

Paramagnetische Resonanz freier Radikale

1. Mitteilung: Diarylstickstoffoxyd-Radikale

Von H. G. THOM, B. E. WAHLER und G. SCHOFFA

Aus dem Institut für Medizin und Biologie, Abt. Physik und Pharmakologie, sowie Arbeitsstelle für Kreislaufforschung, Berlin-Buch

(Z. Naturforschg. 13 a, 552—556 [1958]; eingegangen am 21. März 1958)

Es wird die paramagnetische Resonanzabsorption bei 9270 MHz in einer größeren Zahl freier Radikale der Gruppe der Diarylstickstoffoxyde bei Zimmertemperatur gemessen. Nach Erörterung einiger grundsätzlicher theoretischer Fragen und nach der Beschreibung des Spektrometers wird im experimentellen Teil der Einfluß verschiedener Substituenten auf die Verschiebung des g -Faktors, die Linienbreite sowie der Einfluß der Lösung auf paramagnetische Absorption untersucht. Die Ergebnisse werden mit modernen Vorstellungen über die Elektronenstruktur der freien Radikale verknüpft.

Seit der ersten Messung der paramagnetischen Resonanzabsorption an freien Radikalen im Jahre 1949^{1,2} gewinnt diese neue physikalisch-chemische Methode zunehmend an Bedeutung. Dies ist u. a. dem Umstand zu verdanken, daß die paramagnetische Resonanz nur den Paramagnetismus der freien Elektronen mißt, bzw. nur die Übergänge im Elektronenspin und nicht gleichzeitig den induzierten Diamagnetismus, wie es bei den Messungen der statistischen magnetischen Suszeptibilität geschieht. Besonders im Falle der polyatomaren freien Radikale ist dies von Bedeutung, da bei allen bisher durchgeführten Messungen der magnetischen Suszeptibilität die Berechnung des meist durch π -Elektronen bedingten anomalen Diamagnetismus dieser Stoffe schwierig und unsicher war. Hinzu kommt noch eine wesentlich größere Empfindlichkeit der paramagnetischen Resonanz, so daß noch 10^{-10} g und in günstigen Fällen noch geringere Mengen freier Radikale gut gemessen werden können, sowie die experimentelle Eindeutigkeit und Eleganz der Methode.

Theorie

Unpaare Elektronen, die sich in einem statischen Magnetfeld H befinden, können sich entweder parallel oder antiparallel zu den Feldlinien dieses Magnetfeldes ausrichten. Die beiden energetischen Zustände, die dabei die Elektronen annehmen, sind $-\frac{1}{2}g\beta H$ und $+\frac{1}{2}g\beta H$, wobei β das BOHRsche Magneton, H die Feldstärke und g der paramagnetische oder spektroskopische Aufspaltungsfaktor ist. Wenn senkrecht zur Richtung der Feldlinien des sta-

tischen Feldes H ein Wechselfeld auf das Elektron wirkt, so kommt es für den Fall, daß die Energie ($h\nu$) dieses Wechselfeldes gleich der Differenz zwischen den beiden obigen Zuständen ist, zur Absorption, wobei das Gleichgewicht der Verteilung der Elektronen auf die beiden energetischen Niveaus gestört bzw. verschoben wird. Die Resonanzbedingung lautet dann

$$h\nu = g\beta H.$$

Für freie Elektronen ist der g -Faktor = 2,0023. Setzt man diesen Zahlenwert in die obige Gleichung ein, so ergibt sich, daß bei einem Feld von ca. 3300 Oe eine Frequenz des Wechselfeldes von ca. 9200 MHz erforderlich ist, um die Resonanz zu erhalten. Aus apparativen und prinzipiellen Gründen, auf die hier nicht weiter eingegangen werden kann, arbeitet man am günstigsten bei diesen hohen Frequenzen, also im cm-Wellen-Gebiet.

