

# EPR/ENDOR-Untersuchungen an Alkylsemichinonen in inversen Micellen. Computersimulation asymmetrischer Linienbreiten

B. Kirste, H. Kurreck, D. Niethammer und P. Tian

Meine Damen und Herren,

inverse Micellen haben sich in den letzten Jahren als ein besonders geeignetes Medium erwiesen, um polare oder ionische Radikale in wäßrigem Milieu, quasi unter physiologischen Bedingungen, mit den Methoden der EPR- und ENDOR-Spektroskopie zu untersuchen. Rein wäßrige Lösungen sind hierfür wegen der stark mikrowellendämpfenden Eigenschaften des Wassers wenig geeignet.

Zunächst möchte ich kurz erklären, was inverse Micellen sind.

## Inverse Micellen

Normale Micellen: "Öl in Wasser"

Inverse Micellen: "Wasser-in-Öl"-Mikroemulsionen

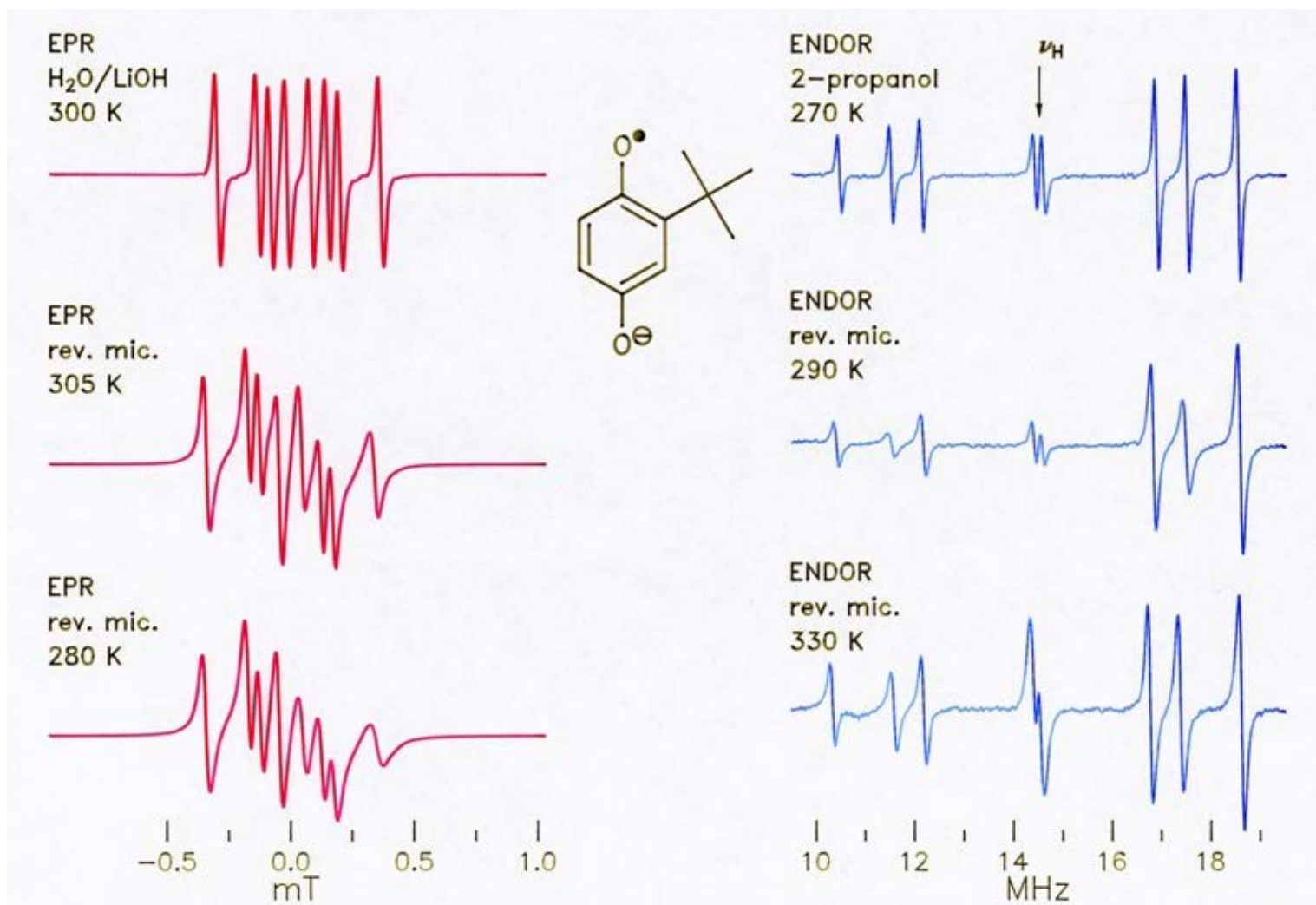
- Wäßrige Mikrophase, umgeben von Tensid-Molekülen (z.B. CTAB) und der äußeren organischen Phase (z.B. Cyclohexan/2-Methylhexan-2-ol).
- Charakteristisches Maß:  $W_0$ -Wert, ca. 10–15.

$$W_0 = \frac{[\text{Wasser}]}{[\text{Tensid}]}$$

Tensid-Konzentration: 0.2–0.3 mol/l CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromid).

*Normale* Micellen bilden sich bekanntlich in wäßrigen Lösungen amphiphiler Moleküle oberhalb der kritischen Micellkonzentration. Bei ihnen sind die unpolaren Kohlenwasserstoffketten nach innen gerichtet, die polaren Kopfgruppen nach außen; sie können zur Dispersion von Öl in Wasser dienen. *Inverse* Micellen sind hingegen "Wasser-in-Öl"-Mikroemulsionen, die aus einer inneren wäßrigen Mikrophase bestehen, umgeben von Tensid-Molekülen und der äußeren organischen Phase. Charakterisiert werden inverse Micellen durch den  $W_0$ -Wert, der als das Verhältnis der molaren Konzentrationen von Wasser und Tensid definiert ist. Bei unseren Untersuchungen lag er zwischen 10 und 15, so daß der Durchmesser des Wasserkerns etwa 40 bis 60 Å beträgt.

Als kationisches Tensid haben wir Cetyltrimethylammoniumbromid verwendet, als organische Phase Cyclohexan mit 2-Methylhexan-2-ol. Gegenstand unserer EPR- und ENDOR-Untersuchungen waren verschiedene Alkyl-p-benzosemichinon-Anionradikale.



