

Helmut Loth und Dieter Beer

Quantitative Untersuchungen über die Eigenassoziation von Barbitursäurederivaten in Lösung *)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 28. April 1970)

Die Eigenassoziation von *N*-Methyl-barbital und Cyclobarbital in Chloroform-Lösung wurde mittels der Dampfdruckosmometrie, der Lichtabsorption im nahen IR und der NMR-Spektroskopie untersucht. Die Beständigkeitskonstanten der Assoziate und die Assoziationsenthalpien wurden bestimmt. Die Anlagerung erfolgt, indem 2 Wasserstoffbrücken zwischen je 2 Molekülen ausgebildet werden.

Quantitative Investigations on the Association of Barbituric Acid Derivatives in Solution*)

The association of *N*-methylbarbital and cyclobarbital in chloroform solution was investigated by vapor pressure osmometry, light absorption in the near-infrared and n. m. r. spectroscopy. The association constants and enthalpies were determined. The molecules associate forming 2 hydrogen bonds between 2 molecules.

Die Untersuchungen von *Bertinotti* und Mitarbb.¹⁾ haben gezeigt, daß die in 5-Stellung disubstituierten Barbitursäurederivate, die an den Stickstoffatomen nicht substituiert sind, in festem Zustand über Wasserstoffbrücken assoziiert sind. Die Assoziation dieser Moleküle in Lösungen steht im Zusammenhang mit dem Löslichkeitsverhalten der Barbitursäurederivate und der Wirkungsweise hydrotroper Lösungsvermittler. Das praktische Interesse daran beruht auf der arzneilichen Verwendung dieser Verbindungen.

Als Modellsubstanzen haben wir das Cyclobarbital (5-Äthyl-5-[cyclohexen-(1)-yl]-barbitursäure) und das *N*-Methyl-barbital (1-Methyl-5,5-diäthyl-barbitursäure) verwendet; als Lösungsmittel diente aus meßtechnischen Gründen Chloroform. Zunächst führten wir Messungen mit dem Dampfdruckosmometer bei 37° aus. Die Auswertung unter Anwendung des Massenwirkungsgesetzes erfolgte nach Verfahren, die von *Kreuzer*²⁾ sowie *Kempter* und *Mecke*³⁾ angegeben worden sind. Die Beständigkeitskonstante der Assoziate lautet in allgemeiner Form:

$$K_{n(n+1)} = \frac{c_{n+1}}{c_n \cdot c_1} \quad (1a) \quad \text{oder} \quad K_{1n} = \frac{c_n}{c_1^n} \quad (1b)$$

c_n ist die Konzentration n -zähliger Assoziate mit $n = 1, 2, 3, 4 \dots$

Für die Konzentration der Lösung gilt

$$c = \frac{\text{Einwaage}}{\text{Mol.-Gew.} \times \text{Vol.}} = c_1 + 2c_2 + 3c_3 + \dots = \sum n c_n \quad (2)$$

*) Teil der Dissertation von *D. Beer*, Freie Univ. Berlin 1969.

1) *F. Bertinotti, M. Bonamico, M. Bratbanti, F. Coppola* und *G. Giacomello*, *Ann. Chimica* **49**, 825 (1958), *C. A.* **53**, 21973 (1959).

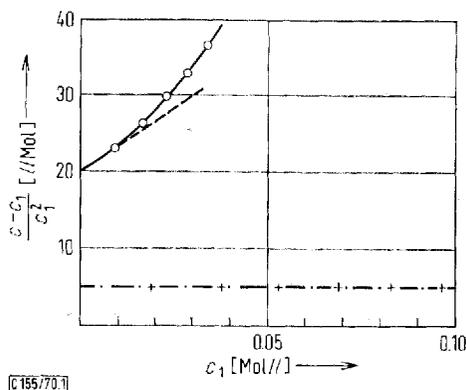
2) *J. Kreuzer*, *Z. physik. Chem.* **53**, 213 (1943).

3) *H. Kempter* und *R. Mecke*, *Z. physik. Chem.* **46**, 229 (1940).