Diese Betrachtungen gelten jedoch exakt nur, wenn ein innermolekulares magnetisches Feld vernachlässigt wird. Im allgemeinen kann dieses zusätzliche Feld jedoch nicht unberücksichtigt bleiben. Die damit bedingten Veränderungen der paramagnetischen Resonanz ermöglichen wesentliche Aufschlüsse über den Bindungszustand der Elektronen. Wechselwirkungen der Elektronen untereinander und mit den magnetischen Momenten der Atomkerne resultieren in einer Änderung des g -Faktors, der Linienstruktur und Breite der Linien. Während die letzteren Wechselwirkungen, die zur Aufspaltung der Resonanzlinien führen, im experimentellen Teil dieser Arbeit zunächst nur erwähnt und späteren gesonderten Publikationen vorbehalten bleiben, befassen sich die Mehrzahl der hier vorliegenden Untersuchungen mit der Bestimmung des g -Faktors und der Breite der Resonanzlinien.

¹ A. N. HOLDEN, C. KITTEL, F. R. MERRIT u. W. A. YAGER, Phys. Rev. 75, 1614 [1949].

² C. H. TOWNES u. J. TURKEVICH, Phys. Rev. 77, 148 [1950].



Die g -Faktoren, insbesondere diejenigen für freie Radikale, liegen sehr nahe zum Wert von 2,0023 für freie Elektronen und unterscheiden sich oft nur in der vierten und fünften Stelle. Die hohe Genauigkeit der Frequenzmessungen und der Feldmessungen durch die Kernresonanz ermöglichen jedoch mit einigem Aufwand die Messung und Unterscheidung dieser Radikale. Die freien Radikale unterscheiden sich in dieser Hinsicht von den Komplexen der Übergangselemente, wo die g -Faktoren infolge z. Tl. sehr starker Spin-Bahn-Kopplungen von ca. 2 bis 6 variieren. Die Spin-Bahn-Koppelung ist bei den freien Radikalen sehr gering, da die Entartung der Bahn-Energieniveaus infolge der sehr niedrigen Molekularsymmetrie der organischen Moleküle fast vollständig aufgehoben ist. In welchem Maße diese Entartung mehr oder weniger vollständig ist, zeigen die im experimentellen Teil aufgeführten Ergebnisse.

Ein weiterer hier zur Diskussion stehender Meßparameter ist die Breite der paramagnetischen Absorption. VAN VLECK³ zeigte, daß bei reinen Dipol-Wechselwirkungen die Linienbreite der Resonanz wesentlich größer sein müßte (bei DPPH ca. 100 Gauß). Die außerordentlich schmale Resonanzlinie bei den freien Radikalen ist durch die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Radikalen untereinander bedingt. Diese Überlegungen werden durch Untersuchungen in stark verdünnten Lösungen gestützt, die eine wesentlich größere Linienbreite ergaben^{4,5}. Daß hier die Verhältnisse nicht überall gleich sind, wird auf Grund einiger neuer Messungen im experimentellen Teil gezeigt.

Meßanordnung

Das Blockschaltbild des benutzten 3,2 cm Spektrometers ist auf Abb. 1 angegeben. Es wurde mit H_{104} -Resonatoren und Rechteckhohlleitern in einer Durchstrahlungsanordnung gearbeitet, um ein schnelleres Auswechseln der Präparatgefäße mit den z. Tl. sehr kurzlebigen Radikalen zu ermöglichen. Ein Klystron 723 A/B erzeugte die Frequenz von 9270 MHz. Durch laufende Thermostat-Kühlung des Klystrons wurde sie ausreichend konstant gehalten. Die Frequenz wurde mit einem Topf- und einem Überlagerungs-Wellenmesser bis zur Genauigkeit von 10^{-4} – 10^{-5} und zur Kontrolle auch durch die Bestimmung der Feldstärke