Das nächste Dia zeigt auf der linken Seite EPR-Spektren, auf der rechten Seite ENDOR-Spektren des 2-*tert*-Butyl-1,4-benzoemichinonanionradikals. Das EPR-Spektrum oben links wurde in 0,1-molarer wässriger Lithiumhydroxidlösung aufgenommen. Es zeigt acht Komponenten, entsprechend der Hyperfeinwechselwirkung mit drei inäquivalenten Ringprotonen. Die Aufnahme eines ENDOR-Spektrums der wässrigen Lösung gelang uns bisher nicht, statt dessen ist oben rechts das in Isopropanol aufgenommene Spektrum abgebildet. Aus den Abständen der vier Linienpaare lassen sich vier Hyperfeinkopplungskonstanten ablesen, wobei die kleinste Kopplung den *tert*-Butylprotonen zuzuordnen ist.

In invers-micellarer Lösung ließen sich sowohl EPR- als auch ENDOR-Spektren problemlos aufnehmen. Im Vergleich zur gewöhnlichen wässrigen Lösung sind  $g$ -Faktor und Hyperfeinkopplungskonstanten geringfügig geändert. Besonders dramatisch sind allerdings die beobachteten Linienbreiteneffekte. Abgesehen von einer pauschalen Zunahme aller Linienbreiten findet man einen ausgeprägten asymmetrischen Linienbreiteneffekt in den EPR-Spektren und eine selektive Verbreiterung von ENDOR-Signalen, hier für die zweitgrößte Kopplung. Diese Effekte deuten auf eine Verlangsamung der Molekülbewegung in den inversen Micellen hin.

## Asymmetrische Linienverbreiterung (EPR)

$M_I$ -Abhängigkeit der EPR-Linienbreiten für einen Kern (z.B. Nitroxide):

$$T_2^{-1} = A + BM_I + CM_I^2$$

$A$ :  $\tau_c(\mathbf{g}' : \mathbf{g}')$ ,  $\tau_c(\mathbf{A}' : \mathbf{A}')$ , ...

$B$ :  $\tau_c(\mathbf{g}' : \mathbf{A}')$

$C$ :  $\tau_c(\mathbf{A}' : \mathbf{A}')$

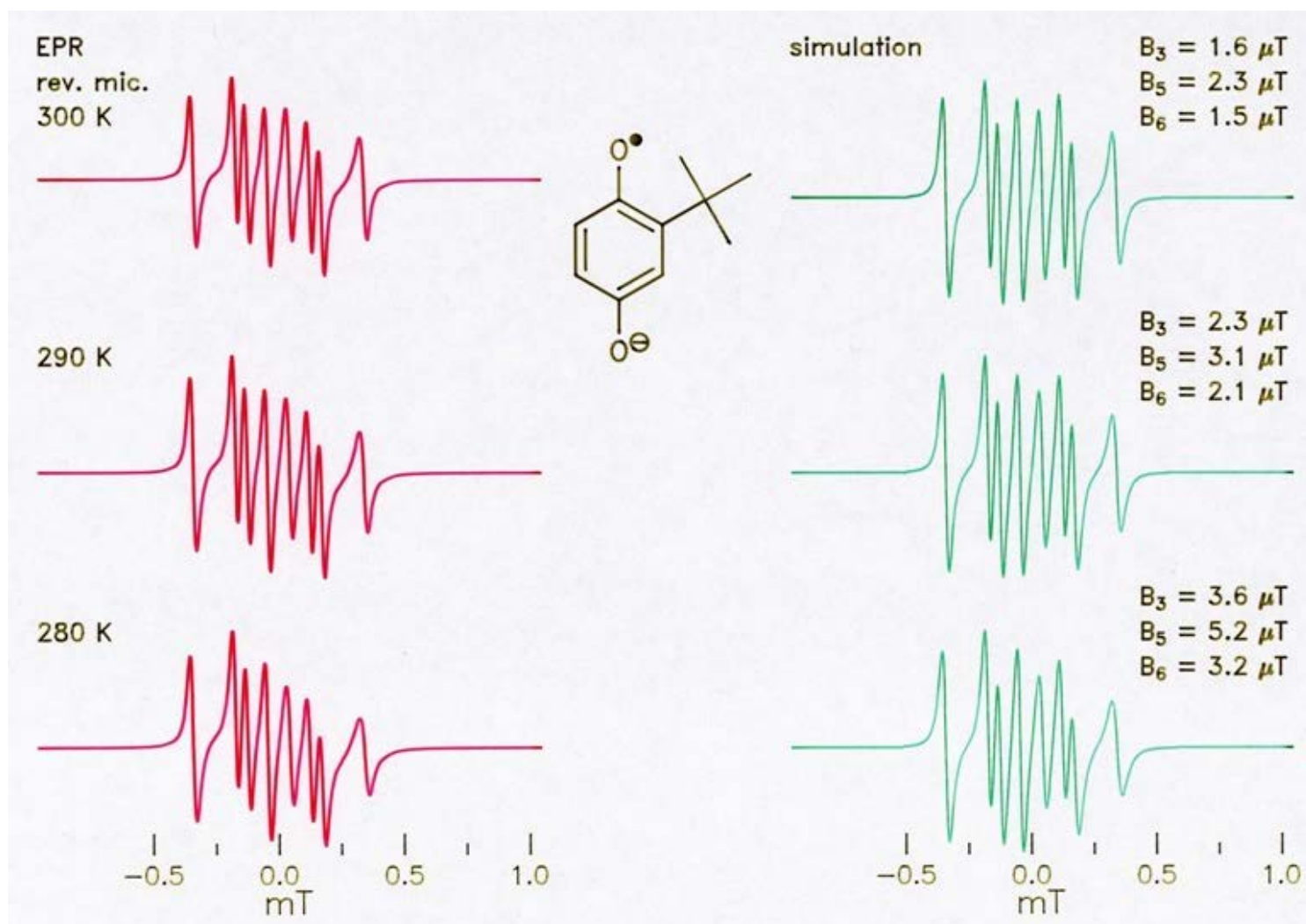
$$\tau_c = \frac{4\pi\eta r^3}{3kT}$$

$M_I$ -Abhängigkeit der EPR-Linienbreiten für mehrere Kerne:

$$T_2^{-1} = A + \sum_i B_i M_{Ii} + \sum_i C_i M_{Ii}^2 + \sum_{\substack{i,j \\ i < j}} E_{ij} M_{Ii} M_{Ij}$$

