

Massenspektroskopie in der Drogenanalyse

Die Massenspektren von Barbitursäurederivaten

Von

Antigone Costopanagiotis* und Herbert Budzikiewicz**

Aus dem Department of Chemistry, Stanford University, Stanford (Calif.), USA.

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 30. August 1965)

Die Massenspektren von Barbitursäurederivaten spiegeln die hohe Stabilität des Malonsäureureidsystems wider, so daß Fragmentierung bei aliphatisch substituierten Derivaten bevorzugt in den Substituenten erfolgt, während aromatisch substituierte Vertreter Aufspaltung des Barbitursäureringes unter Ausbildung stabiler konjugierter Systeme zeigen. Diese Beobachtungen erlauben die leichte Identifizierung derartiger Verbindungen. Die hohe Empfindlichkeit der Massenspektrometer (Mikrogrammmengen) zusammen mit modernen Trennmethode(n) (Dünnschicht- und Gaschromatographie) läßt somit die Massenspektroskopie als wichtige Methode für die forensische Analyse erscheinen.

The mass spectra of barbituric acid derivatives reflect the high stability of the malonic acid ureide system. Aliphatically substituted derivatives show preferential fragmentation of the substituents while derivatives with aromatic substituents exhibit cleavage of the barbituric acid portion under formation of stable conjugated systems. These observations allow easy identification of this type of compounds. The high sensitivity of mass spectrometers (mikrogram range) together with modern methods for separation (*TLC* and *GLC*) render mass spectrometry a potent tool in forensic analysis.

Moderne Trennmethode(n), wie Dünnschicht- oder Gaschromatographie, haben zwar in der forensischen Analyse die Aufarbeitung suspekter

* Neue Anschrift: CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette (S.-et-O.), France.

** Neue Anschrift: Institut für Organische Chemie, Techn. Hochschule, 33 Braunschweig (DBR).

Drogen sowie biologischen Materials und die Isolierung der gesuchten Verbindungen sehr erleichtert, doch ist in vielen Fällen die Identifizierung infolge der geringen Substanzmengen auf Bestimmung von R_F -Werten, Schmelzpunkt, Farbreaktionen u. ä. beschränkt. Im Falle von Haschisch-Inhaltsstoffen ist die Anwendbarkeit der Massenspektroskopie, deren Erfassungsgrenze in den Mikrogrammbereich reicht, zur eindeutigen Charakterisierung aktiver Prinzipien gezeigt worden¹. Die vorliegende Arbeit soll nun der Untersuchung von Barbitursäurederivaten gewidmet sein, um sowohl die Anwendbarkeit der Massenspektroskopie auf das genannte Problem zu untersuchen, als auch um Einblick in die Zerfallsmechanismen komplizierterer heterocyclischer Systeme zu geben.

Die neuere Entwicklung der Dünnschichtchromatographie erlaubt es, Barbiturate aus biologischem Material abzutrennen, bzw. mehrere Vertreter dieser Gruppe aufzutrennen, für die weitere Charakterisierung wird jedoch Gaschromatographie herangezogen². Hierzu muß jedoch der R_F -Wert der zu bestimmenden Substanz in verschiedenen Systemen bekannt sein, was aber die Verwechslung mit Verbindungen ähnlichen R_F -Wertes nicht ausschließt. Die Möglichkeiten einer massenspektroskopischen Identifizierung (möglicherweise mit direkter Übertragung der Substanz von der Dünnschichtplatte³ oder vom Gaschromatographen⁴) sollen nun diskutiert werden.

In Abb. 1 ist das Massenspektrum von Barbitursäure (I) wiedergegeben. Das einzige Fragment von Bedeutung ist ionisiertes Keten ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}^+$, m/e 42). Daneben ist in geringem Ausmaße zu beobachten der Verlust von CO (m/e 100; metastabiles Ion bei m/e 78,5) sowie von Cyansäure ($M-\text{HNCO}$, m/e 85; metastabiles Ion bei m/e 55,5). Das Bruchstück der Masse 70 stellt das Radikalion $\text{O}=\dot{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{O}^+$ dar, das sich durch Abspalten eines H-Atoms zu $\text{O}=\text{C}=\text{CH}-\text{C}\equiv\text{O}^+$ (m/e 69) stabilisieren kann.