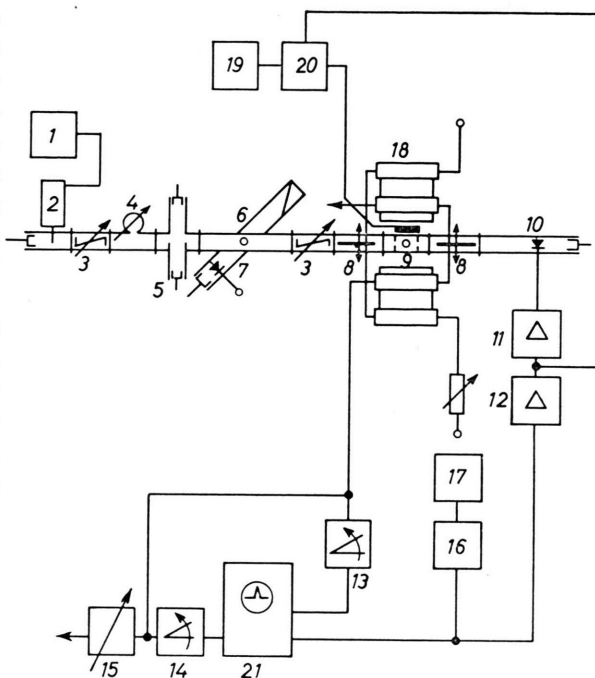


Abb 1. Blockschaltbild des paramagnetischen Resonanzspektrographen bei $\lambda=3,2$ cm. 1-stab. Netzgerät, 2-Klystron, 3-Attenuator, 4-Wellenmesser, 5-Anpassung, 6-Richtkoppler, 7-Monitor, 8-Phasenschieber, 9-Resonator, 10-Detektor, 11 u. 12-Verstärker, 13 u. 14-Phasenschieber, 15-Modulationstransformator 50 Hz, 16-phasensensitiver Verstärker, 17-Schreibgerät, 18-Elektromagnet, 19-stab. Netzgerät, 20-Kernresonanzmesser, 21-Oszillograph.

bei Resonanz des DPPH mittels Kernresonanz gemessen. Nach entsprechender Anpassung und Entkopplung passierte die Hf-Energie die zwischen den Polshuhen befindliche Meßsubstanz, wurde im Detektor am Ende der Meßanordnung gleichgerichtet, verstärkt und die Amplitudenänderung oszillographisch dargestellt. Die Modulation des Magnetfeldes war bei 50 Hz in ihrer Amplitude regelbar. Die resultierenden Resonanzsignale konnten anschließend mit einem Schreibgerät nach *Lock-in*-Verstärkung registriert werden. Um die Bestimmung der g -Faktoren bis zur fünften Stelle zu ermöglichen, wurde die Feldstärke mit einem Autodyn-Gerät mittels Protonenresonanz gemessen. Zur Kontrolle dieser Messungen wurden außerdem noch die in der Literatur bereits genau durchgemessenen Radikale DPPH ($g=2,0036$) und Diphenylstoffsäure ($g=2,0066$) zum Vergleich herangezogen, die infolge ihrer günstig liegenden Werte in der Skala der freien Radikale und wegen des noch gut meßbaren Abstandes von ca. 9 MHz (ca. 3 Gauß) für diese Zwecke besonders geeignet sind. Die Messungen wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt, da infolge der verhältnismäßig langen Relaxationszeit dieser Radikale Messungen bei tiefen Temperaturen nicht notwendig waren.

³ J. H. VAN VLECK, Phys. Rev. **74**, 1168 [1948].

⁴ C. JR. HUTCHISON, R. PASTOR u. A. KOWALSKY, J. Chem. Phys. **20**, 534 [1952].

⁵ H. JARRET u. R. HOWARD, J. Chem. Phys. **21**, 761 [1953].