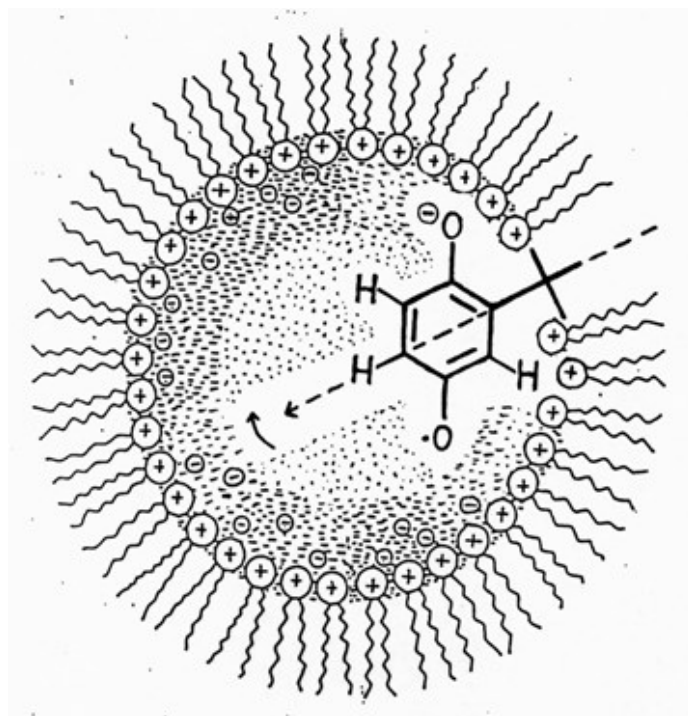
$E$ :  $\tau_c(\mathbf{A}'_i : \mathbf{A}'_j)$

Der asymmetrische Linienbreiteneffekt in EPR-Spektren läßt sich durch die angegebene Abhängigkeit von der magnetischen Kernspinquantenzahl  $M_I$  beschreiben. Die Koeffizienten  $A$ ,  $B$  und  $C$  hängen einerseits von der Rotationskorrelationszeit  $t_c$ , andererseits von den inneren Produkten der anisotropen  $g$ - bzw. Hyperfeintensoren ab. Die Rotationskorrelationszeit ist gemäß der Stokes-Einstein-Beziehung eine Funktion des hydrodynamischen Radius  $r$  und der Viskosität  $\eta$ . Wenn mehrere Kerne zu berücksichtigen sind, so muß man entsprechend summieren und außerdem die mit  $E$  bezeichneten Kreuzterme einbeziehen.