Im Falle von Alkylderivaten von Pyrrolidon und Succinimid ist gezeigt worden⁵, daß Fragmentierung bevorzugt in der Seitenkette erfolgt. Beim Abbau der Seitenkette, z. B. bei 5-Butylbarbitursäure (II, Abb. 2), scheinen die bei N-Butylsuccinimid⁵ beobachteten Umlagerungsreaktionen in analoger Weise aufzutreten. Normale *McLafferty*-Umlagerung führt

¹ H. Budzikiewicz, R. T. Aplin, D. A. Lightner, C. Djerassi, R. Mechoulam und Y. Gaoni, Tetrahedron [London] **21**, 1881 (1965).

² J. Cochin, 4th Annu. Confer. Pharmaceut. Analysis, Land O'Lakes, Wisconsin, 1964.

³ S. z. B. K. Heyns und H. F. Grützmacher, Angew. Chem. **74**, 384; Internat. Edit. **1**, 400 (1962).

⁴ J. T. Watson und K. Biemann, Anal. Chem. **36**, 1135 (1964); R. Ryhage, Anal. Chem. **36**, 759 (1964).

⁵ A. M. Duffield, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. **87**, 2913 (1965).

zu einem enolisierter Barbitursäure entsprechenden Ion (**a**, m/e 128), das, wie für Barbitursäure (I) beschrieben, weiter zu zerfallen scheint. Neben den so entstandenen Bruchstücken erscheinen im Spektrum von II

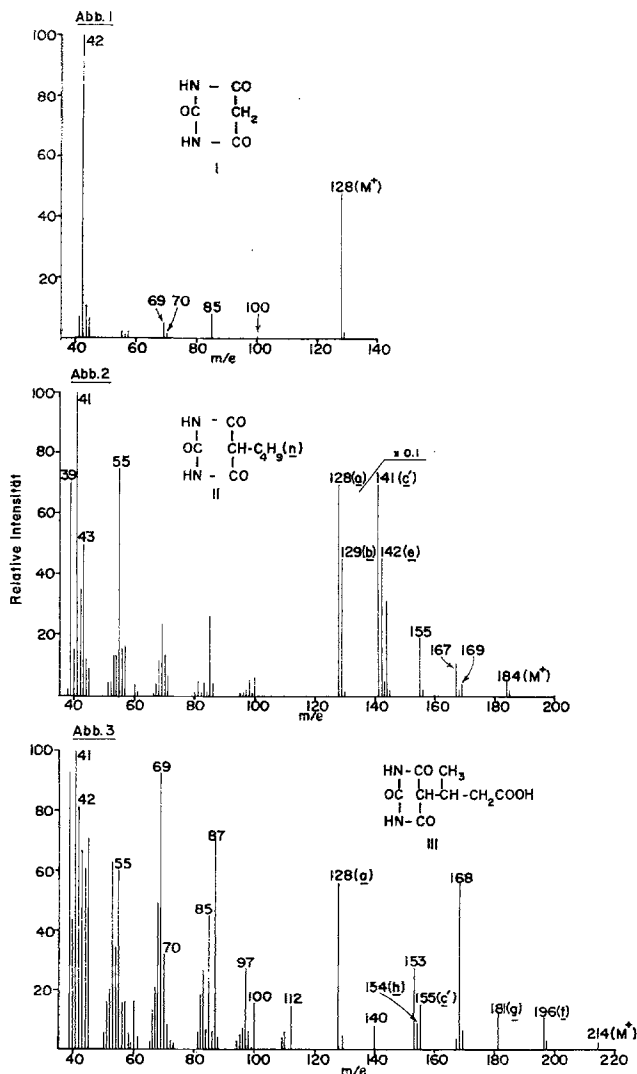
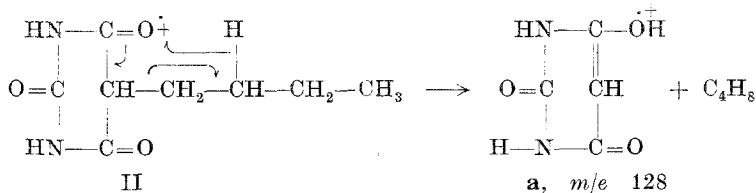


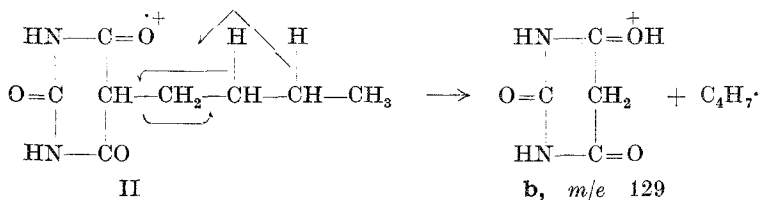
Abb. 1—3

(Abb. 2) die üblichen Kohlenwasserstofffragmente (entstanden aus der Seitenkette): $C_4H_7^+$ (m/e 55), $C_3H_7^+$ (m/e 43) usw.

