

| Stabilitätsuntersuchungen |

3 Stabilitätsuntersuchungen

3.1 Hydrolyse von 2-Imidazolin

2-Imidazoline hydrolysieren im wässrigen Milieu unter Ringöffnung zu Formamiden (Abb. 3.1). Die Hydrolyse ist temperatur- und pH-abhängig, wobei die Reaktion durch Temperaturerhöhung bzw. pH-Erhöhung beschleunigt wird [Watts, 140].

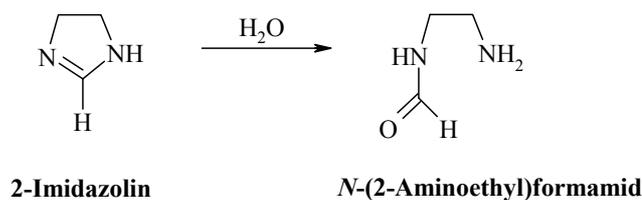


Abb. 3.1: Hydrolyse des 2-Imidazolins.

3.1.1 Hydrolyse von 2-Imidazolin im Sauren

Die Geschwindigkeit und der Mechanismus der Hydrolyse von 2-Methylimidazolin im Sauren wurden von Watson [161, 162] und de Savignac [163] untersucht.

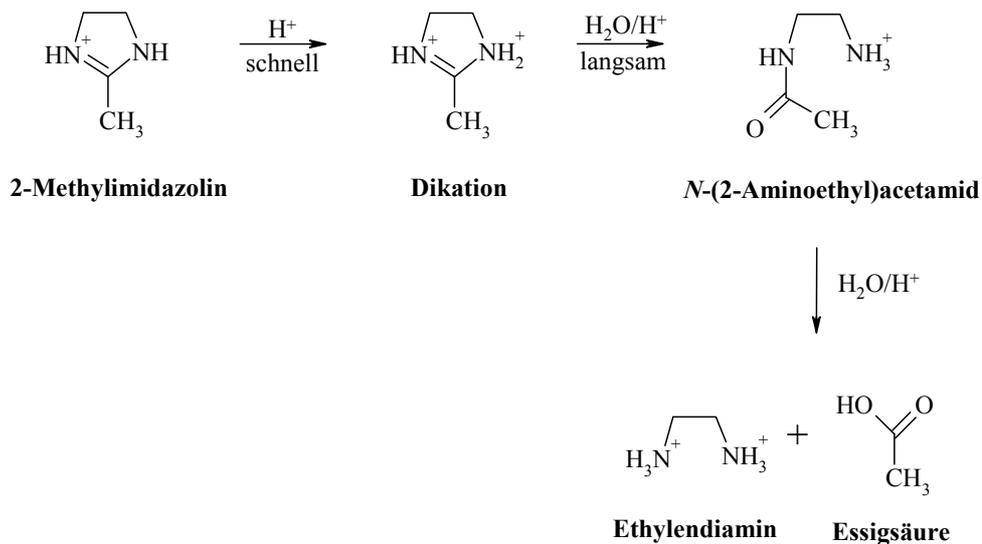


Abb. 3.2: Hydrolyse von 2-Methylimidazolin im Sauren nach Watson [161].

Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist hierbei ein nukleophiler Angriff von Wasser am C2-Atom des Dikations des Imidazolins, das im Sauren schnell gebildet wird (Abb. 3.2). Hydrolyse wurde nur im stark Sauren ($\text{pH} < 1$) und bei hohen Temperaturen ($> 100\text{ }^\circ\text{C}$) beobachtet. Im Sauren sind die gebildeten Amide nicht stabil; sie hydrolysieren weiter, wobei im Falle des 2-Methylimidazolins Ethylendiamin und Essigsäure entsteht.

3.1.2 Hydrolyse von 2-Imidazolen im Alkalischen

Die Hydrolyse von 2-Imidazolen verläuft im Alkalischen schneller als unter sauren Bedingungen. Dabei kommt es im Gegensatz zur Hydrolyse im Sauren nicht zur weiteren Zersetzung der entstandenen Amide. Über den Mechanismus der alkalischen Hydrolyse gibt es in der Literatur verschiedene Meinungen. Ob die freie Base oder die protonierte Form des Imidazolins an der Hydrolyse beteiligt ist, wird unterschiedlich diskutiert [Watts, 140].

Harnsberger und Riebsomer [164] gehen von einer Beteiligung der freien Base aus. Sie postulieren die Bildung eines Intermediats durch einen schnellen, reversiblen Angriff von OH^- am C2-Atom des Imidazolinrings. Diese Intermediat reagiert dann im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt mit Wasser zum ringoffenen Amid.

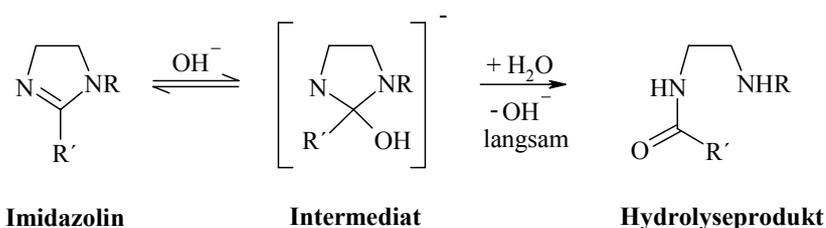


Abb. 3.3: Hydrolyse von Imidazolen im Alkalischen nach Harnsberger und Riebsomer [164].

Untersuchungen zur Stabilität des Antiarrhythmikums Cibenzolin (2-(2,2-Diphenylcyclopropyl)-4,5-dihydro-1*H*-imidazol) lassen auf einen anderen Mechanismus unter Beteiligung der protonierten Form des Imidazolins schließen, da sich die Ergebnisse nicht mit dem Geschwindigkeitsgesetz von Harnsberger und Riebsomer in Einklang bringen lassen [Ross, 165].

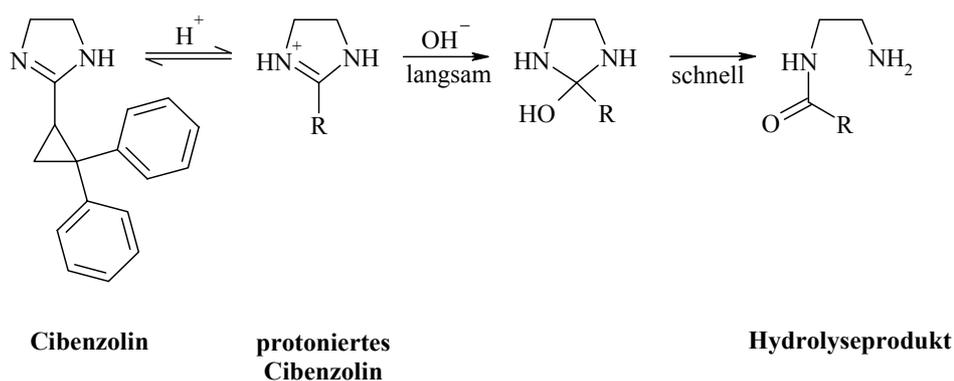


Abb. 3.4: Hydrolyse von Cibenzolin im Alkalischen nach Ross [165].