Die mit dem Dampfdruckosmometer bestimmte Konzentration der Lösung hat demgegenüber einen kleineren Wert:

$$\bar{c} = c_1 + c_2 + c_3 + \dots = \Sigma c_n \quad (3)$$

Weiterhin wird definiert: Mittlerer Assoziationsfaktor $f = \frac{\bar{c}}{c}$ (4), Anteil der monomer vorliegenden Moleküle $\alpha = \frac{c_1}{c}$ (5) und $\bar{\alpha} = \frac{c_1}{\bar{c}}$ (6).



Abbild. 1. Messungen mit dem Dampfdruckosmometer zur Bestimmung von K_{12}

- - - - N -Methyl-barbital in CHCl_3 (Meßpunkte +)
- Cyclobarbital in CHCl_3 (Meßpunkte o)
- - - Tangente an die Cyclobarbitalkurve zur Schätzung von K_{13} (vgl. Text)

Zur Bestimmung der Beständigkeitskonstanten aus einer graphischen Darstellung von $\frac{\bar{c} - c_1}{c_1}$ gegen c_1 erhält man für N -Methyl-barbital eine zur Abszisse parallele Gerade (Abbild. 1):

In dem untersuchten Konzentrationsbereich tritt also nur eine Assoziation zu Dimeren ein. Dies folgt aus Gleichung (2), wenn man diese Gleichung bei der Konzentration der Dimeren abbricht und für c_2 das aus (1 b) ableitbare Produkt einsetzt; nach Umformung erhält man

$$\frac{\bar{c} - c_1}{c_1} = 2 K_{12} \quad (7)$$

Aus dem Ordinatenabschnitt entnimmt man: $(K_{12})_{37^\circ} = 2.55$ l/Mol. Für Cyclobarbital haben wir in der gleichen Darstellungsweise eine nach oben gekrümmte Kurve erhalten (Abbild. 1): In der Lösung müssen also noch höhere Assoziate als Trimere vorliegen, denn aus Gleichung (2) läßt sich in analoger Weise für eine Assoziation bis zu Trimeren eine lineare Funktion ableiten. Aus dem Ordinatenabschnitt erhält man $(K_{12})_{37^\circ} = 10$ l/Mol. Aus Abbild. 1 läßt sich auch K_{13} abschätzen, und zwar aus dem Anstieg der Kurve im Bereich geringer Konzentrationen, wo man erwarten darf, daß höhere Assoziate vernachlässigt werden können:

$$\frac{\bar{c} - c_1}{c_1} = 2 K_{12} + 3 K_{13} \cdot c_1 \quad (8)$$

$(K_{13})_{37^\circ} = 108 \text{ l}^2/\text{Mol}^2$ und $(K_{23})_{37^\circ} = \frac{K_{13}}{K_{12}} = 10.8 \text{ l}/\text{Mol}$. Die Ermittlung der c_1 -Werte erfolgt über eine graphische Integration der Funktion

$$\ln \frac{1}{a} = \int_0^c \frac{f-1}{f \cdot c} \cdot dc \quad (9)$$

in einer Darstellung von $\frac{f-1}{f \cdot c}$ gegen c ; aus den hierdurch bestimmten \bar{a} -Werten wird c_1 nach (6) berechnet.

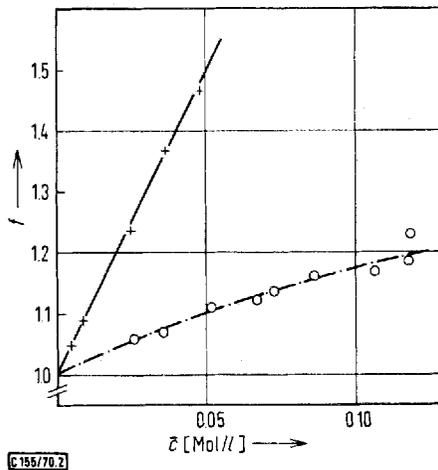
Bei einer von *Kempler* und *Mecke*³⁾ vorgeschlagenen Auswertungsmethode wird vorausgesetzt, daß Assoziate aller Zähligkeiten n gleichzeitig vorkommen und daß die Beständigkeitskonstanten der Assoziate verschiedener Zähligkeit gleich sind:

$$K_{12} = K_{23} = K_{34} = \dots = \bar{K} \quad (10)$$

Hieraus wird folgende Gleichung abgeleitet:

$$f = 1 + \bar{K} \cdot c \quad (11)$$

Für Cyclobarbitol haben wir die zu erwartende Gerade erhalten (Abbild. 2) und $\bar{K} = 10 \text{ l}/\text{Mol}$ ermittelt, während für das nur bis zu Dimeren assoziierende *N*-Methylbarbitol die Voraussetzung nicht erfüllt ist.