Meßergebnisse

Im Zusammenhang mit der Aufklärung des pharmakologischen Wirkungsmechanismus N-substituierter Arylhydroxylamine⁶ wurden freie Radikale aus der Gruppe der Diarylstickstoffoxyde synthetisiert und ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften untersucht. Bereits in Vorversuchen wurde bei drei verschiedenen substituierten freien Radikalen dieser Gruppe bei Zimmertemperatur die paramagnetische Resonanz untersucht und die Unterschiede mit der chemischen Konstitution dieser Radikale in Zusammenhang gebracht⁷. In dieser Arbeit werden die Messungen mit größerer Meßgenauigkeit wiederholt und weitere neun Radikale aus dieser Gruppe hinzugenommen.

In Abb. 2 wird die allgemeine Formel der Diarylstickstoffoxyde neben der Formel des Diphenylpicrylhydrazyls (DPPH) angegeben. Es ist ersichtlich, daß, obwohl beide Stoffe eine ähnliche Struktur des freien Radikals haben, in den Diarylstickstoffoxyden der Einfluß der Substituenten an den Benzolringen und gegenseitige Wechselwirkungen eher

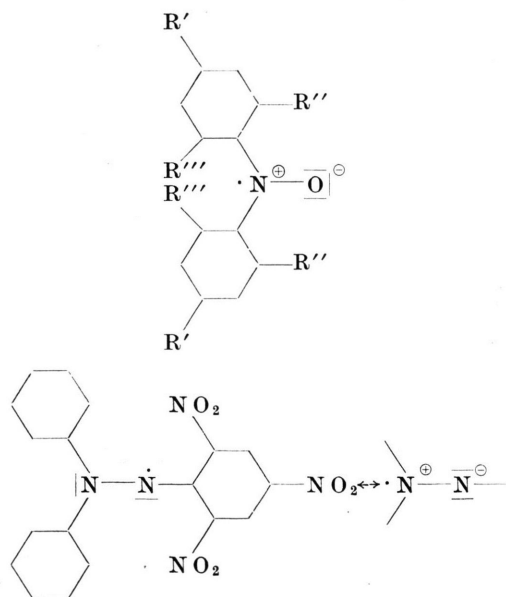


Abb. 2. Strukturformel der Diarylstickstoffoxyde und des β , β -Diphenylpicrylhydrazyls (DPPH).

zu erwarten sind, da das freie Elektron des Stickstoffs nicht im selben Maße abgeschirmt zwischen den Benzolringen liegt. Von den vorliegenden Radikalen ist bisher nur das Di-(methoxyphenyl)-stickstoffoxyd^{4, 8, 9, 10} untersucht worden, jedoch nur als Einzelsubstanz, d. h. ohne Vergleich mit den ähnlichen, anders substituierten Derivaten. In Abb. 3 ist ein Beispiel eines mit obiger Anordnung erhaltenen Oszillogramms zu sehen. Zur Markierung der Absorptionsstelle $g = 2,0036$ wurde gleichzeitig in einer Sonde eine sehr geringe Menge DPPH in die Meßsubstanz eingeführt, um die typische Absorption des zu messenden Radikals nicht zu verfälschen. Auf diese Weise und durch absolute Messungen der Feldstärke und der Wellenlänge sind die g -Faktoren bis zur fünften Stelle bestimmt worden. Die Halbwertsbreite der Resonanzabsorption ist durch Feldstärkemessungen mit einer Genauigkeit von etwa ± 1 Gauß bestimmt worden, wobei die natürliche Breite der Linie im Oszillogramm den größten Anteil am Fehler hatte. Die Genauigkeit der Bestimmung der Feldstärke mit der Kernresonanz übertrifft somit die durch die Substanz gegebene Meßgenauigkeit.