Als geschwindigkeitsbestimmend wird hier der Angriff von OH^- am C2-Atom der protonierten Form des Imidazolins angesehen. Danach kommt es zu einer schnellen Öffnung des Imidazolinrings zum entsprechenden Amid (Abb. 3.4).

3.2 HPLC-Methode zur Untersuchung der Hydrolyse von 4,5-Diaryl-2-imidazolin

Um eine mögliche Hydrolyse der 4,5-Diaryl-2-imidazoline zu verfolgen, wurde eine HPLC-Methode entwickelt. Die Bedingungen wurden so gewählt werden, dass es zu einer guten Auftrennung zwischen den Imidazolin und den Hydrolyseprodukten kommt. Außerdem sollten eine gute Reproduzierbarkeit und geringe Analysenzeiten erreicht werden. Eine quantitative Bestimmung der nicht hydrolysierten Imidazoline musste ebenfalls durchführbar sein.

Allgemein wird die Eignung und Leistungsfähigkeit einer HPLC-Methode durch die stationäre Phase, die Fließmittelzusammensetzung und die Fließmittelgeschwindigkeit bestimmt.

3.2.1 Reversed-Phase Chromatographie

Im Gegensatz zur klassischen Säulenchromatographie ist bei der *reversed-phase* Chromatographie die mobile Phase polarer als die stationäre Phase. Die Trennung beruht auf einer unterschiedlichen Adsorption der zu trennenden Verbindungen an das Trägermaterial [Meyer, 166]. Lipophilere Substanzen werden hier stärker zurückgehalten als hydrophile und damit später eluiert.

3.2.2 Stationäre Phase

Zur Auftrennung der Verbindungen wird eine Vor- und Hauptsäule mit *RP*-Packungsmaterial verwendet. Durch den Einsatz einer Vorsäule kann die Lebensdauer der Hauptsäule deutlich verlängert werden, da sich in jedem Lösungsmittel geringe Mengen Packungsmaterial in Form von modifizierter Kieselsäure anlösen [Meyer, 166]. Säulenmaterial ist Nukleosil C₁₈ (Kapitel 8.3.1.1, Seite 195). Dies ist ein chemisch stabiles, apolares Säulenmaterial, bei dem an die Silanol-Gruppen des Silicagels Octadecyl-Gruppen kovalent gebunden sind.

3.2.3 Mobile Phase

Als mobile Phase wird ein polares Zweikomponenten-Gemisch aus Methanol und Na₂SO₄-Lösung pH 3 (Kapitel 8.3.1.2, Seite 195) verwendet. Mit einer solchen Mischung ist eine vollständige Elution der Imidazoline und der Hydrolyseprodukte unter Vermeidung eines starken Peaktailings möglich. Die prozentuale Zusammensetzung des Gemisches beeinflusst die Retentionszeit der zu eluierenden Substanzen und wurde so gewählt, dass die Substanzen ausreichend voneinander getrennt werden und trotzdem möglichst kurze Retentionszeiten erreicht werden.

3.2.4 Detektion

Die untersuchten Substanzen lassen sich wegen ihrer Benzolringe durch UV-Messung bei 254 nm detektieren. Bei diesen Wellenlängen zeigt das intakte Imidazolin stärkere UV-Absorption als das Hydrolyseprodukt. Dadurch nimmt die Gesamtpeakfläche aller Peaks im Chromatogramm mit fortschreitender Hydrolyse ab. Deshalb werden die Peakflächen der Hydrolyseprodukte mit einem Faktor korrigiert, der den geringeren Extinktionskoeffizienten der Hydrolyseprodukte ausgleicht. Die korrigierte Gesamtpeakfläche wird dadurch für alle Zeitpunkte konstant und entspricht der Peakfläche des 2-Imidazolins am Anfang der Hydrolyse [Krauser, 167].

3.3 HPLC-Untersuchungen von 4,5-Diaryl-2-imidazolinen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit die oben beschriebene Hydrolyse auch bei 4,5-Diaryl-2-imidazolinen stattfindet. Bei den unsymmetrisch substituierten Verbindungen **72**, **86**, **90** und **96** sind dabei verschiedene Hydrolyseprodukte möglich. Je nach dem, welche der beiden C-N-Bindungen des Rings gespalten, wird entstehen zwei Amide, die bei geeigneten HPLC-Bedingungen getrennt werden können.

Der Einfluss verschiedener Substituenten des Imidazolinrings und der beiden Aromaten, sowie der Einfluss der Konfiguration an den beiden Stereozentren sollte untersucht werden.

