

Untersuchungen an biologisch wirksamen Ligandensystemen, X¹⁾

Die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren des Maleinsäurehydrazids und seines N-Methyl-Derivates

Heinz Peter Fritz*, Frank H. Köhler und Bernhard Lippert

Anorganisch-Chemisches Laboratorium der Technischen Universität München.
D-8000 München 2, Arcisstraße 21

Eingegangen am 28. Mai 1973

Die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von Maleinsäurehydrazid und N-Methylmaleinsäurehydrazid wurden von –80 bis +120°C bzw. –40 bis +50°C aufgenommen. Sie erlauben Rückschlüsse auf die in Lösung vorliegenden H-Brückensysteme.

Investigations of Biologically Active Ligands, X¹⁾

The ¹H and ¹³C N.M.R. Spectra of Maleic Acid Hydrazide and its N-Methyl Derivative

The ¹H and ¹³C n.m.r. spectra of maleic acid hydrazide and N-methylmaleic acid hydrazide were registered between –80 and +120°C as well as between –40 and +50°C. They allow conclusions on the H-bridging systems present in solution.

In unsere Untersuchungen der Komplexbildung cancerostatisch aktiver Verbindungen mit Übergangsmetall-Ionen bezogen wir auch das Maleinsäurehydrazid (**1**) ein. Im Zusammenhang mit der Frage nach der reaktiven Form von **1** in Lösung wurde dessen Struktur zwar häufig diskutiert, doch lange Zeit keine ausreichende Klarheit erreicht. Wenngleich heute gesichert ist, daß Maleinsäurehydrazid kristallin und gelöst



gemäß Struktur **1**, d. h. als 3-Hydroxy-6-oxo-1,6-dihydropyridazin vorliegt^{2,3,4)}, so besteht doch nach wie vor Unklarheit über die Art der Wasserstoffbrücken im Festzustand^{5,6)} und über die für den gelösten Zustand postulierten Protonen-Austauschreaktionen^{4,7)}.

¹⁾ IX. Mitteil.: H. P. Fritz und O. von Stetten, Z. Naturforsch., im Druck.

²⁾ F. Arndt, Angew. Chem. **10**, 397 (1949).

³⁾ D. M. Miller und R. W. White, Can. J. Chem. **34**, 1510 (1956).

⁴⁾ A. R. Katritzky und A. J. Waring, J. Chem. Soc. **1964**, 1523.

⁵⁾ J. U. N. Cheinker, T. V. Gortinskaja und T. P. Sycheva, J. Chim. Phys. **55**, 217 (1958).

⁶⁾ M. Mashima, J. Chem. Soc. Japan, Pure Chem. Sect. **83**, 981 (1962).

⁷⁾ O. Ohashi, M. Mashima und M. Kubo, Can. J. Chem. **42**, 970 (1964).

1. ^1H -Kernresonanzspektren

^1H -NMR-Spektren von **1** in wasserfreiem DMF-D₇ wurden zwischen -80 und $+120^\circ\text{C}$ aufgenommen. Bei konstanter Konzentration ergaben sich charakteristische Änderungen des Spektrums (Abb. 1).

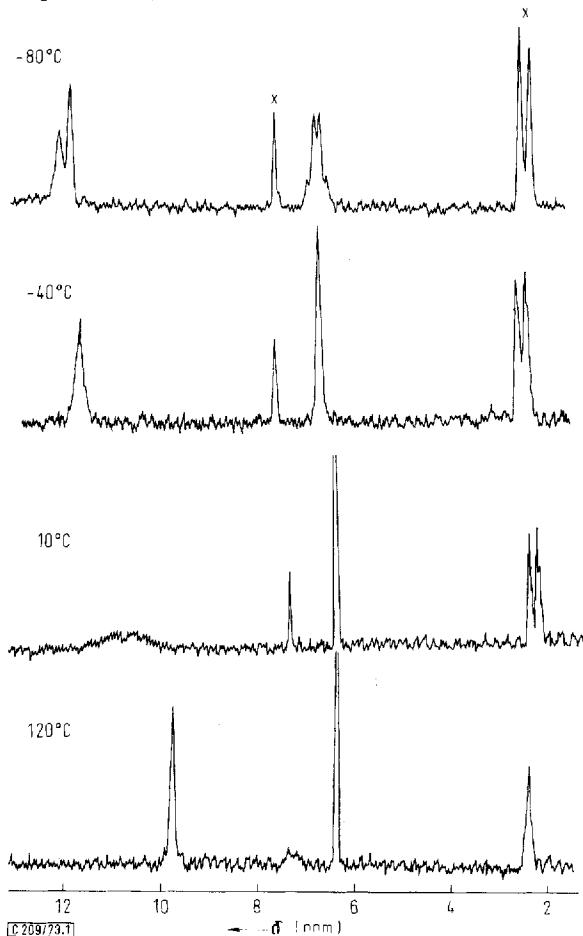


Abb. 1. 60 MHz- ^1H -NMR-Spektren von Maleinsäurehydrazid (**1**) in DMF-D₇ bei verschiedenen Temperaturen (x = Lösungsmittel)