Die Meßergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die meisten freien Radikale sind als polykristalline Substanzen untersucht worden. Soweit sie annähernd in unpolaren Lösungsmitteln löslich waren, wurden sie auch gleichzeitig im gelösten Zustand gemessen. Einige der untersuchten Radikale entstehen und sind nur in Lösung haltbar und wurden daher nur in dieser Form untersucht. Als Lösungsmittel wurde im allgemeinen Aceton benutzt, nur im Falle des Di-(4-propoxyphenyl)-stickstoffoxyds das Dimethoxymethan. Die Konzentration der gelösten Diarylstickstoffoxyde betrug $5 \cdot 10^{-3}$ mol.

Die Messungen der paramagnetischen Resonanz sind besonders für die Untersuchung kurzlebiger Radikale geeignet. Auf der Abb. 4 ist das Oszillogramm der paramagnetischen Resonanz des Di-(4-propoxyphenyl)-stickstoffoxyds in Aceton angegeben. Da dieses Radikal kurzlebig ist, kann es direkt auf dem Oszillographenschirm während seiner gesamten Lebensdauer von etwa 20 min beobachtet werden.

⁶ W. HEUBNER, B. E. WAHLER u. C. ZIEGLER, Z. Physiol. Chem. **295**, 397 [1953]. — B. E. WAHLER, Int. Sympos. Struktur u. Funktion d. Erythrocyten, Tagung, Berlin 1956.

⁷ G. SCHOFFA, B. E. WAHLER u. H.-G. THOM, Acta Biol. Med. Germ. **1**, 114 [1958].

⁸ A. HOLDEN, C. KITTEL, F. MERRIT u. W. YAGER, Phys. Rev. **77**, 147 [1950].

⁹ A. HOLDEN, W. YAGER u. F. MERRIT, J. Chem. Phys. **19**, 1319 [1951].

¹⁰ D. BIJL u. A. ROSE-INNES, Phil. Mag. (Ser. 7) **44**, 1187 [1953].

Radikale	Substanz		Lösung	
	g	$H_{1/2}$	g	$H_{1/2}$
1. Di-(4-nitrophenyl)-stickstoffoxyd	2,0054	14,9	—	—
2. Di-(2-nitro-4-methoxyphenyl)-stickstoffoxyd	—	—	2,0060	10,0
3. Di-(2-methyl-4-methoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0061	15,3	—	—
4. Di-(4-methoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0063	15,7	2,0037	10,4
5. Di-(äthoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0067	16,0	—	—
6. Di-(4-propoxyphenyl)-stickstoffoxyd	—	—	2,0066	12,1
7. Di-(4-isopropoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0077	16,4	—	—
8. Di-(2,4-dimethoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0096	18,0	2,0050	—
9. Di-(2,4-diätoxyphenyl)-stickstoffoxyd	—	—	2,0078	11,7
10. Di-(2,4,6-trimethoxyphenyl)-stickstoffoxyd	2,0070	15,8	—	—
11. Di-(2,4-dimethoxy-6-methylphenyl)-stickstoffoxyd	2,0100	15,3	—	—

Tab. 1. Meßergebnisse.

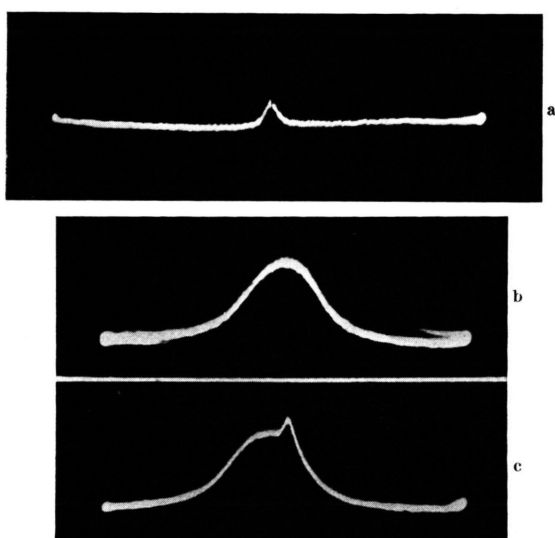
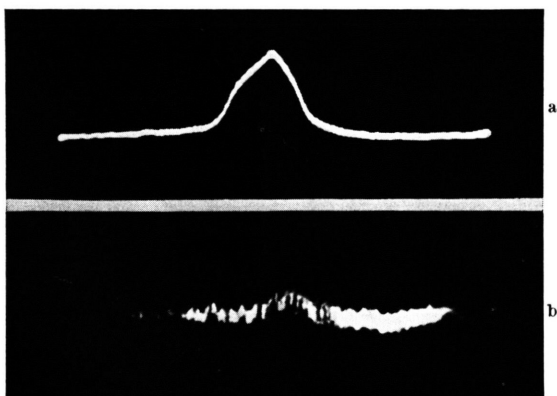