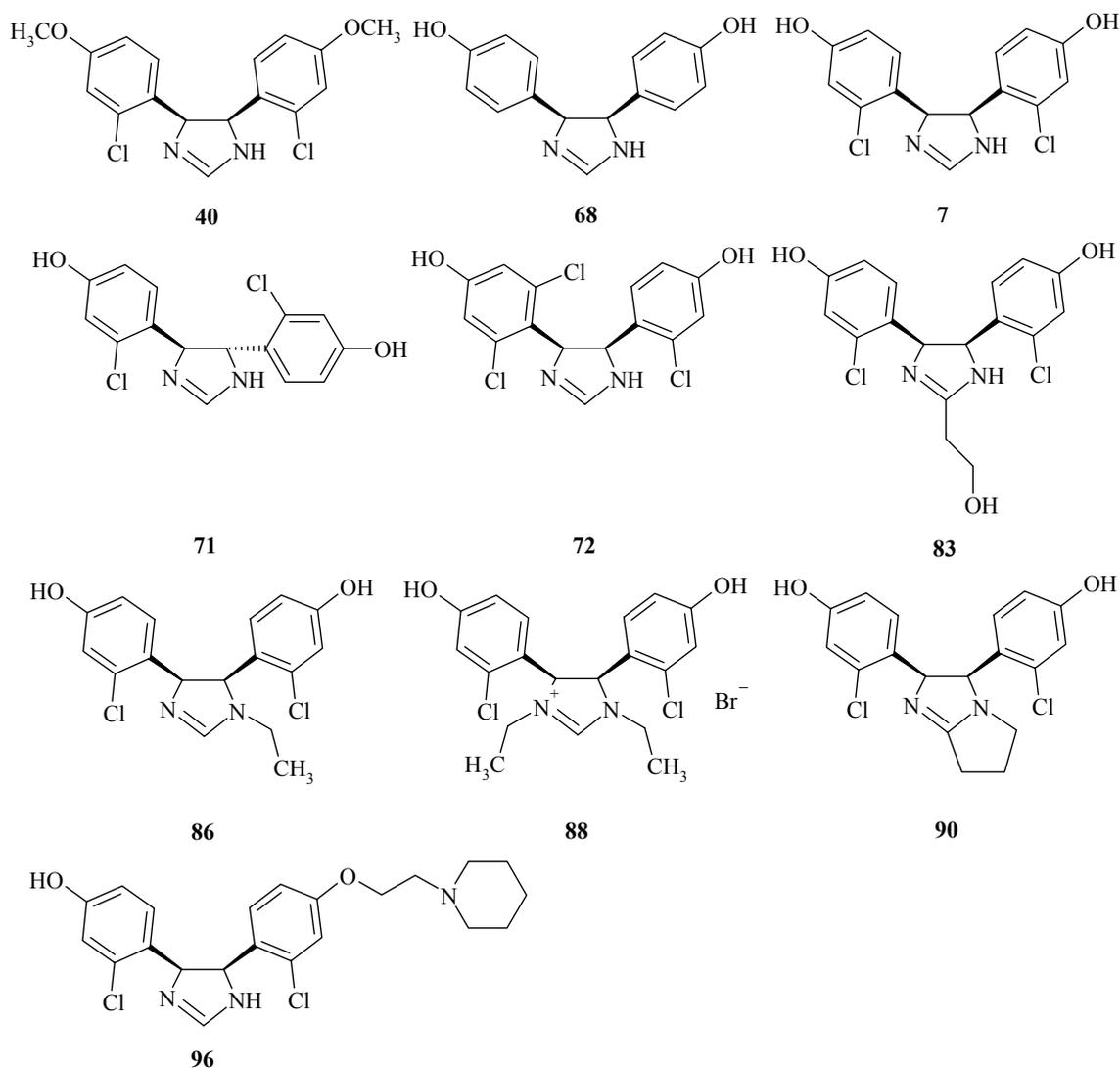


Abb. 3.5: Mit HPLC auf ihre Stabilität untersuchte Verbindungen.

Die untersuchten Verbindungen sind in Abb. 3.5 zusammengefasst. Die dabei verwendete Fließmittelzusammensetzung und die Retentionszeiten der Verbindungen und der entstandenen Amide sind in Tab. 3.1 dargestellt. Alle Substanzen wurden sowohl unter den Bedingungen der Zellversuche (PBS, pH 7.4, 37 °C) als auch in destilliertem Wasser (pH 5.0 – 6.0, 37 °C) untersucht. Der Verlauf der Hydrolyse der Verbindungen wurde in Doppelbestimmungen über ca. 65 Stunden verfolgt. Dazu wurden in regelmäßigen Abständen (alle 4 h) 20 µl der auf 37° Celsius temperierten Lösungen analysiert.

Verbindung	Puffer [%]	Methanol [%]	t _R Imidazolin [min]	t _R Amid 1 [min]	t _R Amid 2 [min]
40	50	50	24.5	12.0	*
68	70	30	4.9	4.4	*
70	50	50	7.2	5.1	*
71	50	50	7.9	4.8	*
72	70	30	29.3	7.3	9.7
83	50	50	7.2	<i>n.d.</i>	*
86	50	50	10.0	7.0	<i>n.d.</i>
88	50	50	12.8	<i>n.d.</i>	*
90	50	50	7.1	<i>n.d.</i>	<i>n.d.</i>
96	70	30	18.6	6.7	7.5

Tab. 3.1: Fließmittelzusammensetzung und Retentionszeiten (t_R) der Imidazoline und deren Hydrolyseprodukte (*n.d.*: nicht detektiert, die Bildung eines Hydrolyseproduktes konnte über den gesamten Messzeitraum nicht nachgewiesen werden; * : bei symmetrisch substituierten Imidazolinen entsteht nur ein Hydrolyseprodukt).

Zum Vergleich mit den Imidazolinen **70** und **86** ist die am C2 ethylierte Verbindung **81** gut geeignet. Sie konnte aber wegen schlechter Löslichkeit in PBS nicht untersucht werden. Um trotzdem Aussagen über den Einfluss der C-Alkylierung machen zu können, wurde stattdessen die 2-hydroxyethylierte Verbindung **83** untersucht.

3.3.1 HPLC-Untersuchungen von 4,5-Diaryl-2-imidazolin in PBS

In Abb. 3.6 sind zwei Chromatogramme von **70** unter den Messbedingungen nach Tab. 3.1 dargestellt. Zum Startzeitpunkt der Untersuchung ist neben dem Injektionspeak nur ein Peak des 2-Imidazolins (t_R = 7.2 min) zu sehen. Nach 56 h ist dieser Peak bei 7.2 min immer noch vorhanden, aber die Peakfläche ist um ca. 90 Prozent reduziert. Zusätzlich wird ein weiterer Peak eines Abbauproduktes bei 5.1 min detektiert.

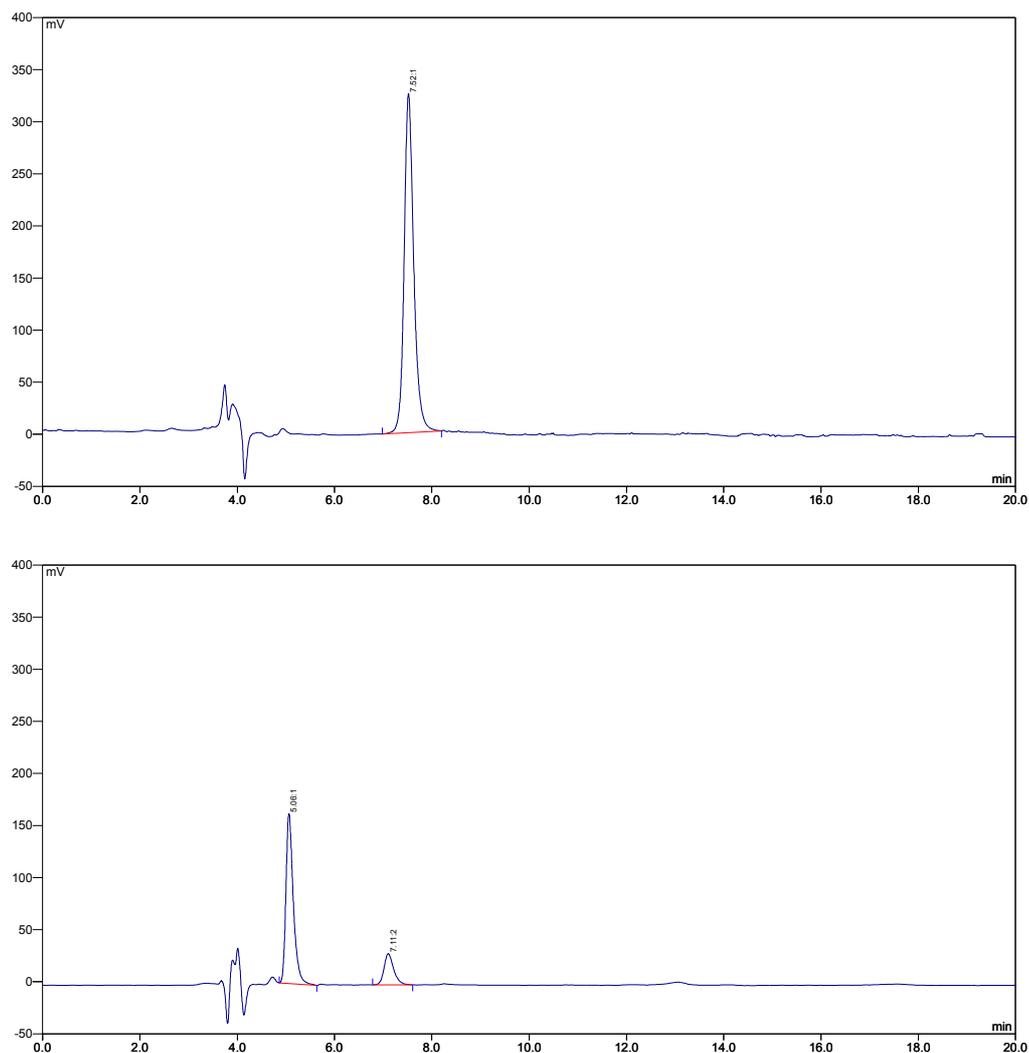


Abb. 3.6: Chromatogramme von **70**, gelöst in PBS, direkt nach dem Verdünnen (oben) und nach 56 h bei 37 °C.

