischen Verschiebung und des P_H -Verhaltens ihrer ^{13}C -Signale. Die Protonierungsverschiebungen von C-2 im Chinolin und C-1 im Isochino-lin sind kleiner, jene von C-8a des Chinolins und C-3 des Isochinolins wesentlich größer im Ver-gleich zu der für das C-2,6-Signal des Pyridins beobachteten Protonierungsverschiebung von +6.95 ppm.

Die β -ständigen C-Atome des Pyridinrings im Chinolin, C-3 und C-4a, werden bei der Proto-nierung des Stickstoffs im Vergleich zu C-3,5 des Pyridins weniger nach tieferem Feld verschoben. Für C-4 des Isochinolins beobachtet man eine stärkere Tieffeldverschiebung, für C-8a dagegen eine Hochfeldverschiebung.

Das γ -ständige C-Atom im Chinolin, C-4, ver-hält sich wie C-4 des Pyridins und erfährt bei der Protonierung eine Tieffeldverschiebung um 10.65 ppm im Gegensatz zu C-4a des Isochinolins, des-sen ^{13}C -Signal sich nur um 2.85 ppm nach tieferem Feld verschiebt.

Die ^{13}C -Signale der aromatischen C-Atome 5-8 verschieben sich bei der Protonierung bis zu 7 ppm nach tieferem Feld, abgesehen von C-5 des Chino-lins, dessen Signal sich bei der Protonierung um 7.5 ppm nach höherem Feld verschiebt.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass bei der Auf-nahme der ^{13}C -NMR-Spektren von N-Heterocy-clen in wässriger Lösung mit starken P_H -Ver-schiebungen zu rechnen ist. Dadurch kann sich die Signalsequenz P_H -abhängig ändern, was die Signalzuordnung kompliziert. Andererseits ist die Kenntnis der P_H -Verschiebungen aber auch eine

Zuordnungshilfe, beispielsweise die für α -ständige C-Atome generell beobachtete Hochfeldverschie-bung bei Protonierung am Stickstoff.

Schliesslich folgt die P_H -Abhängigkeit der ^{13}C -chemischen Verschiebungen dem Verlauf von Titrationskurven (Abb 1-6). Aus deren Wende-punkten lassen sich die P_K -Werte der hier vermessen-eten heterocyclischen Basen bestimmen. Eine genauere Auswertung der Messdaten ergibt die Anwendung der Henderson-Hasselbach Gleichung.^{5,6}

$$P_H = P_K + \lg \frac{\delta_{\max} - \delta}{\delta - \delta_{\min}}$$

Dabei entspricht δ_{\max} der P_H -unabhängigen chemi-schen Verschiebung im sauren Bereich, δ_{\min} der P_H -unabhängigen chemischen Verschiebung im alkalischen Bereich. Trägt man für jedes C-Atom den Betrag von

$$\lg \frac{\delta_{\max} - \delta}{\delta - \delta_{\min}}$$

als Funktion des P_H -Werts auf, so ergibt sich der P_K -Wert einer Verbindung für jedes ihrer C-Atome als Schnittpunkt zweier Geraden. Dieser Schnittpunkt liegt bei Konsistenz der Meßreihe auf der Abszisse. Abb 9 illustriert diese ^{13}C -NMR-spektroskopische P_K -Wert-Bestimmung für C-4,5 des Pyridazins. Wie Tab. 1 zeigt, ist die Überein-stimmung mit den nach anderen Meßverfahren erhaltenen P_K -Werten recht gut.

Danksagung— Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für eine Sachbeihilfe.

LITERATUR

¹R. J. Pugmire und D. M. Grant, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 697 (1968)
²R. J. Pugmire, D. M. Grant, M. J. Robins und R. K. Robins, *Ibid.* **91**, 6381 (1969)

- ³E. Breitmaier, G. Jung und W. Voelter, *Angew. Chem.* **83**, 662 (1971)
- ⁴H. Suhr, *Anwendungen der Kernmagnetischen Resonanz in der Organischen Chemie*. S. 24, 25. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1965)
- ⁵E. G. Finer, *Macromolecules and Solids* in R. K. Harris, *Nuclear Magnetic Resonance*, Vol. 1, S. 281. The Chemical Society, London (1972)
- ⁶J. S. Cohen, R. I. Shrager, M. McNeel und A. N. Schechter, *Nature, Lond.* **228**, 642 (1970)
- ⁷D. D. Perrin, *Dissoziation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*. Butterworths, London (1965)
- ⁸A. Albert, R. Goldacre und J. Phillips, *J. Chem. Soc.* 2240 (1948)
- ⁹C. Golumbic und M. Orchin, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4145 (1950)