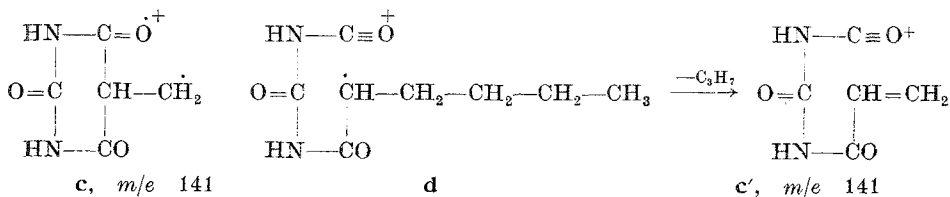
Von Bedeutung ist auch ein Fragment **b** der Masse 129, das seine Entstehung dem Verlust der Butylseitenkette unter Übertragung von zwei



Wasserstoffatomen verdankt. Analoger Verlust führt im Fall von N-n-Butylsuccinimid zum wichtigsten Bruchstück, für das der Entstehungsmechanismus durch exakte Massenmessungen und Deuteriummarkierung aufgeklärt worden ist⁵. In unserem Falle wäre somit die folgende Sequenz vorzuschlagen⁶:



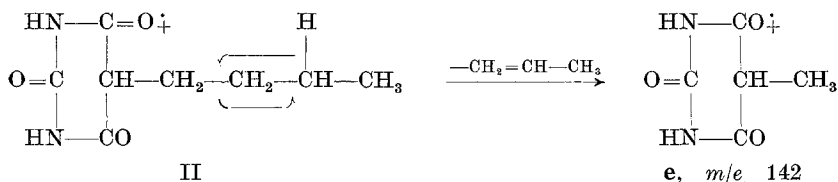
Ein Fragment der Masse 141 könnte durch Verlust eines Propylradikales entstehen, was jedoch zu dem energetisch sicher ungünstigen Radikalion **c** führen würde. Plausibler erscheint daher die Annahme, daß als erster Schritt die für Ketone typische α -Spaltung⁷ eintritt (**d**), der dann der Verlust der Propylgruppe zu dem besser stabilisierten **c'** folgt:



Neben der Ausbildung von **c'** erfolgt Verlust der Propylgruppe unter Wasserstoffumlagerung, wieder in Analogie zu N-n-Butylsuccinimid. Dementsprechend wäre dem so gebildeten Ion die Struktur **e** (m/e 142) zuzuschreiben.

⁶ Zu dem hier verwendeten Symbolismus siehe: *H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams*, „Structure Elucid. of Natur. Products by Mass Spectrometry“, San Francisco 1964, Band 2, S. I ff, sowie *J. S. Shannon*, Proc. Roy. Austral. Chem. Inst. 323 (1964).

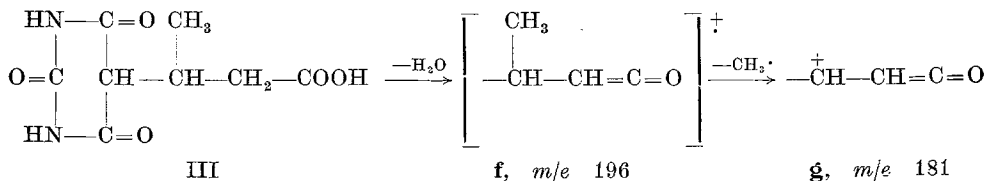
⁷ *H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams*, „Interpret. of Mass Spectra of Org. Compounds“, San Francisco 1964, Kapitel I.



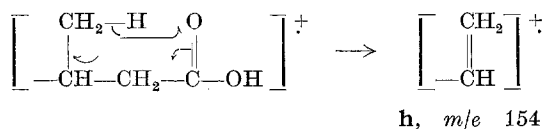
Verlust von Methyl- (m/e 169) und Äthylradikal (m/e 155) ist von geringerer Bedeutung; m/e 167 scheint durch Abspalten von $\text{OH}\cdot$ entstanden zu sein.