In Abb. 3.7 ist der zeitliche Verlauf der Hydrolyse des Imidazolins **70** in PBS (pH 7.4, 37 °C) über 65 Stunden dargestellt. Deutlich erkennt man die Abnahme der Ausgangsverbindung **70** in den ersten 25 h der Messung. Danach ist nur eine sehr geringe Verringerung der Imidazolinkonzentration zu beobachten. Eine zeitabhängige Zunahme eines Hydrolyseprodukts ist ebenfalls zu erkennen. Koinjektion des synthetisierten Formamids **100** (Kapitel 2.8, Seite 49 und Kapitel 4.2.1.2, Seite 78) und einer Lösung des unter HPLC-Bedingungen hydrolysierten Imidazolins **70** führt zu einer Erhöhung des Peaks bei 5.1 Minuten. Außer dem Peak des Imidazolins **70** werden keine weiteren Peaks detektiert. Damit steht fest, dass 4,5-Diaryl-2-imidazoline unter den HPLC-Bedingungen ausschließlich zu Amiden hydrolysieren.

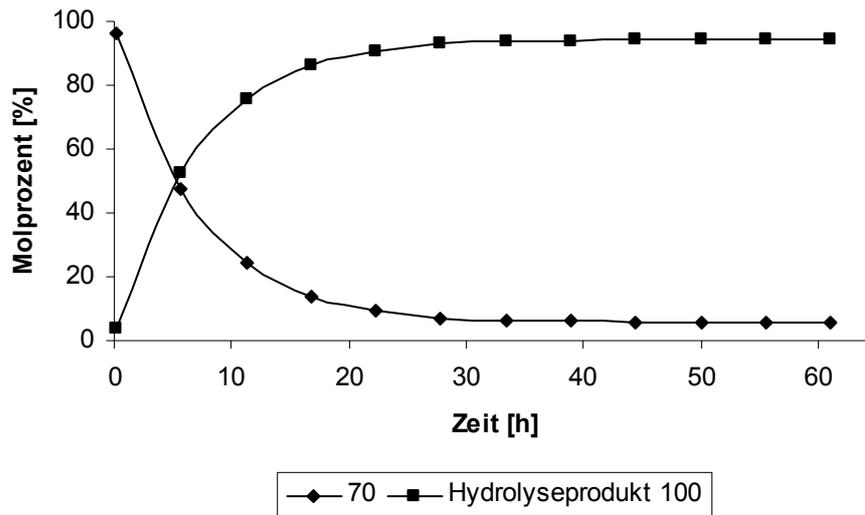


Abb. 3.7: Hydrolyseverlauf von **70** in PBS.

Weitere am Imidazolinring unsubstituierte Verbindungen (**40**, **68**, **71** und **96**) zeigen einen ähnlichen Kurvenverlauf (Kapitel 9.1, Seite 210). **72** zeigt dagegen einen deutlich langsameren Hydrolyseverlauf. Wie man in Abb. 3.8 erkennen kann, entstehen aus dieser unsymmetrisch substituierten Verbindung zwei Hydrolyseprodukte im Verhältnis 1:1 (Strukturen siehe Abb. 3.12).

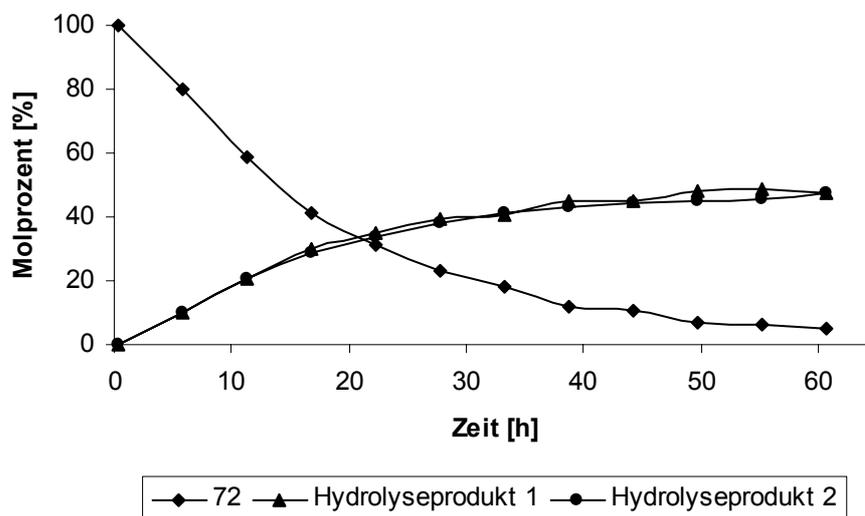


Abb. 3.8: Hydrolyseverlauf von **72** in PBS.

Alle am Imidazolinring substituierten Verbindungen sind deutlich stabiler. Bei den Untersuchungen der *C*-alkylierten Verbindung **83**, des Imidazoliniumbromids **88** und des Tetrahydropyrroloimidazols **90** wird auch nach 65 Stunden kein Abbauprodukt gefunden (Kapitel 9.1, Seite 210). Einzig beim an *N1* ethylierten Imidazolin **86** wird ein Hydrolyseprodukt detektiert (Tab. 3.1). Die Hydrolyse verläuft aber viel langsamer ab, als bei den am Imidazolinring unsubstituierten Verbindungen (Abb. 3.9).

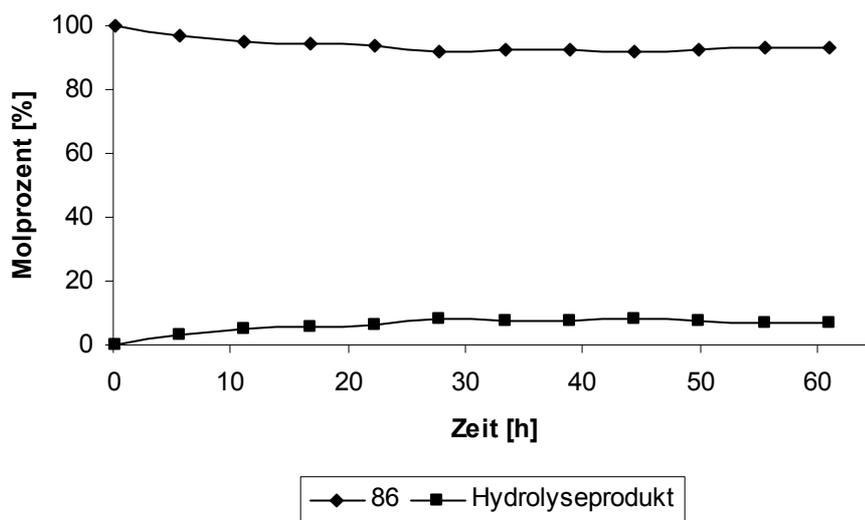


Abb. 3.9: Hydrolyseverlauf von **86** in PBS.