Die Zuordnung des Tieftemperaturgrenzspektrums ergibt sich aus den Verschiebungen, der Multiplettstruktur sowie der Linienbreite. Es absorbieren NH bei δ 12.0, OH bei 11.8 und CH bei 6.7 ppm.

Neben der Temperaturabhängigkeit wird für die Lage der Signale der NH- und OH-Gruppe eine Konzentrationsabhängigkeit für den Temperaturbereich oberhalb etwa 0°C gefunden.

Für den gesamten untersuchten Temperaturbereich ergibt sich folgender Zusammenhang zwischen der Verschiebung des Signals der NH- und OH-Gruppe, der Konzentration der Probenlösungen und der Temperatur (Abb. 2):

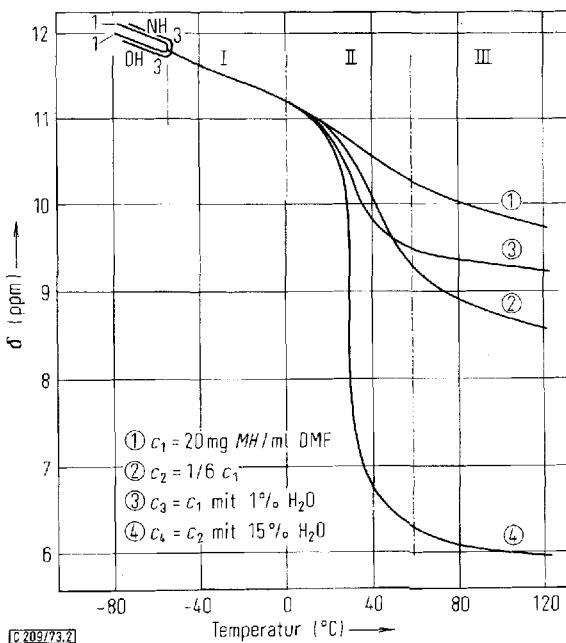


Abb. 2. Verschiebung des ^1H -NMR-Signals der NH- und OH-Gruppe von Maleinsäurehydrazid (MH) (**1**) in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration

Für die *N*-methylierte Verbindung (**2**) erhält man eine qualitativ ähnliche Abhängigkeit der Verschiebungen von der Temperatur, jedoch mit folgenden Unterschieden:

Das Signal bei niedrigster Feldstärke spaltete bei tiefen Temperaturen nicht auf.

Das Signal für die $\text{HC}=\text{CH}$ -Gruppe erschien bei allen Temperaturen als Doppeldoublett.

Das OH-Signal war nur unterhalb -20°C scharf. Deshalb konnte eine Konzentrationsabhängigkeit für höhere Temperaturen nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden.

2. ^{13}C -Kernresonanzspektren

Die Aufnahme der ^{13}C -NMR-Spektren bei -40°C ergab für **1** und **2** die folgenden Verschiebungen (Genauigkeit ± 0.05 ppm), bezogen auf TMS:

δ	1	2
C-6	160.42	159.02
C-3	154.16	153.52
C-5	133.87	133.45
C-4	128.91	127.73

Aus dem Vergleich mit den Verschiebungen von Carbonsäureamiden, Phenol und 2-Methoxypyridin⁸⁾ lässt sich die Zuordnung für **1** und **2** ableiten.

Die Temperaturabhängigkeit für das Maleinsäurehydrazid-Spektrum geht aus Abb. 3 hervor.

8) G. C. Levy und G. L. Nelson, Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists, Wiley-Interscience, New York 1972.