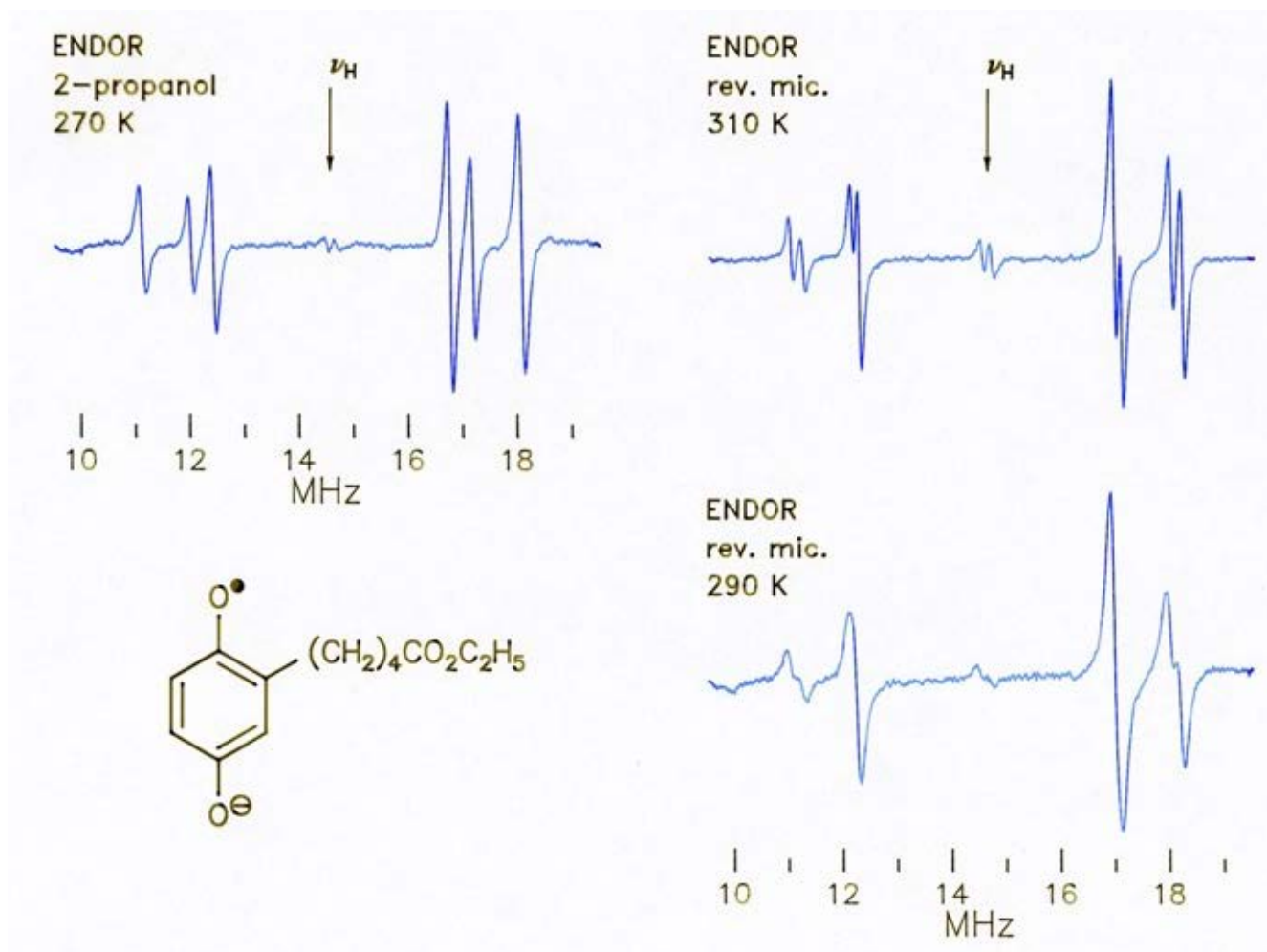


Das nächste Dia zeigt auf der linken Seite die bei drei verschiedenen Temperaturen aufgenommenen EPR-Spektren des *tert*-Butylbenzosemichinons, auf der rechten Seite Computersimulationen. Die Simulationen wurden durch automatische iterative Anpassung erhalten. Dabei konnten alle Einzellinienbreiten unabhängig voneinander variieren. Die Koeffizienten  $A$ ,  $B$ ,  $C$  und  $E$  wurden anschließend durch multilineare Regression aus den optimierten Linienbreiten ermittelt. Besonders charakteristisch sind die Koeffizienten  $B_i$ , die hier aufgeführt sind. Es sei hervorgehoben, daß die als  $B_5$  bezeichneten Parameter für die zweitgrößte Kopplung jeweils am größten sind. Man findet also eine Parallele zu der Beobachtung, daß die betreffenden ENDOR-Linien auch die größte Verbreiterung zeigen.

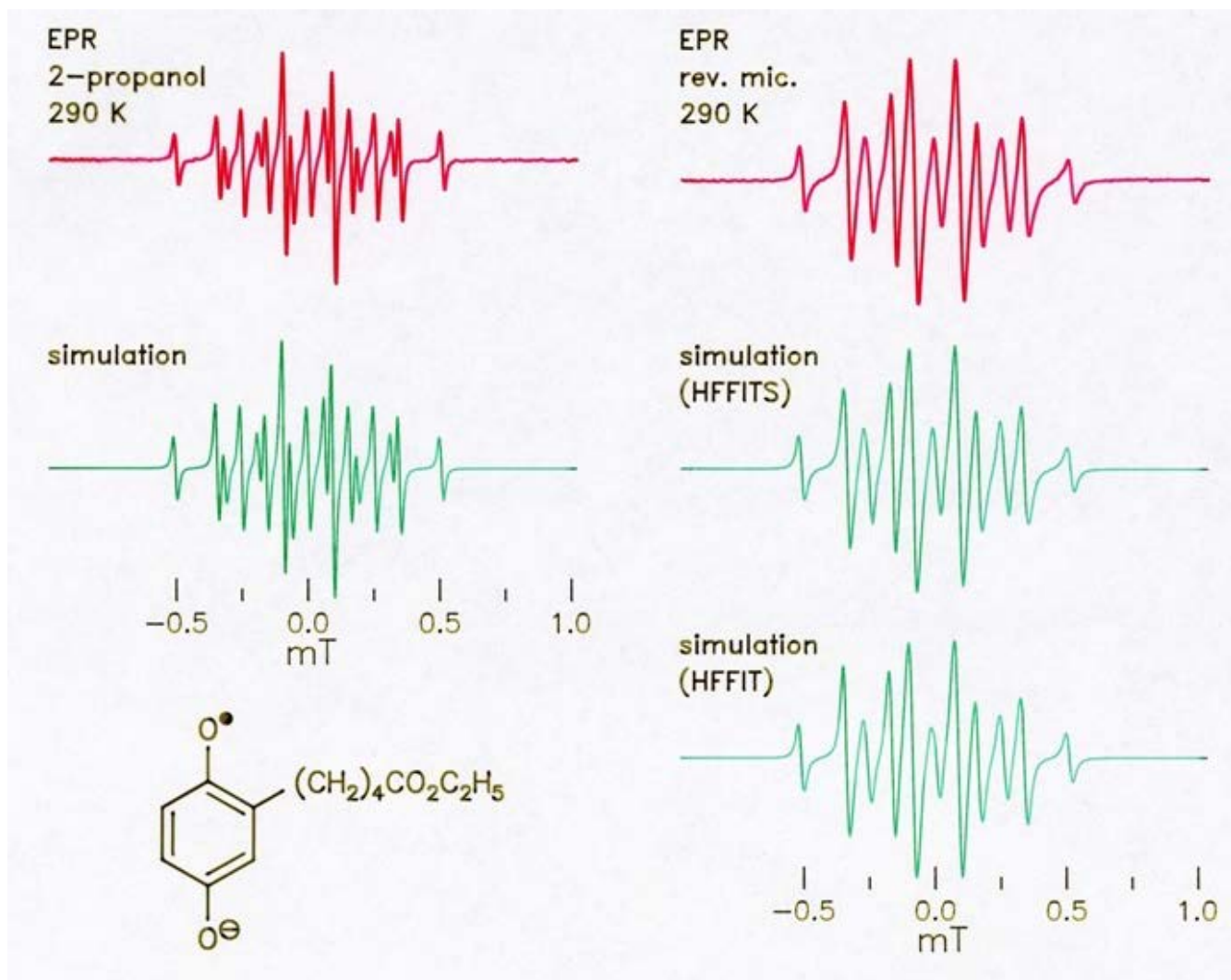
Unsere Erklärung für die beobachteten Linienbreiteneffekte möchte ich anhand des nächsten Dias erläutern.