Nach Harnsberger und Riebsomer [164] verläuft die Hydrolyse von Imidazolinen nach einem Mechanismus pseudoerster Ordnung. Trägt man den natürlichen Logarithmus der Konzentration des Edukts gegen die Zeit auf, erhält man nach $\ln[A] = \ln[A_0] + (-k_{\text{obs}}) \cdot t$ die Geschwindigkeitskonstante k_{obs} . Statt der Konzentration kann auch eine dazu proportionale Größe wie der prozentuale Stoffmengenanteil eingesetzt werden [Lang, 168]. Die Steigung der Regressionsgeraden entspricht k_{obs} .

In Abb. 3.10 ist der semilogarithmische Hydrolyseverlauf von **70** und **72** abgebildet. Dabei zeigt sich nur für **72** über den gesamten Zeitraum ein linearer Zusammenhang. Da die restlichen, instabilen Verbindungen (**40**, **68**, **71**, **86** und **96**) in der semilogarithmischen Darstellung einen ähnlichen Verlauf wie **70** zeigen, ist **72** die einzige Verbindung, deren Hydrolyse nach einem Mechanismus pseudoerster Ordnung abläuft. Die Geschwindigkeitskonstante k_{obs} beträgt dabei 0.052 h^{-1} .

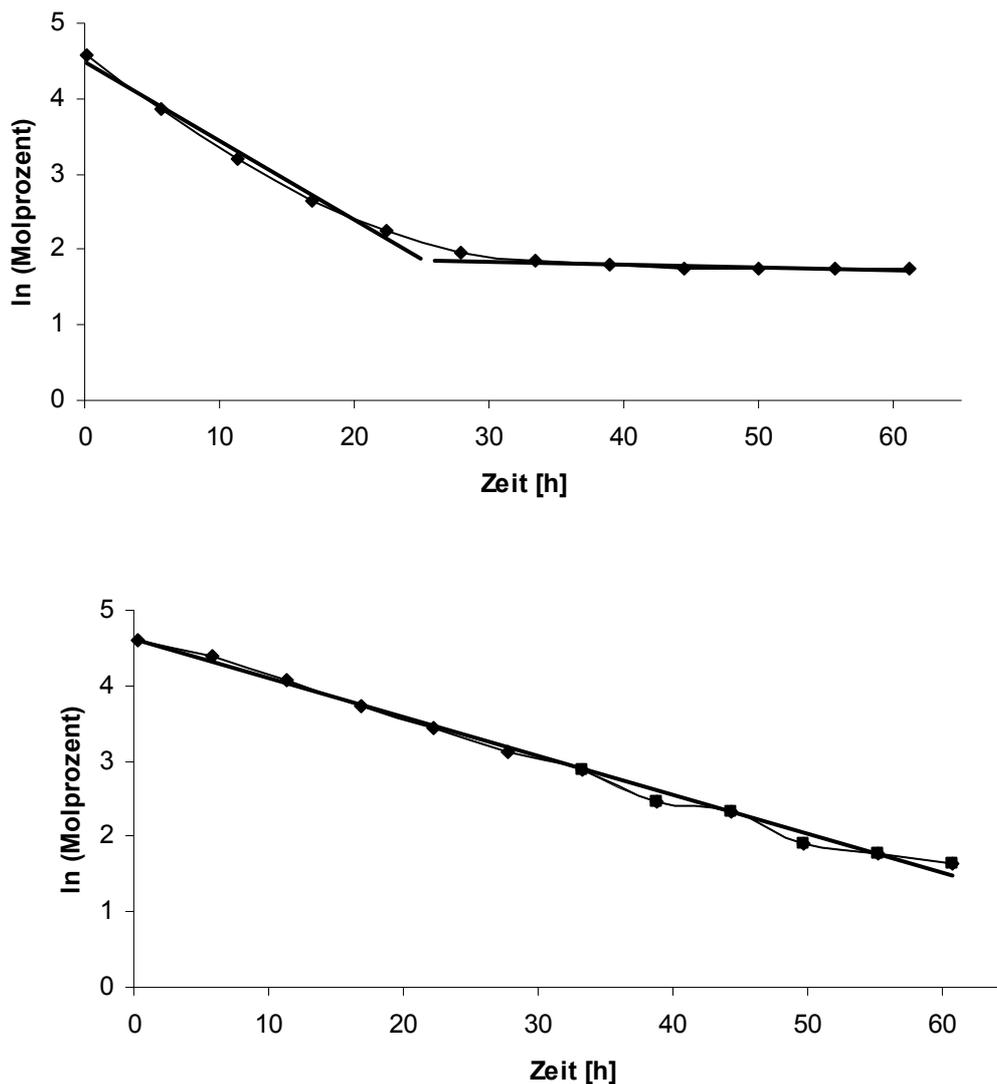


Abb. 3.10: Semilogarithmische Darstellung des Hydrolyseverlauf von **70** (oben) und **72** (unten) in PBS.

Der Mechanismus der Hydrolyse von **40**, **68**, **70**, **71**, **86** und **96** verläuft nach einem komplexeren Mechanismus. Die in Abb. 3.7 beobachtete geringe Abnahme der Imidazolinkonzentration ab ca. 25 h lässt auf eine Rückreaktion des gebildeten Formamids zum Imidazolin **70** schließen. Diese Rückreaktion des synthetisierten Formamids **100** zum Imidazolin könnte unter den Messbedingungen nicht nachgewiesen werden, da **100** in PBS über 65 h konstante Peakflächen zeigte. Wahrscheinlich war dazu die Messdauer von 65 h zu gering, um eine detektierbare Imidazolinkonzentration zu erreichen.

Da es sich bei 2-Imidazolinen, um schwache Basen handelt, ist anzunehmen, dass der pK_S -Wert der Verbindungen die Hydrolysegeschwindigkeit beeinflusst. Unterschiedliche pK_S -Werte führen zu anderen Konzentrationsverhältnissen zwischen der freien Base

und der protonierten Form des Imidazolins bei dem hier vorliegenden pH-Wert. Die pK_s -Werte einiger untersuchter Verbindungen wurden mit einer Software (Advanced Chemistry Development Software Solaris V4.67 der Fa. ACD) berechnet. Wie aus Tab. 3.2 liegt der pK_s -Wert der Verbindungen bei ca. 9. Damit sind die Imidazoline bei einem pH-Wert von 7.4 größtenteils protoniert.

Verbindung	$pK_s \pm 0.2$
40	9.05
68	9.27
70	9.34
72	8.94

Tab. 3.2: Berechnete pK_s -Werte einiger 2-Imidazoline.

Aufgrund dieser Überlegungen wurde für die Hydrolyse der Verbindungen ein Reaktionsmechanismus vermutet, bei dem zwei Gleichgewichtsreaktionen aufeinander folgen (Abb. 3.11).