Abbild. 2. Messungen mit dem Dampfdruckkosmometer zur Bestimmung von \bar{K}

--- *N*-Methylbarbitol
 — Cyclobarbitol

Die IR-Spektroskopie liefert den Beweis dafür, daß die Assoziation tatsächlich über Wasserstoffbrücken erfolgt, und zwar am deutlichsten durch die NH-Valenzschwingungsbanden. In allen Lösungen tritt eine intensive, relativ scharfe Bande bei 3385/cm auf, die den freien, also nicht an Wasserstoffbrücken beteiligten NH-Gruppen zuzuordnen ist. In stark verdünnten Lösungen sind Banden assoziierter NH-Gruppen nicht zu erkennen oder nur schwach angedeutet (0.004m *N*-Methylbarbitol: keine assoziierten NH-Banden, 0.006m Cyclobarbitol: sehr schwache assoziierte NH-Banden).

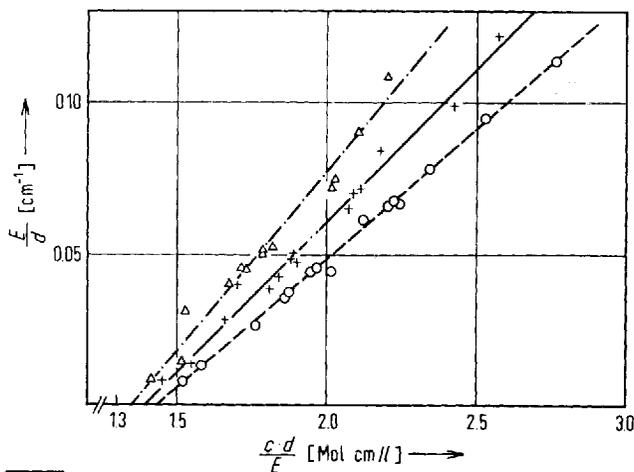
Mit steigender Konzentration treten dann an Intensität gewinnende Banden bei 3215 und 3085 – 3095/cm auf, die durch ihre breite Form als Assoziatbanden gekennzeichnet sind. Da sich die Banden gegenseitig überlappen, ist eine quantitative Auswertung solcher Messungen ungünstig. Dies gilt in noch stärkerem Maße für den CO-Valenzschwingungsbereich. Immerhin liefern diese Spektren das erwartete Indiz für die Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen den NH- und CO-Gruppen.

Wesentlich besser ist die Absorption im Bereich der 1. Oberschwingung der freien NH-Gruppen für eine quantitative photometrische Bestimmung geeignet⁴⁾. Diese liegt bei 1.51 μ und ist nicht von anderen Banden überlagert. Beim *N*-Methyl-barbital erfolgt nur eine Assoziation zu Dimeren, wie die osmometrischen Messungen gezeigt haben. Es ist zu erwarten, daß die beiden Moleküle durch 2 Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind, so daß dieses Dimere keine freie Amidgruppe mehr besitzt. Die Extinktion ist demnach proportional der Monomerenkonzentration c_1 . Folglich gilt:

$$c_1 = \frac{E}{\epsilon \cdot d} \quad (12)$$

Setzt man diesen Ausdruck in die Gleichung (7) ein und formt sie um, so erhält man:

$$\frac{E}{d} = \frac{\epsilon^2}{2 K_{12}} \frac{c \cdot d}{E} - \frac{\epsilon}{2 K_{12}} \quad (13)$$



[155/70.3]

Abbild. 3. Messungen der Lichtabsorption des *N*-Methyl-barbitals in CHCl_3 im nahen Infrarot bei 1.51 μ .