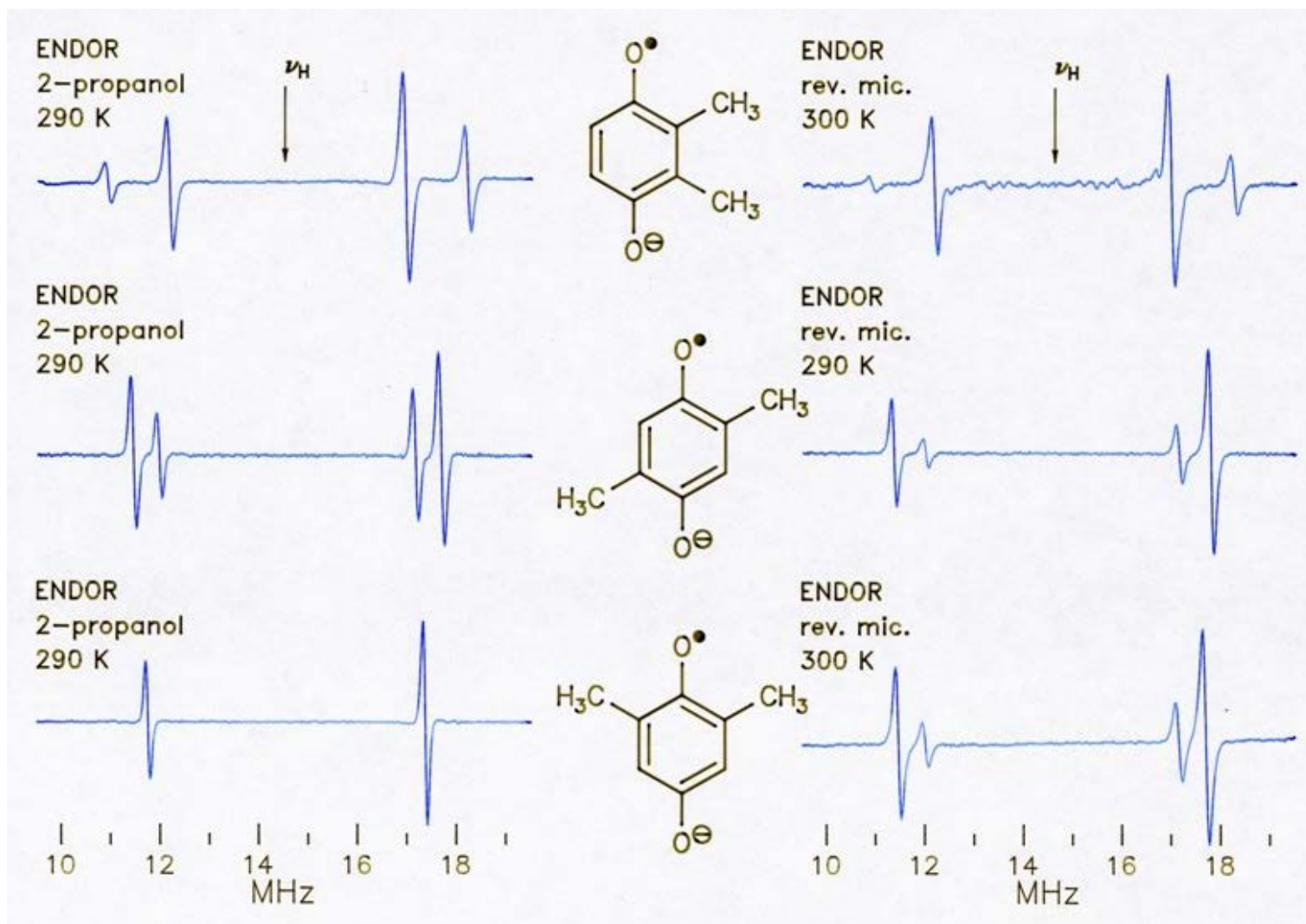
Aus der pauschalen Linienverbreiterung muß man zunächst schließen, daß eine Immobilisierung der Radikale stattfindet. Offenbar erfolgt eine Verankerung an der Wasser-Tensid-Grenzfläche, so daß die Bewegungsmöglichkeit der Radikale *innerhalb* der Micellen stark eingeschränkt wird. Die Rotationskorrelationszeit wird somit hauptsächlich durch den hydrodynamischen Radius der Micelle bestimmt, der wesentlich größer ist als derjenige der Radikalmoleküle. Weiterhin ist zu erklären, weshalb verschiedene Molekülpositionen unterschiedlich stark betroffen sind. Den größten Beitrag zur Linienverbreiterung liefert ja die zweitgrößte Kopplung, die wir aufgrund von HMO-McLachlan-Rechnungen sowie der beobachteten Lösungsmittelabhängigkeit der Kopplungskonstanten dem Proton 5 zuordnen, das sich der *tert*-Butylgruppe diagonal gegenüber befindet. Ursächlich muß nun eine *anisotrope* Molekülbewegung sein. Wir nehmen an, daß die Verankerung durch Eintauchen der Alkylgruppe in die apolare Grenzschicht erfolgt. Folglich könnten Rotationen um die eingezeichnete Achse ungehindert erfolgen, während Bewegungen der Achse selbst behindert wären. Da die größte dipolare Hyperfeinkomponente von Proton 5 gerade entlang dieser Achse liegt, wird ihr Einfluß nur langsam ausgemittelt und gibt somit zur Linienverbreiterung Anlaß. (Das Radikalmolekül ist übertrieben groß eingezeichnet.)



Als weiteres Beispiel zeigt das nächste Dia ENDOR-Spektren eines Semichinons mit einer längeren Kette in Position 2. Während in Isopropanol die Signale der beiden größten Kopplungen zusammenfallen, sind diese in invers-micellarer Lösung aufgespalten. Auch hier zeigt die zweitgrößte Kopplung, die wiederum dem Proton 5 zugeordnet wird, die stärkste Linienverbreiterung.