Abb. 3. a) Paramagnetische Resonanzabsorption des Di-(4-isopropoxyphenyl)-stickstoffoxyds, b) dasselbe mit DPPH, c) DPPH allein in gleicher Konzentration.

Abb. 4. a) Di-(4-propoxyphenyl)-stickstoffoxyd, gelöst in Dimethoxymethan $2 \cdot 10^{-3}$ mol. b) dasselbe nach 20 min.

Diskussion

Die Durchsicht der Meßergebnisse läßt zunächst erkennen, daß die g -Faktoren der verschiedenen substituierten Radikale zwischen 2,0054 und 2,0100 in polykristalliner Substanz verschiedene Zwischenwerte annehmen. Die Halbwertsbreiten $\Delta H_{1/2}$, unterscheiden sich dagegen im Rahmen der Fehlergrenzen nur wenig. Auffällig ist, daß bei sämtlichen Diarylstickstoffoxyden diese Halbwertsbreite wesentlich größer ist, als bei Diphenylpicrylhydrazyl. Offenbar führt die Abschirmung des am Stickstoff lokalisierten freien Elektrons durch die Benzolringe bei DPPH, in Übereinstimmung mit der Theorie von VAN VLECK, zur erheblichen Herabsetzung der Dipol-Wechselwirkungen. Diese Abschirmung ist bei den Diarylstickstoffoxyden auf Grund der chemischen Struktur wesentlich geringer. Die Nitrogruppen spielen hier möglicherweise ebenfalls eine Rolle, da auch bei den Radikalen 1 und 2 (s. Tab. 1) eine Verringerung der Halbwertsbreite festzustellen ist. Dieser Sachverhalt müßte jedoch an einer größeren Zahl von Substanzen überprüft werden.

Einige Radikale wurden gleichzeitig pulverförmig und in Lösung untersucht. Ausnahmslos findet sich bei den Radikalen in Lösung ein geringerer g -Faktor. In Lösungen der von uns benutzten Verdünnungen kommt es nicht nur zur Trennung der freien Radikale durch die dazwischenliegenden Moleküle des Lösungsmittels, sondern es ist auch mit chemischen Einflüssen des Lösungsmittels auf das Molekül zu rechnen. Die Abhängigkeit der magnetischen Suszeptibilität von der Konzentration ist insbesondere bei anorganischen Komplexen, bei denen die Spin-Bahn-Koppelung noch erhalten blieb, z. B. bei den Lösungen des CoCl_2 nachgewiesen worden. Da

die paramagnetische Resonanz in gewisser Parallelität zur magnetischen Suszeptibilität steht, findet man auch hier bei erhaltener Spin-Bahn-Koppelung ähnliche Einflüsse in Lösungen. Bei DPPH mit fast völlig aufgehobener Spin-Bahn-Koppelung ist bisher dieser Effekt nicht beobachtet worden. Auf den Einfluß und die Existenz der Spin-Bahn-Koppelung wird im letzten Teil der Arbeit noch ausführlicher eingegangen.