--- 25°, — 35°, - · - · 45°

Die Abbild. 3 zeigt die bei 3 Temperaturen gemessenen Werte in einer Darstellung von $\frac{E}{d}$ gegen $\frac{c \cdot d}{E}$, die die nach (13) zu erwartenden Geraden ergeben. Der Ab-

⁴⁾ W. Luck, Naturwissenschaften 52, 25 (1965).

szissenschnittpunkt ($\frac{E}{d} = 0$) ist gleich $\frac{1}{\varepsilon}$; nach Kenntnis dieses Wertes kann der Anstieg der Geraden ($= \frac{\varepsilon^2}{2K_{12}}$) zur Bestimmung der Beständigkeitskonstanten benutzt werden:

$$\begin{array}{ll} 25^\circ: \varepsilon = 0.697 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & K_{12} = 2.83 \text{ l/Mol} \\ 35^\circ: \varepsilon = 0.720 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & K_{12} = 2.59 \text{ l/Mol} \\ 45^\circ: \varepsilon = 0.743 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & K_{12} = 2.33 \text{ l/Mol} \end{array}$$

Diese Beständigkeitskonstanten passen gut zu dem durch Dampfdruckosmometrie bei 37° bestimmten Wert, wie auch die graphische Darstellung für *N*-Methyl-barbital in Abbild. 5 zeigt. Da die temperaturabhängige Ausdehnung der Lösung nicht berücksichtigt wurde, ist dieser Effekt in der Änderung von ε enthalten. Die Bindungsenthalpie ΔH läßt sich nach *van't Hoff* aus der Funktion

$$\lg K = -\frac{\Delta H}{4.574} \cdot \frac{1}{T} + A \quad (14)$$

ermitteln (Abbild. 5). Durch Ausgleichsrechnung haben wir erhalten: $-\Delta H = 1.82 \text{ kcal/Mol}$.

Wie wir aus den Dampfdruckmessungen wissen, liegen beim Cyclobarbitol neben den Monomeren stets Assoziate verschiedener Zähligkeit vor. Cyclobarbitol besitzt 2 NH-Gruppen, und wenn wir wiederum von der oben gemachten Annahme ausgehen, daß je 2 Moleküle durch 2 Wasserstoffbrücken verbunden sind und daß dabei kettenförmige Assoziate entstehen, so ergibt sich, daß die Assoziate an jedem Ende der Kette eine freie NH-Gruppe besitzen. Damit kommt den Assoziaten unabhängig von ihrer Zähligkeit die gleiche Absorption bei 1.51μ zu wie den Monomeren. Demnach ist beim Cyclobarbitol die Extinktion der Konzentration \bar{c} proportional:

$$E = \varepsilon \cdot d \cdot \bar{c} \quad (15) \quad \bar{c} = \frac{E}{d \cdot \varepsilon} \quad (15a)$$

Bei den osmometrischen Messungen hat sich die *Kempfer-Mecke*-Näherung als gültig erwiesen; es ist daher naheliegend, Gleichung (11) auch für die Auswertung der photometrischen Messungen heranzuziehen. Wir haben in (11) für f den Ausdruck (4) und für \bar{c} den Ausdruck (15a) eingesetzt und nach dem Umformen erhalten:

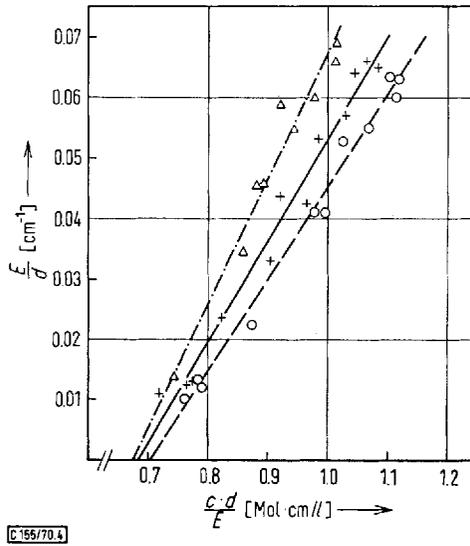
$$\frac{E}{d} = \frac{\varepsilon^2}{\bar{K}} \cdot \frac{c \cdot d}{E} - \frac{\varepsilon}{\bar{K}} \quad (16)$$