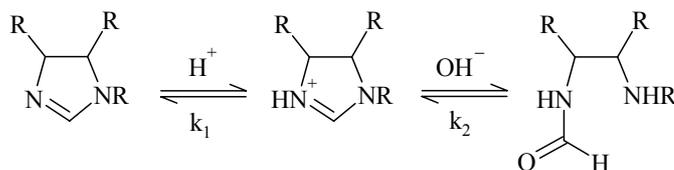


Abb. 3.11: Reaktionsmechanismus der zur Kinetiksimulation verwendet wurde.

Die Geschwindigkeitskonstante k_1 beschreibt dabei, die von den pK_s -Werten der Verbindungen abhängige Einstellung eines Gleichgewichts zwischen protonierter und unprotonierter Form des Imidazolins. Geschwindigkeitsbestimmend ist ein nukleophiler Angriff von OH^- an C2 des protonierten Imidazolins, der zur Ringöffnung zum Amid führt. Der einzige Unterschied dieses Mechanismus zum von Ross postulierten Mechanismus (Abb. 3.4) ist die Rückreaktion des Amids zum Imidazolin.

Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten solcher Reaktionen ist erheblich aufwendiger als die Ermittlung der Geschwindigkeitskonstante von Reaktionen pseudoerster Ordnung. Deshalb wurde der Hydrolyseverlauf der Verbindungen mit Hilfe des Kinetiksimulationsprogramms KSIM (Version 2.0), das von Miller [169] im Internet zur Verfügung gestellt wird, simuliert.

Das Programm ermöglicht die Eingabe der prozentualen Stoffmengenanteile in Abhängigkeit von der Reaktionsdauer aller beteiligten Reaktionspartner. Da aus den HPLC-Messungen nur experimentelle Daten der Gesamtimidazolin-konzentrationen und der Konzentrationen der Hydrolyseprodukte zur Verfügung stehen, ist die Berechnungen der einzelnen Geschwindigkeitskonstanten der beiden Reaktionsschritte (k_1 und k_2) nicht möglich. Die Geschwindigkeitskonstante k_{obs} der Gesamtreaktion kann mit KSIM aber trotzdem ermittelt werden.

Nach Vorgabe des Reaktionsmechanismus wurden die vom Programm berechneten Kurven durch die Veränderung theoretischer Reaktionsparameter an die experimentell ermittelten Datenpunkte solange angepasst, bis eine optimale Übereinstimmung für die Edukte und Produkte erreicht war. Die Hydrolyseverläufe wurden nach Runge-Kutta berechnet [Barshop, 170, Crossley, 171]. Dabei orientiert sich die Größe der Zeitintervalle zwischen den berechneten Punkten an der Konzentrationsänderung. Je größer die Konzentrationsänderung ist, desto kleiner ist das Zeitintervall zwischen den berechneten Punkten, wodurch am Anfang einer Reaktion besonders viele Punkte errechnet werden. Mit steigender Reaktionsdauer sinkt die Konzentrationsänderung der Reaktionspartner. Für eine ausreichend genaue Berechnung sind viel weniger Werte notwendig und die Berechnungsdauer kann durch Erhöhung der Zeitintervalle erheblich gesenkt werden.

Die experimentell erhaltenen Hydrolyseverläufe in PBS aller Verbindungen ließen sich mit dem Reaktionsschema aus Abb. 3.11 und KSIM simulieren. Für diese simulierten Molprozent-Zeit-Verläufe konnte mit dem Gleichungstyp *One Exponential* die Geschwindigkeitskonstante k_{obs} berechnet werden (Tab. 3.3).

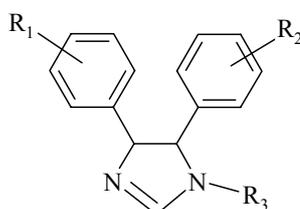
Die Hydrolyse von **72** wurde ebenfalls mit KSIM simuliert. Die dabei ermittelte Geschwindigkeitskonstante von 0.052 h^{-1} stimmt mit der Geschwindigkeitskonstante überein, die für diese Verbindung nach dem Mechanismus pseudoerster Ordnung ($k_{\text{obs}} = 0.052 \text{ h}^{-1}$) erhalten wurde und zeigt, dass KSIM für eine Vorhersage der Geschwindigkeitskonstanten geeignet ist.

Entscheidend für die Hydrolysegeschwindigkeit ist bei beiden in der Literatur diskutierten Mechanismen im Alkalischen (Kapitel 3.1.2) und beim zur Berechnung von k_{obs} angenommen Mechanismus ein nukleophiler Angriff am C2-Atom des Imidazolinrings. Nach Ross [165] ist das nukleophile Agens OH^- . Da der Hydrolysemechanismus der 4,5-Diarylimidazoline dem Mechanismus von Ross sehr ähnlich ist, kann auch hier von OH^- als Nukleophil ausgegangen werden. Eine Beteiligung von H_2O als Nukleophil

wurde von Ross nur bei pH 7 und 80 °C beobachtet. Bei niedrigeren Temperaturen und höheren pH-Werte könnte dies nicht nachgewiesen werden.

C2 trägt dabei eine positive Partiaalladung, die durch weitere Substituenten am Ring beeinflusst wird. Durch elektronenschiebende Reste wird die Elektronendichte im Imidazolinring erhöht, die positive Ladung dadurch abgeschwächt und ein nukleophiler Angriff unwahrscheinlicher.

Auch sterische Effekte können die Hydrolysegeschwindigkeit beeinflussen, da durch Substituenten der nukleophile Angriff behindert werden kann.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	Konfiguration	k _{obs} [h ⁻¹]
40	2-Cl, 4-OCH ₃	2-Cl, 4-OCH ₃	H	(4R,5S)/(4S,5R)	0.198
68	4-OH	4-OH	H	(4R,5S)/(4S,5R)	0.122
70	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4R,5S)/(4S,5R)	0.150
71	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4R,5R)/(4S,5S)	0.117
72	2,6-Cl ₂ , 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4R,5S) (4S,5R)	0.052
86	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	Ethyl	(4R,5S)/(4S,5R)	0.004
96	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-o- 	H	(4R,5S)/(4S,5R)	0.215

Tab. 3.3: Geschwindigkeitskonstanten der untersuchten Verbindungen in PBS.

Innerhalb der Gruppe der am Imidazolinring unsubstituierten Verbindungen treten unterschiedliche Hydrolysegeschwindigkeiten auf (Tab. 3.3), die auf unterschiedlicher Substitution der Aromaten beruhen. Die pK_s-Werte dieser Verbindungen unterscheiden sich nur geringfügig (Tab. 3.2) und kommen daher nicht als Ursache für die teilweise deutlichen Unterschiede in Frage.

Die Imidazoline **40** und **96** sind mit Geschwindigkeitskonstanten von ca. 0.2 h⁻¹ die instabilsten Verbindungen, die untersucht wurden. Sie unterscheiden sich vom Imidazolin **70**, das etwas langsamer hydrolysiert (k_{obs} = 0.150 h⁻¹), durch Etherfunktionen in *para*-Position des Aromaten. Eine sterische Behinderung des nukleophilen Angriffs kommt als Ursache dieses Unterschiedes nicht in Frage, da eine große räumliche Entfernung zum C2-Atom vorliegt.