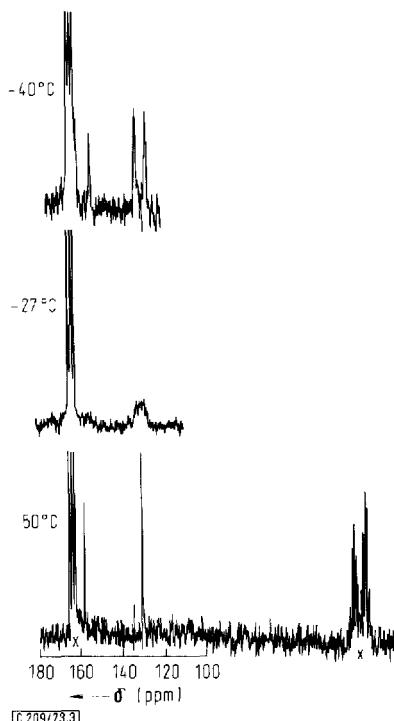
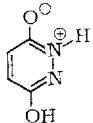


Abb. 3. 90 MHz-¹³C-PFT-NMR-Spektren von Maleinsäurehydrazid (**1**) in DMF-D₇ bei verschiedenen Temperaturen (x = Lösungsmittel)

Für das Spektrum von **2** ändern sich weder Aufspaltungsmuster noch Verschiebung der Signale mit der Temperatur.

3. Diskussion

Aus den Kernresonanzergebnissen folgt für Maleinsäurehydrazid in DMF-Lösung eine unsymmetrische primäre Struktur **1**. Nur sie ergibt unterhalb von -60°C im ¹H-NMR-Spektrum getrennte OH- und NH-Signale, das Doppeldoublett des AB-Systems von 4-H und 5-H sowie vier verschiedene ¹³C-Signale. Die sehr ähnlichen Verschiebungen von C-3, C-4, C-5 und C-6 für **1** und **2** beweisen das Vorliegen von Keto- und Enolgruppierung in einem Molekül. δC-6 ist etwas kleiner als man für ein Säureamid-C-Atom erwarten sollte. Das deutet auf die Beteiligung polarer Grenzstrukturen der Art

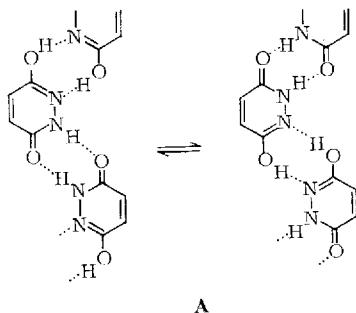


hin, wie sie für 2-Pyridon im Festzustand gefunden wurden⁹⁾. Indessen liegen keine isolierten Moleküle vor. Darauf deuten bereits die begrenzte Löslichkeit von **1** selbst

⁹⁾ B. R. Penfold, Acta Crystallogr. **6**, 591 (1953).

in polaren Lösungsmitteln sowie die starke ^1H -NMR-Signalverschiebung der an N und O gebundenen Wasserstoffe nach niedrigem Feld hin. Weiterhin folgt aus der Temperaturabhängigkeit der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren, daß die Brückenwasserstoffe von **1** einem chemischen Austausch unterworfen sind.

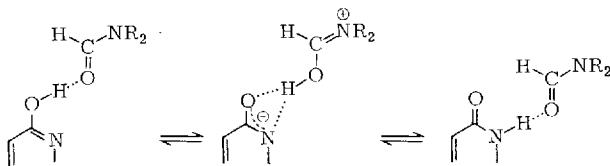
Für die H-Brückenbildung und den Austausch dieser Protonen kann man zwei Modelle einer sekundären Struktur mit energetisch unterschiedlichen H-Brücken zugrunde legen (intramolekulare H-Brücken seien aus sterischen Gründen ausgeschlossen):



A

Intermolekulare H-Brücken zwischen **1**-Molekülen

Denkbar sind hier Ketten-, Netz- oder Helixformationen als tertiäre Strukturen der **1**-Assoziate.



B

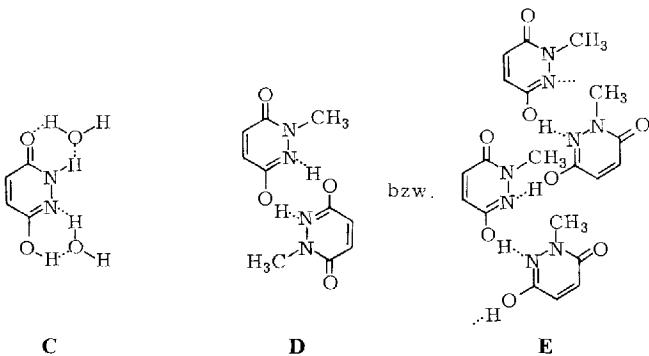
Intermolekulare H-Brücken zwischen **1** und dem Solvens

Die unterschiedliche Abhängigkeit der NMR-Signale von Temperatur und Konzentration (Abb. 2) legen die Beteiligung beider Modelle nahe. Im Bereich tiefer Temperatur (Abb. 2, I) dominiert **A**, kenntlich an der Konzentrationsunabhängigkeit der Verschiebungen. Der Austausch der H-Brückennatome, der wegen der Symmetrie der Verbindung kooperativ sein muß, geht aus der Koaleszenz von NH- und OH-, C-6- und C-3- sowie C-4- und C-5-Signal hervor.