Bei Erfüllung der Voraussetzungen ergibt die Darstellung von $\frac{E}{d}$ gegen $\frac{c \cdot d}{E}$ eine Gerade, die die Abszisse bei $\frac{1}{\varepsilon}$ schneidet und die Steigung $-\frac{\varepsilon^2}{\bar{K}}$ besitzt. Abbild. 4 zeigt unsere Meßwerte, aus denen wir folgende Größen berechnet haben:

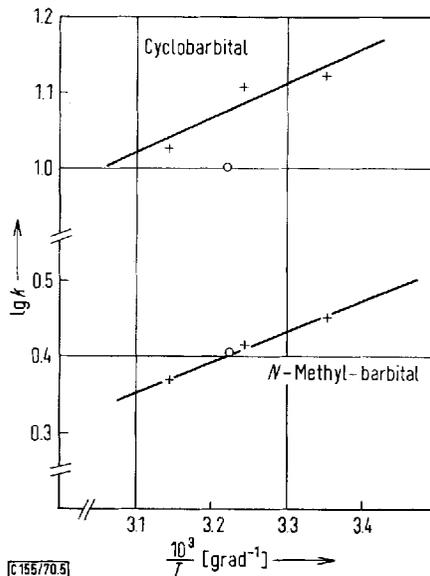
$$\begin{array}{ll} 25^\circ: \varepsilon = 1.42 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & \bar{K} = 13.2 \text{ l/Mol} \\ 35^\circ: \varepsilon = 1.46 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & \bar{K} = 12.7 \text{ l/Mol} \\ 45^\circ: \varepsilon = 1.48 \text{ l/Mol} \cdot \text{cm} & \bar{K} = 10.6 \text{ l/Mol} \end{array}$$

Die molaren Extinktionskoeffizienten sind doppelt so groß wie beim *N*-Methyl-barbital, was dem Verhältnis der Zahl der NH-Gruppen entspricht. Aus den \bar{K} -Werten erhält man nach (14) (Abbild. 5):

$$-\Delta H = 2.0 \text{ kcal/Mol}$$



Abbild. 4. Messungen der Lichtabsorption des Cyclobarbitals in CHCl_3 bei 1.51μ
 --- 25° , — 35° , - · - 45°



Abbild. 5. Ermittlung der Bindungsenthalpie nach *van't Hoff*
 + IR-Messungen, o Dampfdruckmessungen

Wenn auch die Beständigkeitskonstanten größere Abweichungen von der Ausgleichsgeraden (die darum nur geschätzt wurde) als beim *N*-Methyl-barbital aufweisen, lassen sie dennoch erkennen, daß für beide Geraden ungefähr die gleiche

Steigung angenommen werden kann. Da bei Cyclobarbitol der aus den Dampfdruckmessungen gewonnene \bar{K} -Wert mit den IR-Messungen nicht gut übereinstimmt, blieb er hierbei unberücksichtigt.

In Abbild. 6 ist zur Veranschaulichung des Assoziationsgrades von *N*-Methylbarbitol und Cyclobarbitol α in Abhängigkeit von c dargestellt. Die α -Werte sind aus den Meßergebnissen im nahen Infrarot berechnet.

Für *N*-Methylbarbitol gilt:

$$\alpha = \frac{c_1}{c} \cdot c_1 = -\frac{1}{4K_{12}} + \sqrt{\frac{1}{16K_{12}^2} + \frac{c}{2K_{12}}} \quad (17)$$

Beim Cyclobarbitol ist c_1 nicht direkt meßbar; darum wurde α folgendermaßen ermittelt:

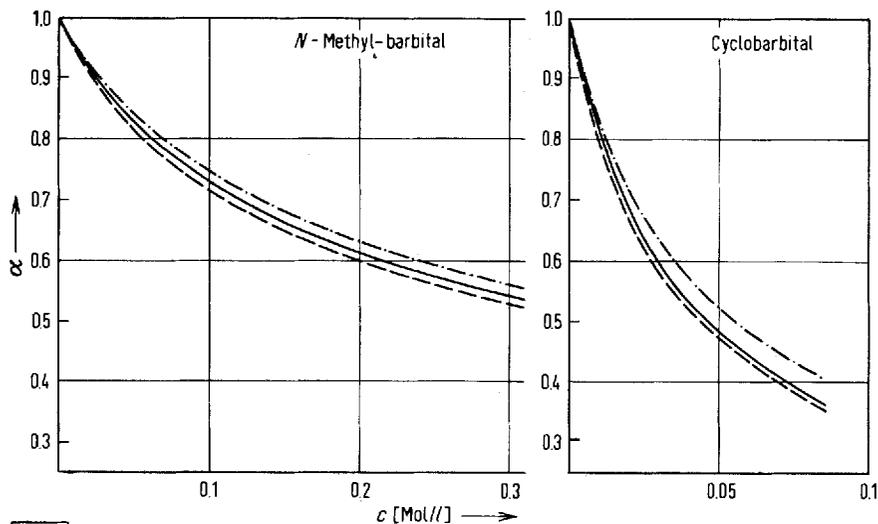
$$\alpha = \frac{\bar{\alpha}}{f} \quad (18)$$

Die $\bar{\alpha}$ -Werte wurden durch graphische Integration der Gleichung (9) und die f -Werte aus Gleichung (11) bestimmt.

Für die Auswertung von NMR-Spektren verschieden konzentrierter Lösungen des *N*-Methylbarbitols nach der Formel⁵⁾

$$\delta = \alpha \cdot \delta_M + (1 - \alpha) \delta_D \quad (19)$$

müssen neben der gemessenen chemischen Verschiebung δ der Amidprotonen in der Lösung die chemischen Verschiebungen der Monomeren δ_M und der Dimeren δ_D bekannt sein. Durch Extrapolation der gemessenen Werte auf unendliche Verdünnung



Abbild. 6. Assoziation von *N*-Methylbarbitol und Cyclobarbitol in Chloroform

--- 25°, — 35°, - · - · 45°

⁵⁾ G. C. Pimentel, A. L. McClellan, The Hydrogen Bond, W. H. Freeman und Co, San Franzisko-London 1960.

haben wir $\delta_M = 8.4$ ppm geschätzt. Lösungen des *N*-Methyl-barbitals in CHCl_3 , in denen eine praktisch vollständige Assoziation zu Dimeren erfolgt ist, lassen sich nicht herstellen (vgl. Abbild. 6). Um einen Näherungswert für die chemische Verschiebung der Dimeren zu erhalten, haben wir eine Messung dicht oberhalb des Schmelzpunktes bei 190° durchgeführt: $\delta_D = 9.25$ ppm. Dieser Wert liegt jedoch niedriger als der für eine $0.93m$ Lösung ($\delta = 9.27$ ppm), so daß eine zuverlässige Auswertung nicht erwartet werden kann, zumal die Differenz $\delta_D - \delta_M = 0.85$ sehr klein ist. Die Berechnung von K aus den gemessenen δ -Werten stimmt darum nur bei niedrigen Konzentrationen in der Größenordnung mit den oben ermittelten Beständigkeitskonstanten überein.

Deshalb haben wir weiterhin die chemische Verschiebung der Dimeren berechnet, indem wir Gleichung (19) umgeformt haben:

$$\delta_D = \frac{\delta \cdot c - \delta_M \cdot c_1}{c - c_1} \quad (19a)$$

c_1 haben wir mit Hilfe der photometrisch bestimmten Beständigkeitskonstanten K_{12} berechnet:

$$c_1 = -\frac{1}{4 \cdot K_{12}} \pm \sqrt{\frac{c}{2 \cdot K_{12}} + \frac{1}{16 \cdot K_{12}^2}} \quad (20)$$

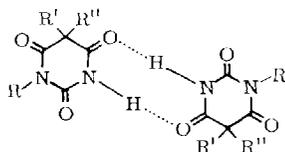
In der Tab. sind die Ergebnisse wiedergegeben; als Mittelwert haben wir erhalten: $\delta_D = (9.58 \pm 0.33)$ ppm.