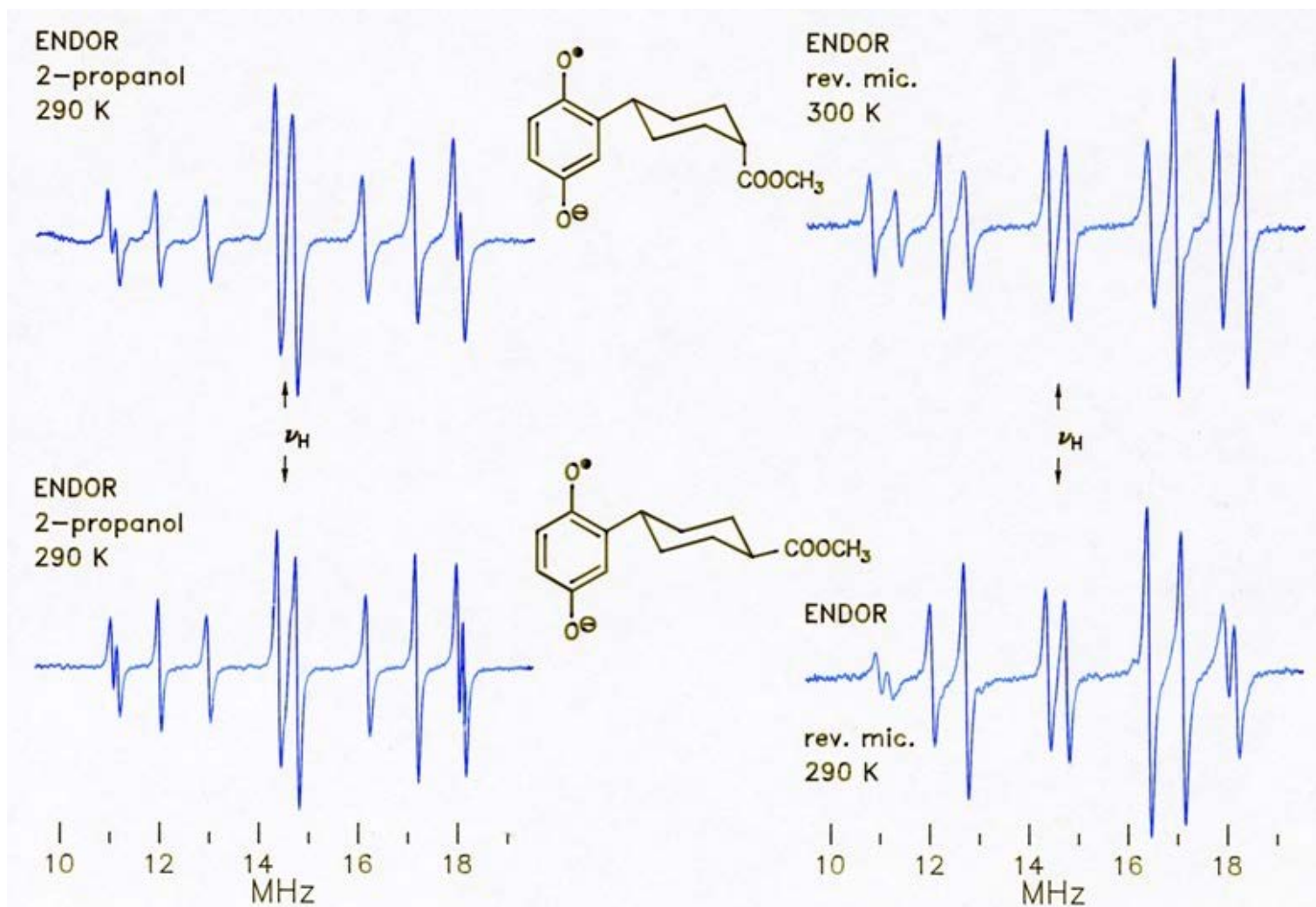


Das nächste Dia zeigt EPR-Spektren dieses Radikals und Computersimulationen. Die unten rechts gezeigte Computersimulation wurde mit Hilfe eines Modells erhalten, in dem die Kreuzterme vernachlässigt werden. Das Ergebnis ist zwar akzeptabel, doch ist die Übereinstimmung mit dem experimentellen Spektrum schlechter als im Falle der darüber abgebildeten Simulation, in der alle Einzellinienbreiten optimiert wurden.