Mit steigender Temperatur nimmt die Festigkeit der H-Brücken zwischen **1** und dem Lösungsmittel zu gegenüber den Brücken innerhalb des **1**-Assoziats. Im Bereich mittlerer Temperatur (Abb. 2, II) tritt zum Verhalten gemäß **A** zunehmend das Verhalten nach **B**. Im ^1H -NMR-Spektrum wird dies an der zunehmenden Konzentrationsabhängigkeit deutlich. Aus demselben Grund wandert bei konstanter Konzentration und

steigender Temperatur das Signal der austauschenden Protonen nach höherem Feld; die am Lösungsmittel erfahrene magnetische Abschirmung ist stärker. Offensichtlich verläuft bei einer gegebenen Temperatur der Austausch nach **B** langsamer als nach **A**, da mit zunehmendem Einfluß von **B** sich das Austauschsignal wieder verbreitert. Im Temperaturbereich **II** befindet man sich demnach wenig oberhalb des Koaleszenzpunktes von **B**.

Im Bereich hoher Temperatur (Abb. 2, III) dominiert **B**. Dementsprechend ist die Verschiebung des wieder scharfen Austauschsignals weiter konzentrationsabhängig. Die Temperaturabhängigkeit ist jedoch nur noch so gering wie im Temperaturbereich I. Diese schwache Abhängigkeit dürfte auf ein Brechen von H-Brücken mit zunehmender Wärmebewegung zurückzuführen sein. Qualitativ gleichartig ist das Verhalten gegenüber Wasser, wie Abb. 2 zeigt. Allerdings ist Wasser bei der Ausbildung von H-Brücken im Vergleich zu DMF wesentlich bevorzugt, da schon ein geringer Zusatz das Spektrum stark verändert. Diese Bevorzugung lässt sich an der günstigeren Möglichkeit, Brücken auszubilden, ablesen (**C**).



Die **2**-Moleküle liegen bei tiefen Temperaturen in DMF-Lösung ebenfalls assoziiert vor, etwa als Dimere oder Polymere gemäß **D** und **E** mit polarisierten, mesomeren Strukturanteilen. Im Gegensatz zu **1** finden jedoch keine Protonen-Austauschprozesse statt. Als Ursache hierfür muß das Bestreben des Moleküls angenommen werden, seine durch die erwähnte Polarisierung erreichte weitgehende Aromatizität nicht durch Ausbildung einer Diketo-Struktur zu verlieren bzw. das Auftreten des energetisch ungünstigen Dikation-Effekts an den beiden benachbarten N-Atomen zu verhindern.

Experimenteller Teil

Maleinsäurehydrazid (**1**) reinst (Serva GmbH) wurde zweimal aus H_2O umkristallisiert, *N*-Methylmaleinsäurehydrazid (**2**) nach der Methode von Eichenberger et al.¹⁰⁾ dargestellt. Die Reinheit beider Verbindungen wurde durch Elementaranalyse gesichert.

Als Lösungsmittel wurde für die Messungen Dimethylformamid-D₇ verwendet, das mittels Molekularsieb (3 Å) von Wasser befreit wurde. Die Abfüllung der Proben erfolgte unter N₂-Atmosphäre. Zur Aufnahme der ¹H-NMR-Spektren diente ein Varian A-60 NMR-

¹⁰⁾ K. Eichenberger, A. Staehelin und J. Druey, *Helv. Chim. Acta* **37**, 837 (1954).

Spektrometer mit Temperaturregeleinheit V 6040, als äußerer Standard TMS; die Temperaturmessung erfolgte auf bekannte Weise mit Methanol- bzw. Äthylenglycol-Kapillaren in den Probenröhren. Die chemischen Verschiebungen sind positiv nach tieferen Feldern, bezogen auf TMS, angegeben.

Die ^{13}C -Spektren wurden mit einem Bruker HX 90/8-15-Spektrometer, das mit einem Nicolet 1080 E Datensystem sowie einer B-ST 100/700-Temperatureinheit ausgestattet war, aufgenommen. Mit einer Pulsbreite von 7.5 μs , 8 K Datenpunkten und 8 K Durchläufen wurden nach 56 min breitbandentkoppelte Spektren erhalten, deren Signal/Rausch-Verhältnisse zwischen 4/1 und 30/1 lagen.

[209/73]