Denkbar ist aber, dass die unterschiedlichen Substituenten in *para*-Position die Elektronendichte im Imidazolinring verändern, was die Partialladung an C2 beeinflusst. In den Chemical Abstract ist der pK_s-Wert der phenolischen OH-Gruppen von **70** mit 8.30 angegeben. Bei pH 7.4 liegen somit ca. 10 % der Phenole als Phenolate vor. Möglicherweise können diese Phenolate die Elektronendichte im 2-Imidazolinring durch Mesomerieeffekte stärker erhöhen als die Phenole bzw. Ether und die erhöhte Stabilität von **70** gegenüber der Methoxyverbindung **40** verursachen. Das Imidazolin **96** mit einer OH-Funktion und einer Etherstruktur müsste dann allerdings eine Geschwindigkeitskonstante besitzen, die zwischen denen der Verbindungen **40** und **70** liegt. Dies wurde jedoch nicht beobachtet.

Hinweise auf die Elektronendichte am C2 ergeben sich auch aus den chemischen Verschiebungen des Protons an C2 in ¹H-NMR-Spektren. Je positiver das C2-Atom ist, desto höhere chemische Verschiebungen sind für das entsprechende Proton zu erwarten [Hesse, 172]. Tatsächlich zeigt sich bei Verbindung **40** mit 9.04 ppm für das Proton an C2 die höchste chemische Verschiebung dieses Protons dieser drei Verbindungen (**40**: 9.04 ppm > **96**: 9.00 ppm > **70**: 8.97 ppm). Die Unterschiede sind allerdings sehr gering. Die Verbindungen **68** und **70** unterscheiden sich durch die beiden 2-Chlorsubstituenten in den Aromaten. Auch dies sollte die Elektronendichte im Imidazolinring beeinflussen. Durch die -I und +M-Effekte der Chlorsubstituenten in **70** könnte auch die Elektronendichte an C2 verändert sein. Dies zeigt sich wiederum bei den chemischen Verschiebungen der Protonen an C2. Dort hat das Proton von **70** die höhere Verschiebung als das Proton von **68** (**70**: 8.97 ppm > **68**: 8.92 ppm). In der Tat ist **70** mit einer Geschwindigkeitskonstante von 0.150 h⁻¹ die etwas instabilere Verbindung dieser beiden Imidazoline.

Eine andere Beeinflussung der Hydrolysegeschwindigkeit durch Halogensubstituenten wird bei der Einführung eines dritten Chloratoms beobachtet (Abb. 3.8). Die Hydrolyse verläuft deutlich langsamer. Die veränderte Elektronendichte durch die Halogene kann dafür nicht verantwortlich sein und es müssen andere Ursachen für die langsamere Hydrolyse von **72** vorliegen. In Kapitel 4.2.2 (Seite 85) konnte mit NMR-Untersuchungen nachgewiesen werden, dass die drei geräumigen Chloratome hier zu Rotationseinschränkungen der Aromaten führen. Bei **72** steht im Energieminimum ein Chloratom über dem Imidazolinring. Dadurch ist ein nukleophiler Angriff an C2 eventuell nicht mehr so leicht möglich.

Die einzige untersuchte (*4R,5R*)/(*4S,4S*)-konfigurierte Verbindung **71** hydrolysiert etwas langsamer als das Diastereomer **70**. Durch die bei **71** vorliegende Anordnung der Aromaten auf beiden Seiten der Imidazolinringebene (Kapitel 4.2.2, Seite 80) ist der Angriff eines Nucleophils im Vergleich zu **70**, bei dem die Aromaten auf der gleichen Seite des Imidazolinrings angeordnet sind, erschwert.

Durch die Einführung von Substituenten in den Imidazolinring wird die Stabilität der Verbindungen stark erhöht. Nur bei der *N*-ethylierten Verbindung **86** ist Hydrolyse zu beobachten. Die Hydrolyse verläuft insgesamt deutlich langsamer als bei der nicht ethylierten Verbindung **70**. Bei den Verbindungen **83**, **88** und **90** wird über den gesamten Messzeitraum kein Abbauprodukt detektiert. Eine Hydrolyse zu unter den gewählten Bedingungen nicht detektierten Abbauprodukten kann ausgeschlossen werden, da die Peakfläche der Ausgangsverbindungen über den gesamten Messzeitraum konstant ist.

Alle eingeführten Substituenten sind stärkere Elektronendonatoren als Wasserstoff und erhöhen die Elektronendichte im Imidazolinring. Dadurch wird die positive Partialladung an C2 abgeschwächt. Ein nucleophiler Angriff an C2 findet nicht mehr so leicht statt. Die Einführung des Alkylrestes an N1 erhöht die Elektronendichte an C2 weniger stark als die Einführung der Alkylgruppe direkt an C2. Daher sind bei **86** noch (langsame) Hydrolysevorgänge zu beobachten ($k_{\text{obs}} = 0.004 \text{ h}^{-1}$). Die chemische Verschiebung des Protons an C2 im $^1\text{H-NMR}$ beträgt bei **86** 8.95 ppm und ist fast identisch zur Verschiebung des entsprechenden Protons von **70** (8.97 ppm). Auch wenn dies auf eine verringerte Elektronendichte an C2 bei **86** hinweist, reicht dieser Unterschied nicht aus um die deutlich erhöhte Stabilität von **86** zu erklären. Die C-alkylierte Verbindung **83** ist unter den gewählten Bedingungen dagegen stabil. Auch bei der *N,N'*-dialkylierten Verbindung **88** und *C,N*-alkylierten Verbindung **90** ist die positive Partialladung an C2 so stark abgeschwächt, dass keine Hydrolyse stattfindet. Eine derartige Verringerung der Hydrolysegeschwindigkeit durch elektronenschiebende Substituenten am Imidazolinring wurde auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben [Harnsberger und Riebsoemer, 173]. Zusätzlich ist eine Verringerung der Hydrolysegeschwindigkeit aufgrund einer sterischen Behinderung des nucleophilen Angriffs an C2 durch die Alkylreste denkbar.

Bei den in den Aromaten verschieden substituierten Verbindungen **72** und **96** können, je nachdem welche der beiden C-N-Bindungen gespalten wird, zwei verschiedene Hydrolyseprodukte entstehen (Abb. 3.12). Da die beiden aus **72** bzw. **96** entstandenen Amide jeweils ein fast identisches chromophores System besitzen, sollten sie auch nahezu glei-

che UV-Absorptionskoeffizienten haben. Bei gleicher Peakfläche der beiden Amide sollten somit auch die Konzentrationen gleich sein.

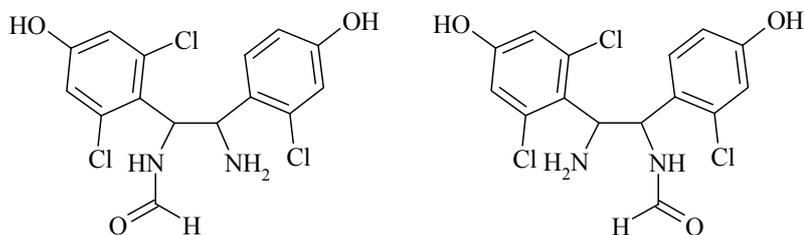


Abb. 3.12: Hydrolyseprodukte von **72**.