NMR-spektroskopische Messung der chemischen Verschiebung der Amidprotonen des *N*-Methyl-barbitals in Chloroform bei 35°

c [Mol/l]	gemessen δ [ppm]	c_1 [Mol/l]	berechnet δ_D [ppm]
0.065	8.6	0.0514	9.35
0.134	8.63	0.0911	9.12
0.258	8.98	0.147	9.74
0.506	9.23	0.231	9.92
0.930	9.27	0.338	9.77

$\bar{\delta}_D = (9.58 \pm 0.33)$

Bei Cyclobarbitol treten Assoziat verschiedener Zähligkeit auf, und die chemische Verschiebung der assoziierten Amidprotonen kann aus den NMR-Spektren nicht bestimmt werden, so daß die Gleichung (19) nicht auswertbar ist. Wegen der geringen Löslichkeit des Cyclobarbitals in Chloroform mußten die Messungen mit Hilfe eines Cat durchgeführt werden; die Ergebnisse zeigten folgende Besonderheit: Mit steigender Konzentration werden die Signale der Amidprotonen zunächst nach niederem Feld, oberhalb einer Konzentration von etwa 0.05 Mol/l jedoch wieder nach höherem Feld verschoben. Eine ähnliche Erscheinung wurde bei der Essigsäure beobachtet⁶⁾.



1 Dimeres Assoziat

R = CH_3 : *N*-Methyl-barbital

R = H : Cyclobarbitol

⁶⁾ Zitiert nach: H. Suhr, Anwendungen der kernmagnetischen Resonanz in der organischen Chemie, S. 325, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965.

Die Messungen haben die angenommenen Voraussetzungen bestätigt: *N*-Methylbarbital, das nur 1 Amidproton besitzt, assoziiert unter den von uns untersuchten Bedingungen unter Bildung von Dimeren; zwischen den beiden Molekülen sind 2 Wasserstoffbrücken vorhanden (1). Diese Anordnung ist sterisch und energetisch am günstigsten, weil der Bindungswinkel der Wasserstoffbrücke dann nahe 0° ist, d. h. die 3 beteiligten Atome liegen auf einer Geraden, die mit der Symmetrieachse des Orbitals des freien Elektronenpaares des Akzeptors zusammenfällt. Beim Cyclobarbital mit 2 freien Amidgruppen können durch Assoziation nach dem gleichen Prinzip längere Ketten gebildet werden, was sich in der wesentlich geringeren Löslichkeit dieser Substanz widerspiegelt. Für beide Verbindungen wurden annähernd gleiche Assoziationsenthalpien bestimmt, was für einen analogen Aufbau der Assoziate spricht. Da die Messung der nichtassoziierten NH-Gruppen im nahen Infrarot mit den auf diesen Voraussetzungen angestellten Berechnungen der Assoziationsgleichgewichte in Übereinstimmung ist, wird man die kernresonanzspektroskopischen Messungen beim Cyclobarbital nicht so interpretieren können, daß sie das Auftreten einer anderen Assoziationsform bei höheren Konzentrationen anzeigen, zumal die experimentellen Bedingungen ungünstig waren. Für das besser lösliche *N*-Methylbarbital haben wir auch bei Konzentrationen, die über denen des Cyclobarbitals lagen, keine entsprechenden Hinweise gefunden. — Da je 2 Moleküle durch 2 Wasserstoffbrücken verbunden sind, ergeben sich aus unseren Messungen folgende Enthalpiewerte für eine Wasserstoffbrücke:

N-Methylbarbital: $-\Delta H = 0.91$ kcal/Mol H-Brücke

Cyclobarbital: $-\Delta H = 1.0$ kcal/Mol H-Brücke

Diese Werte liegen auch unter Berücksichtigung der Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel Chloroform relativ niedrig.

Dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Für die Dampfdruckmessungen verwendeten wir Geräte der Firmen H. Knauer, Berlin, und Mechrolab, Palo Alto; die Meßtemperatur betrug 37°. — Die Messungen im nahen IR führten wir mit einem Spektralphotometer PMQ II der Firma Zeiss, Oberkochen, das mit einer Bleisulfidzelle ausgestattet war, durch. Das Küvettengehäuse war temperiert; die Temperatur wurde mit einem in die Meßlösung eintauchenden Thermistor kontrolliert. Schichtdicke der Küvetten: 2–20 cm. — Die Kernresonanzspektren wurden mit einem Gerät der Firma Varian Typ A 60 A bei 35° aufgenommen (TMS als innerer Standard).

[155/70]