Das Fragmentierungsverhalten von 5-Butylbarbitursäure (II) wurde eingehender behandelt, um die Analogien mit dem entsprechenden Succinimidderivat herauszustreichen. Um ein weiteres Beispiel einer am C-5 aliphatisch substituierten Barbitursäure zu geben, sei 2-Barbiturylbuttersäure (III) kurz besprochen (Abb. 3). Die interessante Fragmentierung findet wieder in der Seitenkette statt. *McLafferty*-Umlagerung liefert **a** (m/e 128, vgl. II \rightarrow **a**). Die für Barbitursäure charakteristischen Bruchstücke (m/e 100, 85, 70, 69, 42, vgl. oben) finden sich wieder neben Fragmenten, die aus dem Buttersäurerest stammen (m/e 41, 43, 55 usw.⁸); von Interesse ist hierbei m/e 87, das seiner Masse nach $[\text{CH}_3-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CH}_2-\text{COOH}]^+$ (möglicherweise in umgelagerter Form) entspricht. Ion **b** ist abwesend im Spektrum von III (Abb. 3), da das für die Umlagerung notwendige zweite Wasserstoffatom (vgl. dagegen II \rightarrow **b**) fehlt.

Verlust von Wasser vom Molekülion scheint zu dem ketenartigen Ion **f** (m/e 196) zu führen, das weiter die nun labilisierte Methylgruppe verliert (**g**, m/e 181), während kein $M-\text{CH}_3$ -Fragment zu beobachten ist.



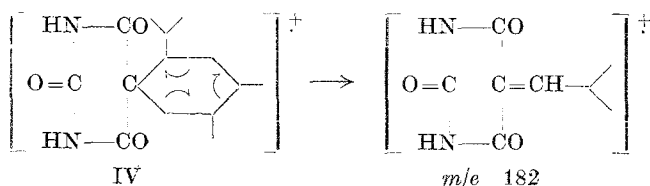
Abspaltung von $\cdot\text{CH}_2\text{COOH}$ vom Molekülion führt zum Methylhomologen von **c** (**c'**, m/e 155), während Wasserstoffumlagerung entsprechend einer *McLafferty*-Reaktion **h** (m/e 154) liefert.



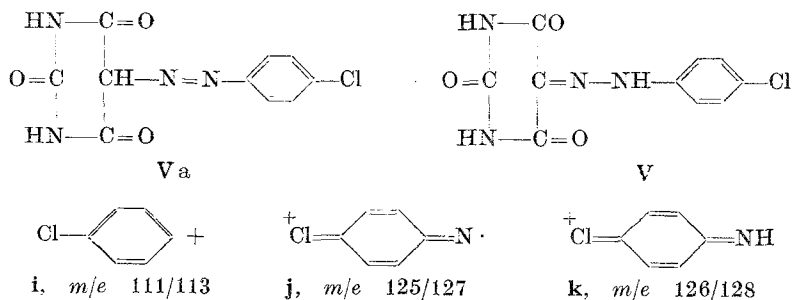
⁸ Vergl. Catalog of Mass Spectral Data, Amer. Petrol. Institut. Research Projekt 44, Carnegie Institute of Technology, Pittsburg, Pa., Spectrum Nr. 303.

Das Fragment der Masse 168 ist mit großer Wahrscheinlichkeit durch Verlust von HCOOH aus dem Molekülion entstanden. Das so gebildete Fragment kann anscheinend durch Verlust von CH_3 (m/e 153), CO (m/e 140), 2CO (m/e 112) und $\text{CO} + \text{HNCO}$ (m/e 97) weiterzerfallen. Diese Sequenz liefert eine plausible Deutung dieser sonst schwer erklär-
baren Peaks im Spektrum von III.

In den Spektren von Barbitursäurederivaten mit höheren Kohlenwasserstoffsubstituenten an C-5 beginnen, wie zu erwarten, die typischen Kohlenwasserstoffionen den unteren Teil des Massenspektrums zu beherrschen. Ein typisches Beispiel hierfür ist IV (Spektrum nicht wiedergegeben), im oberen Bereich ist jedoch wieder der Abbau des Cyclohexanringes deutlich erkennbar: Verlust der Isopropylgruppe ($M-43$), gefolgt von Abspaltung einer Methylgruppe, und Öffnung des Ringes in der für Cyclohexan typischen Weise⁹ unter Ausstoßung von zwei Propylenmolekülen usw.