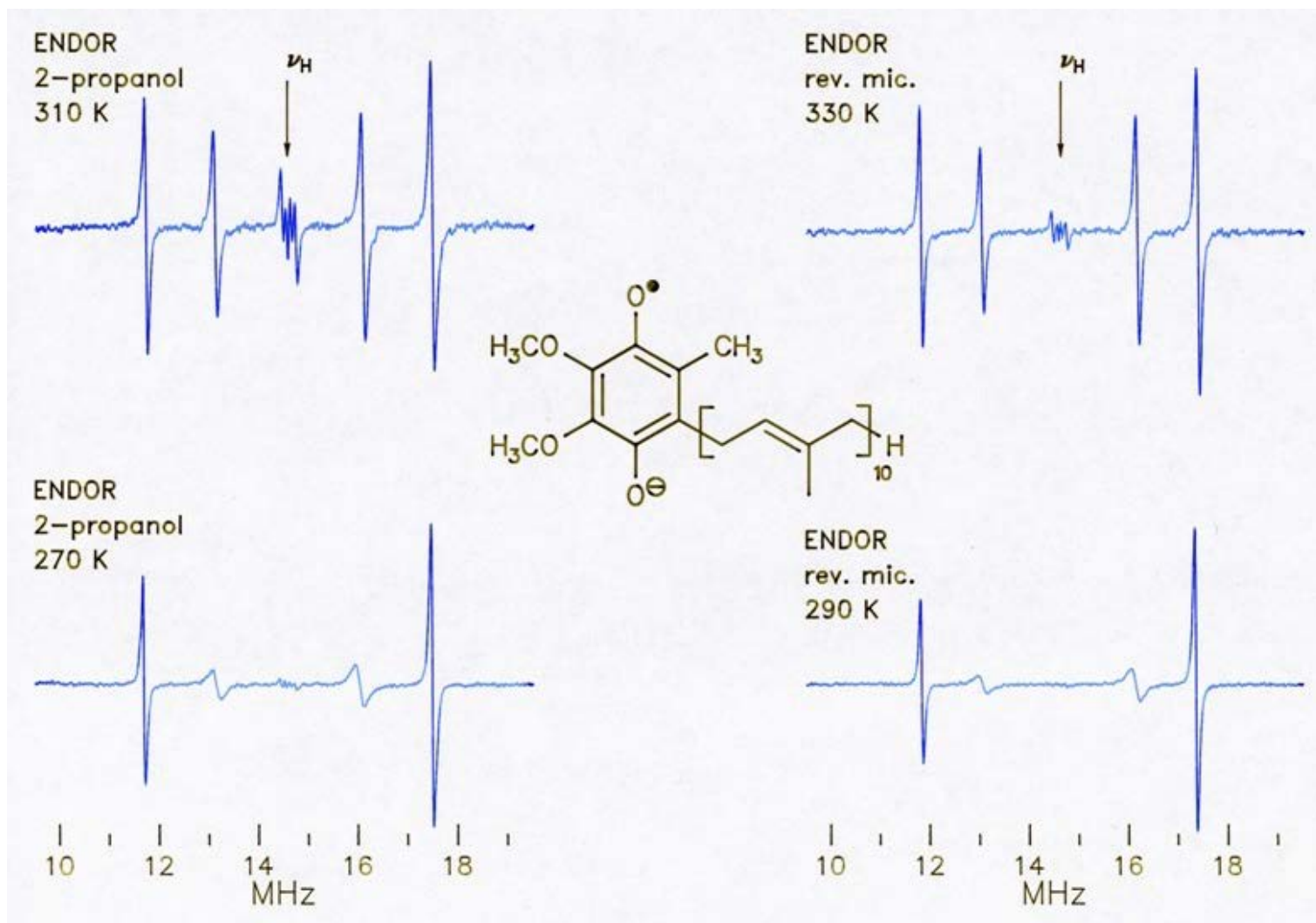


Im nächsten Dia sind die ENDOR-Spektren von drei isomeren Dimethylbenzosemichinonen zusammengestellt. Im Falle des 2,3- und des 2,5-Isomers sind die Kopplungskonstanten in Isopropanol und in invers-micellarer Lösung fast gleich. (Die Unterschiede betragen maximal 0.2 MHz.) Im Falle des unten abgebildeten 2,6-Isomers ergeben sich hingegen Änderungen von 0.5 bis 0.6 MHz; in Isopropanol sind Methyl- und Ringprotonenkopplung zufällig äquivalent. Die drei Isomere unterscheiden sich durch ihre Symmetrie; nur in der 2,3- und der 2,5-Verbindung sind die beiden Sauerstoffatome äquivalent. Wir nehmen daher an, daß die beiden Sauerstoffatome in der 2,6-Verbindung unsymmetrisch solvatisiert sind, so daß sich das obere Sauerstoffatom in der Grenzschicht aufhält, während das untere in die Wasserphase eintaucht und Wasserstoffbrückenbindungen ausbildet. Wie Modellrechnungen zeigen, läßt sich auf diese Weise eine Verschiebung von Spindichte in die obere Molekülhälfte erklären.