Zu bemerken ist, daß in stark verdünnten Lösungen keine Verbreiterung der Absorptionslinien, wie im Falle des DPPH, erfolgt. Offenbar hängt dies mit der unterschiedlichen chemischen Struktur der freien Radikale zusammen, die eine Verbreiterung der Resonanz durch Dipol-Wechselwirkungen noch in Lösungen der Konzentrationen von 10^{-3} -m. zuläßt. Ebenso ist hierbei die restliche Feldinhomogenität des H -Feldes gegebenenfalls zu berücksichtigen.

Im ersten Teil wurde ausgeführt, daß bei einem freien Elektron, also bei fehlender Spin-Bahn-Koppelung, ein g -Faktor von $g=2,0023$ zu erwarten wäre. Nahe bei diesem theoretischen Wert liegt der g -Faktor des DPPH mit 2,0036. Die Substitution durch Methyl-, Äthyl- und andere Gruppen führt zur Störung der Symmetrie des Moleküls und somit zum Auftreten der Spin-Bahn-Koppelung. Ähnlich wie im Falle der magnetischen Suszeptibilität erhöht die Spin-Bahn-Koppelung den g -Faktor um einen größeren oder kleineren Betrag. Bei starken Spin-Bahn-Wechselwirkungen erreicht dabei der g -Faktor bei den Ionen der Übergangselemente Werte von 6 und noch mehr. Bei den organischen Molekülen ist die Störung der Symmetrie durch die Substitution nicht so erheblich, die Spin-Bahn-Koppelung ist verhältnismäßig gering und Änderungen des g -Faktors treten nur in der vierten und fünften Stelle auf. Bei den hier gemessenen elf freien Radikalen kann in

der Tat eine Zunahme des g -Faktors mit zunehmender Zahl der Substituenten beobachtet werden (s. Tab. 1). Auch die Herabsetzung der Symmetrie durch verschiedene Substituenten führt zu dem theoretisch zu erwartenden Effekt. So ergibt sich bei Radikal 10 (s. Tab. 1) $g=2,0070$ und bei Radikal 11 $g=2,0100$. Mit zunehmender Größe der Substituenten nimmt die Spin-Bahn-Koppelung und damit auch die Größe des g -Faktors zu, wie es z. B. bei den Radikalen 4, 5, 6, 7 der Fall ist.

Die Untersuchung der Hyperfeinstruktur der paramagnetischen Resonanz, d. h. die Wechselwirkung des freien Elektrons mit dem magnetischen Moment des Kerns, soll Gegenstand einer späteren Publikation sein. Messungen bei Zimmertemperatur ergaben bei mehreren Radikalen einen deutlichen Ansatz zur Hyperfeinstruktur, wie sie z. B. auch auf der Abb. 4 a zu erkennen ist. BIJL und ROSE-INNES (loc. cit.) untersuchten bei ca. 190°K die Hyperfeinstruktur des Di-(2-methoxyphenyl)-stickstoffoxyds und fanden ebenfalls eine Aufspaltung der paramagnetischen Resonanz, die auf die Wechselwirkung des freien Elektrons mit dem ^{14}N -Kern zurückzuführen ist.

Einige in dieser experimentellen Untersuchung gefundene Gesetzmäßigkeiten sind auch bei der Spektroskopie im sichtbaren Gebiet bekannt. So findet man z. B. bei den R-Chromophoren bei Substitution mit OR-Gruppen eine Verschiebung der Absorptionsbanden nach dem kurzwelligen Gebiet, was einer Verschiebung des g -Faktors äquivalent ist¹¹.

Wir danken Herrn G. THUR für die technische Assistenz bei der Durchführung dieser Messungen. Für ihr förderndes Interesse sei ferner Herrn Prof. F. JUNG und Herrn Dr. H. PUPKE besonders gedankt.

¹¹ S. S. B. A. E. GILLAM und E. S. STERN, An Introduction to Electronic Absorption Spectroscopy in Organic Chemistry, London 1952.