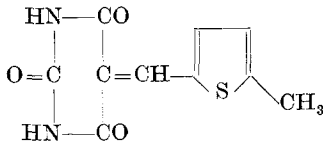


Barbitursäurederivate, die an C-5 einen aromatischen Substituenten tragen, zeichnen sich durch die hohe Stabilität des Molekülions aus. Die Azoverbindung V (bzw. Va) (Abb. 4) stellt einen Übergangfall zwischen den bisher besprochenen Verbindungen und nachfolgenden aromatisch substituierten Vertretern dar. Fragmentierung findet bevorzugt zwischen den beiden Ringsystemen statt. Verlust der Chlorphenylgruppe führt zu m/e 155, während Ladungslokalisierung in der letzteren zu dem Dublett m/e 111/113 (i) führt. Die Dubletts m/e 125/127 und 126/128 stellen Ionen, die als j und k formuliert werden können, dar.

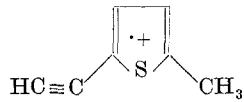


⁹ K. Biemann, Mass Spectrometry, S. 107. McGraw Hill, 1962.

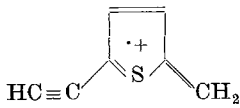
Die hohe Stabilität des aromatischen Systems sowie die Verknüpfungsart mit dem Barbitursäurering verhindert offensichtlich Fragmentierung im Substituenten bzw. zwischen den beiden Substituenten im Falle des Thiophenderivates VI (Abb. 5). Zerfall erfolgt daher, abgesehen von $M-H\cdot$ (m/e 235), $M-CH_3\cdot$ (m/e 121) und $H-C\equiv S^+$ (m/e 45)¹⁰, bevorzugt durch sukzessiven Abbau des Barbitursäurerestes (s. Abb.), bis m/e 122 erreicht wird, das als **1** formuliert werden kann. Verlust eines weiteren Wasserstoffatoms führt schließlich zu dem vollständig konjugierten **m** (bzw. seiner ringerweiterten Form **m'**).



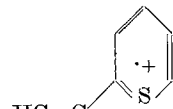
VI



1, m/e 122

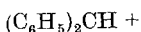
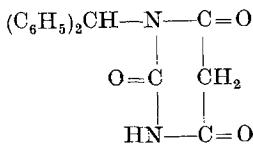


m, m/e 121

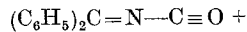


m', m/e 121

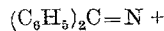
Ähnliches Verhalten zeigt N-Ditylbarbitursäure (VII, Abb. 6), in deren Molekülion die positive Ladung ebenfalls bevorzugt im aromatischen System lokalisiert erscheint; Abbau des Moleküls erfolgt wieder durch Fragmentierung des Barbitursäureringes, wobei stabile aromatische Tochterionen bevorzugt gebildet werden. Keines weiteren Kommentares bedürfen m/e 266 ($M-CO$), m/e 222 ($M-CO-NH-CO + H$) und m/e 77 ($C_6H_5^+$). Das wichtigste Bruchstück erscheint bei m/e 208 und kann als das vollkommen konjugierte **n** dargestellt werden. Weiterer Verlust von CO (metastabiles Ion bei m/e 156, ber. 155,7) führt zu m/e 180 (**o** oder eine umgelagerte Form). Das Ditylion **p** weist eine Masse von m/e 167



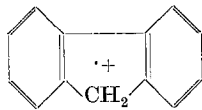
p, m/e 167



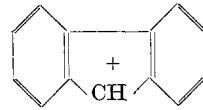
n, m/e 208



o, m/e 180



q, m/e 166



r, m/e 165

¹⁰ S. 7, u. zw. S. 231 f.