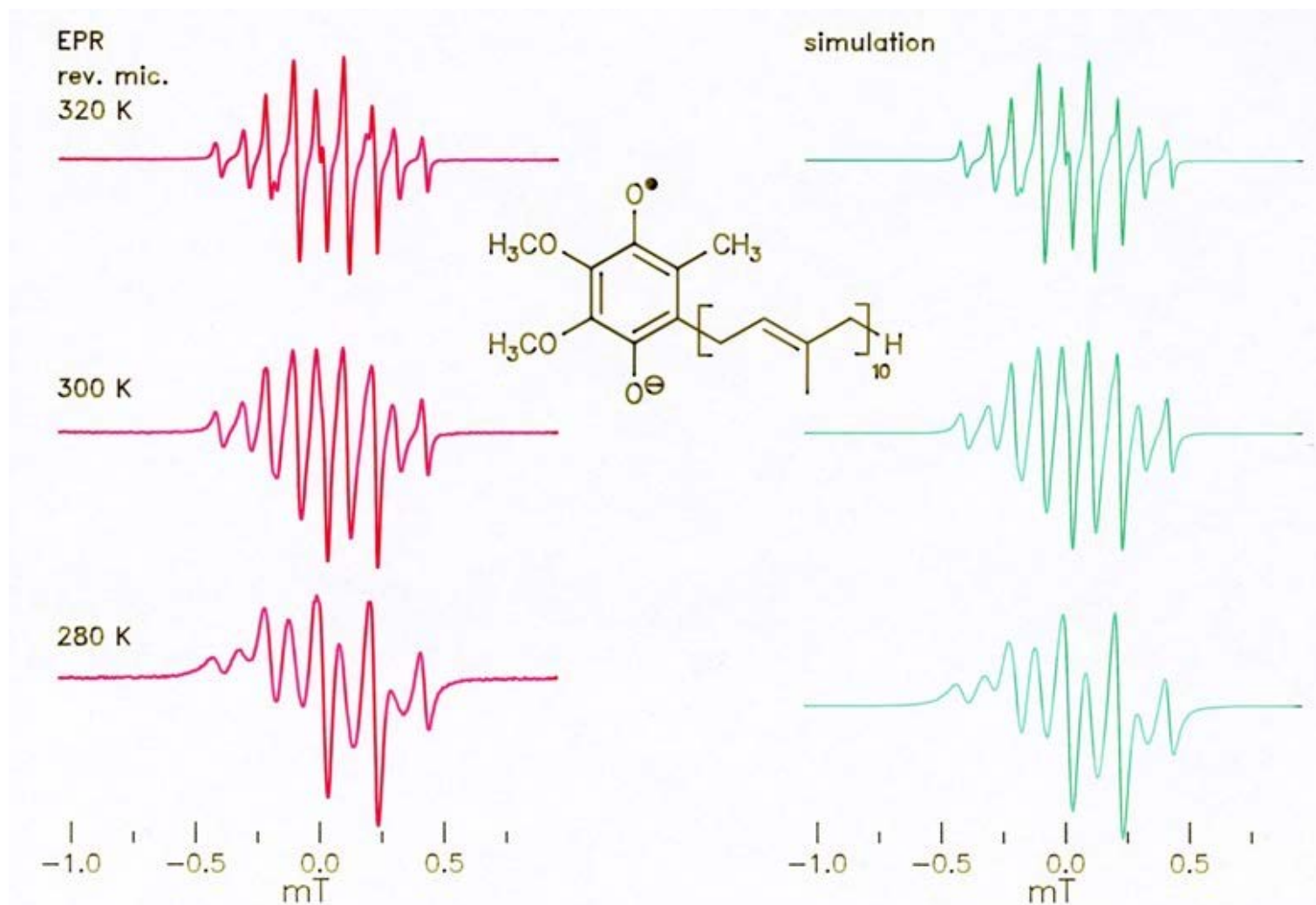




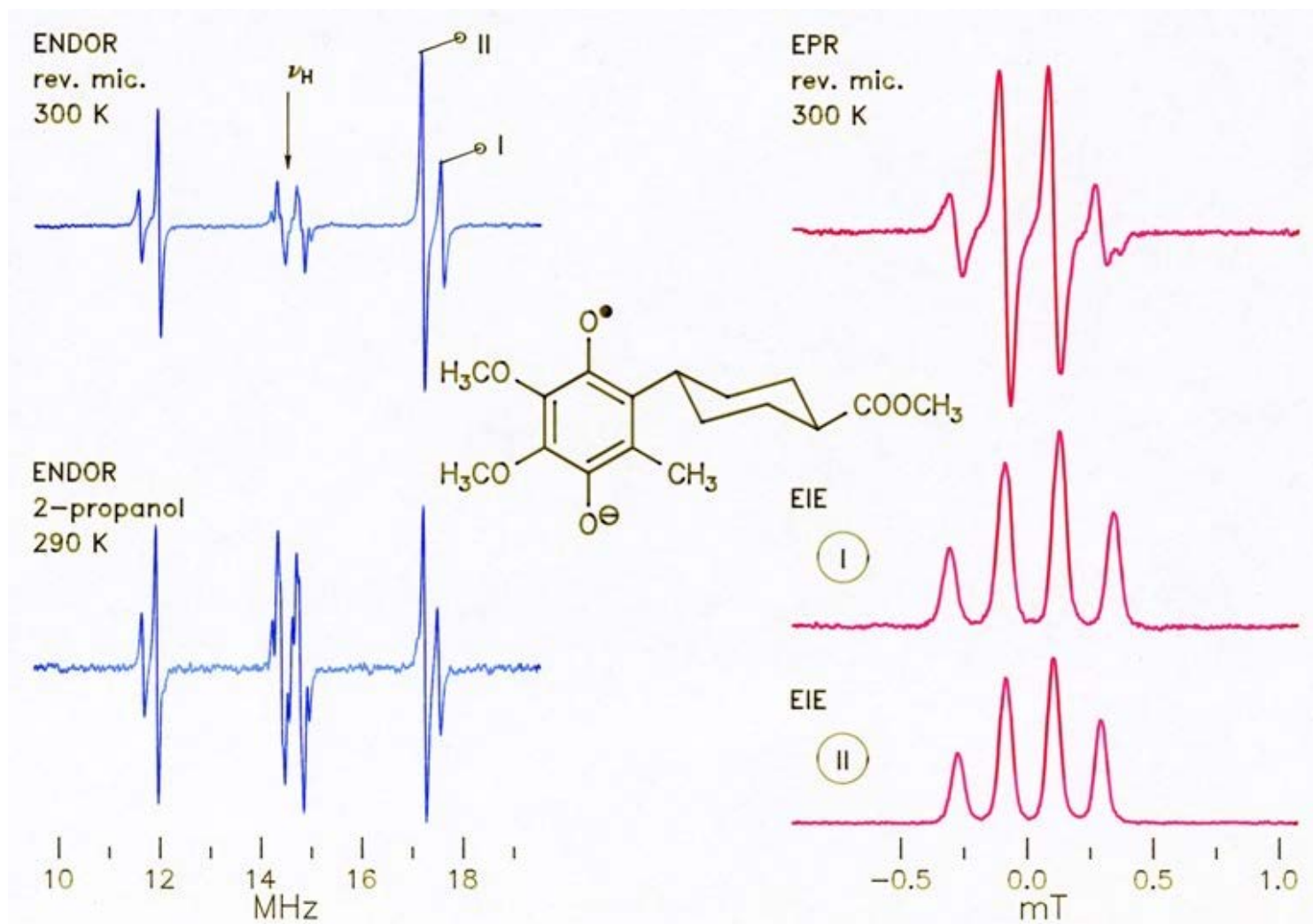
Im nächsten Dia werden die ENDOR-Spektren zweier diastereomerer 4-Methoxycarbonylcyclohexylbenzosemichinon-Anionen miteinander verglichen. Während in Isopropanol *cis*- und *trans*-Form im Rahmen der Meßgenauigkeit gleiche Kopplungskonstanten aufweisen, ergeben sich in invers-micellarer Lösung deutliche Unterschiede. Die Ursache für dieses Verhalten muß in der unterschiedlichen Verankerung der beiden Diastereomere in der Grenzschicht liegen.



Ubichinon ist eine interessante Verbindung, zum einen wegen seiner biologischen Bedeutung (Coenzym Q), u.a. als Elektronenakzeptor in der pflanzlichen Photosynthese, zum anderen wegen der langen Multiprenyl-Seitenkette, die eine besonders geeignete Ankergruppe für Untersuchungen in inversen Micellen abgeben sollte. Die ENDOR-Spektren zeigen bei tieferer Temperatur eine Verbreiterung (und schließlich eine Aufspaltung) der Methylenprotonen-Signale. Es ist schon seit langem bekannt, daß die Rotation der Multiprenyl-Seitenkette gehindert ist; die Aktivierungsenergie des internen dynamischen Prozesses beträgt etwa 30 kJ/mol.



Die EPR-Spektren des Ubisemichinons in invers-micellarer Lösung zeigen nun, insbesondere bei tieferer Temperatur, eine Kombination aus dem *asymmetrischen* Linienbreiteneffekt infolge der verlangsamten Molekülbewegung und dem *alternierenden* Linienbreiteneffekt infolge der gehinderten internen Rotation der Multiprenyl-Seitenkette.



Als letztes Beispiel soll ein Semichinon vorgestellt werden, das sich von Ubisemichinon dadurch unterscheidet, daß es anstelle der Multiprenyl-Kette eine Cyclohexylgruppe trägt. Die beiden mit I und II bezeichneten ENDOR-Signale sind nicht etwa dem Cyclohexyl-.beta.-proton bzw. der Methylgruppe zuzuordnen, sondern beides sind Methylsignale, jedoch von zwei verschiedenen Spezies. Man erkennt das zunächst am EPR-Spektrum (oben rechts), das im groben eine Quartett-Struktur aufweist, jedoch unsymmetrisch ist. Der eindeutige Nachweis für das Vorliegen von zwei Spezies wurde durch die Aufnahme der beiden ENDOR-induzierten EPR-Spektren erbracht, die mit den Positionierungen I und II erhalten wurden. Sie unterscheiden sich sowohl in der Methylkopplung als auch im  $g$ -Faktor. Die Kopplung des Cyclohexyl-.beta.-protons ist sehr klein, maximal 0.7 MHz. Dieses Proton muß also nahezu in der Ebene des Benzolrings liegen. Hierfür gibt es zwei Möglichkeiten, da das Proton entweder dem Sauerstoffatom oder der Methylgruppe zugewandt sein kann. Offenbar handelt es sich also um diese beiden Konformationen, deren Umwandlung ineinander selbst bei 340 K langsam bezüglich der EPR-Zeitskala erfolgt.

Zusammenfassend möchte ich sagen, daß inverse Micellen wegen ihrer Verwandtschaft zu biologischen Membranen ein interessantes Medium für EPR- und ENDOR-Untersuchungen an Radikationen sind. Vorgestellt wurden am Beispiel von Alkylsemichinonen asymmetrische Linienbreiteneffekte sowie die Unterscheidung von Diastereomeren und von Konformeren.

Abschließend möchte ich meinen Koautoren danken, nämlich Herrn Dominique Niethammer, Frau Peizhu Tian und Herrn Prof. Kurreck, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung. Ihnen danke ich für Ihre Aufmerksamkeit.