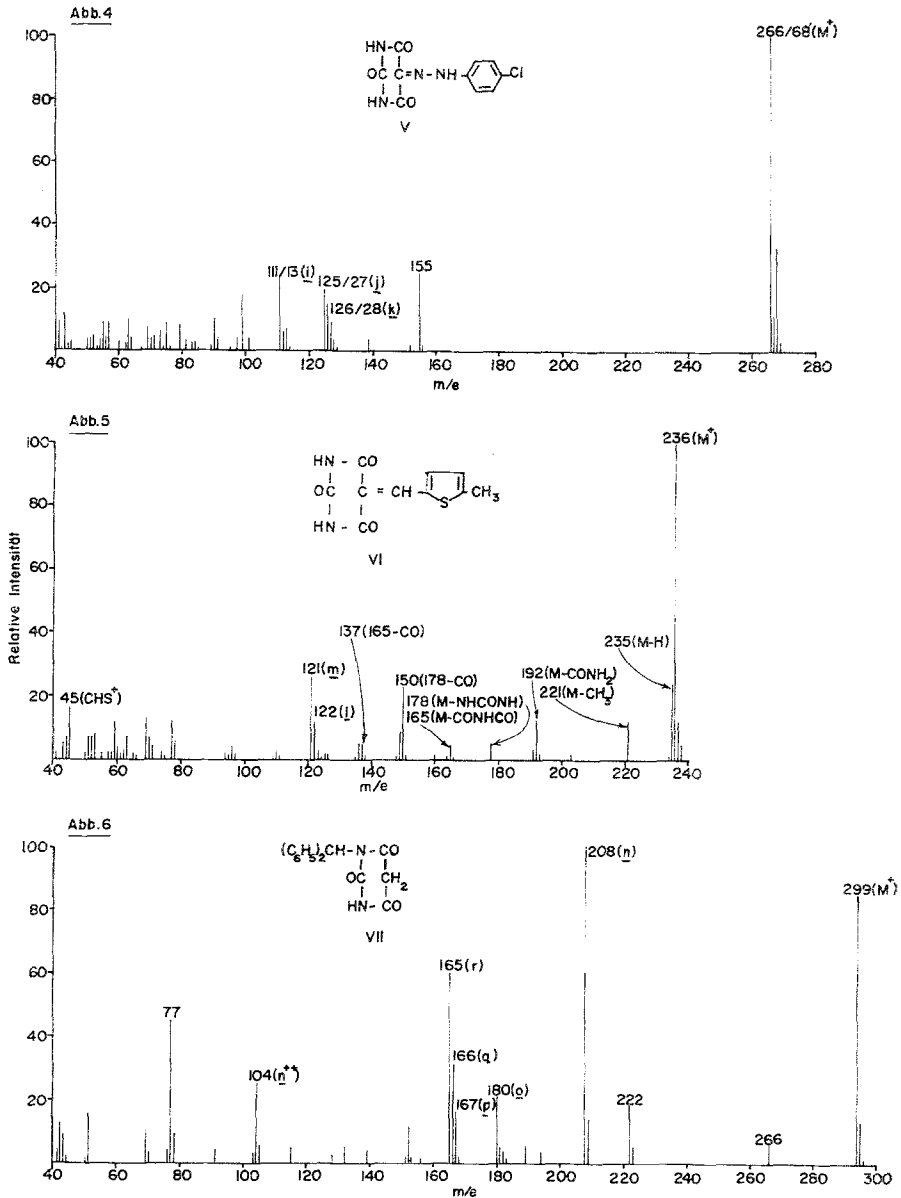


Abb. 4—6

auf und scheint durch Verlust von einem bzw. zwei Wasserstoffatomen weiter zu zerfallen¹¹; den so entstandenen Fragmenten können die durch

¹¹ Vergl. ⁸, Spectrum Nr. 1521.

Umlagerung entstandenen Strukturen **q** (m/e 166, ionisiertes Fluoren) und **r** (m/e 165, Fluorenylion) zugeschrieben werden.

Die angeführte Auswahl von typischen Barbitursäurederivaten zeigt, daß in aliphatisch bzw. alicyclisch substituierten Vertretern Fragmentierung bevorzugt in der Seitenkette erfolgt, während arylsubstituierte Verbindungen infolge der hohen Stabilität des Substituenten geringe Fragmentierung zeigen, wobei hauptsächlich Abbau des Barbitursäure-ringes erfolgt. In allen Fällen können die Massenspektren als charakteristisch angesehen werden, und die Fragmentierungswege folgen den an einfacheren Modellverbindungen gemachten Beobachtungen. Eine Identifizierung ist somit an Hand von Vergleichsspektren sowie durch Interpretation der Massenspektren selbst möglich, was die eingangs erwähnten potentiellen Möglichkeiten der Massenspektroskopie für die forensische Analyse auf diesem Gebiete bestätigt.

Die Spektren wurden mit einem Atlas CH-4 Gerät mit direkter Probe-einführung (TO-4 Quelle) gemessen. Ionisierungsenergie 70 eV, Ionisierungsstrom 20 μ A.

Herrn Dr. *L. M. Jampolsky*, Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, N. J. möchten wir für die Überlassung zahlreicher Präparate, den National Institutes of Health, U.S. Public Health Service (Grant Nr. AM 04257) für finanzielle Unterstützung danken.