Eine bevorzugte Bildung eines der beiden Amide ist bei **72** (Abb. 3.8) wie auch bei **96** nicht zu beobachten. Zu jedem Zeitpunkt erhält man nahezu identische Peakflächen der beiden Abbauprodukte.

Auch beim *N*-ethylierten **86** sind zwei Hydrolyseprodukte, ein sekundäres und ein tertiäres Amid, zu erwarten (Abb. 3.13). Es wird aber nur ein Hydrolyseprodukt detektiert.

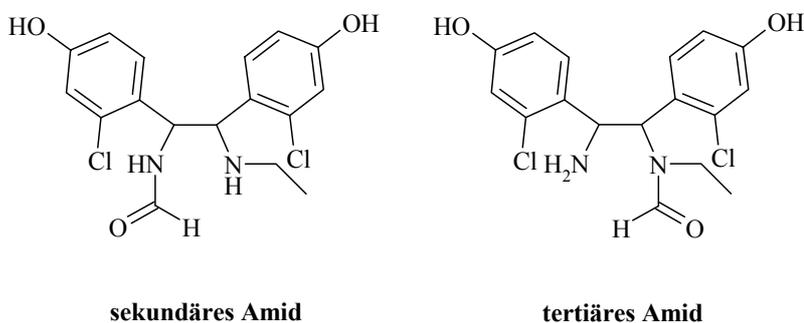


Abb. 3.13: Mögliche Hydrolyseprodukte von **86**.

De Savignac *et al.* [163] konnten durch NMR-Untersuchungen zeigen, dass aus *N*-(2-Aminoethyl)-2-decyl-imidazolin nur das sekundäre Amid entsteht. Die Bildung des tertiären Amids wurde nicht beobachtet. Watts [140] konnte unter sehr milden Bedingungen die Bildung eines sekundären und eines tertiären Amids nachweisen, wobei Temperaturerhöhung zu einer verstärkten Bildung des sekundären Amids führte.

Ob es sich beim detektierten Hydrolyseprodukt von **86**, um ein sekundäres oder tertiäres Amide handelt, wurde nicht näher untersucht. Die Bildung des sekundären Amids ist aber aufgrund der Ergebnisse von de Savignac und Watts wahrscheinlicher. Es wurde auch nicht geprüft, ob aus **86** bei längerer Messdauer oder unter anderen Hydrolysebedingungen ein weiteres Hydrolyseprodukt entsteht.

3.3.2 HPLC-Untersuchungen von 4,5-Diaryl-2-imidazolinen in Wasser

Die Hydrochloride bzw. Hydrobromide der in Abb. 3.5 aufgeführten Verbindungen wurden auch in destilliertem Wasser als Lösungsmittel untersucht. Der pH-Wert der vermessenen Lösungen liegt dabei zwischen 5 und 6.

In Abb. 3.14 ist der zeitliche Verlauf der Hydrolyse von **70** in Wasser abgebildet. Im Vergleich zur Hydrolyse in PBS (Abb. 3.7) verläuft die Hydrolyse in H₂O deutlich langsamer. Die Einstellung eines Gleichgewichtes nach ca. 25 h ist nicht zu beobachten.

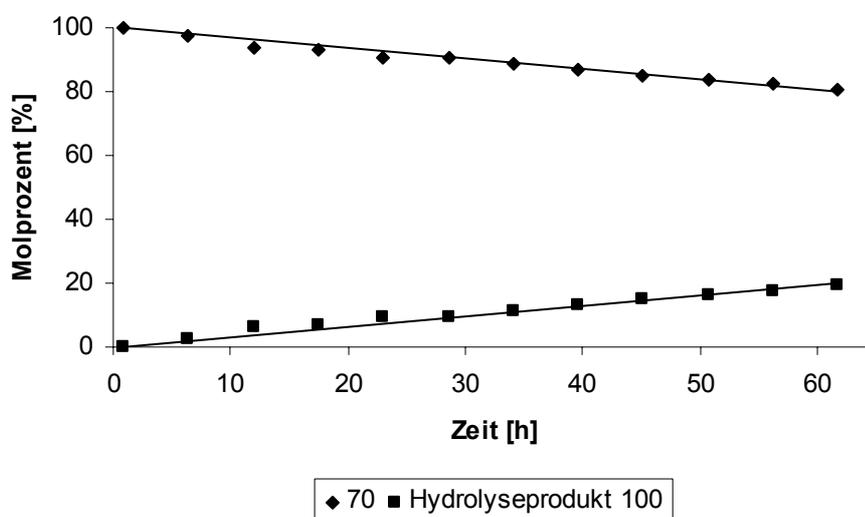


Abb. 3.14: Hydrolyseverlauf von **70** in H₂O.

Auch alle übrigen Verbindungen sind als Hydrochloride bzw. Hydrobromide in Wasser stabiler als in PBS (Kapitel 9.1, Seite 210) und zeigen einen ähnlichen Kurvenverlauf. Die in der Literatur [Watts, 140] beschriebene Abnahme der Hydrolyserate bei niedrigerem pH-Wert zeigt sich auch bei 4,5-Diarylimidazolinen. Des Weiteren konnten für die in PBS stabilen Verbindungen **83**, **88** und **90** auch in H₂O keine Hydrolyseprodukte detektiert werden.

Auf Grund des unterschiedlichen Verlaufs der Hydrolyse in Wasser und PBS ist es wahrscheinlich, dass die Hydrolyse in Wasser nach einem anderen Mechanismus abläuft. Der pH-Wert der Verbindungen in Wasser (pH = 5 – 6) ist niedriger als der pH der PBS-Lösungen (pH = 7.4). Das Gleichgewicht zwischen freier Base und protonierter Form des Imidazolins ist dadurch noch stärker zur protonierten Form hin verschoben. Die pK_s-Werte der Verbindungen üben daher fast keinen Einfluss auf die Hydro-

lysegeschwindigkeit aus. Die Konzentration des Nucleophils OH^- ist ca. 100-mal niedriger als bei pH 7.4 in PBS. Wahrscheinlicher ist es daher, dass Wasser das nukleophile Agens der Reaktion darstellt. Die nicht zu beobachtende Rückreaktion des gebildeten Amids zum Imidazolin, lässt auf eine irreversible Reaktion schließen. Der vermutliche Reaktionsmechanismus der Hydrolyse in Wasser ist in Abb. 3.15 dargestellt.

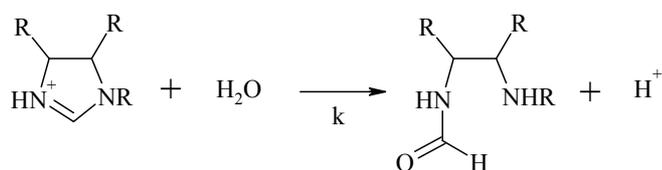


Abb. 3.15: Reaktionsmechanismus der Hydrolyse in Wasser.

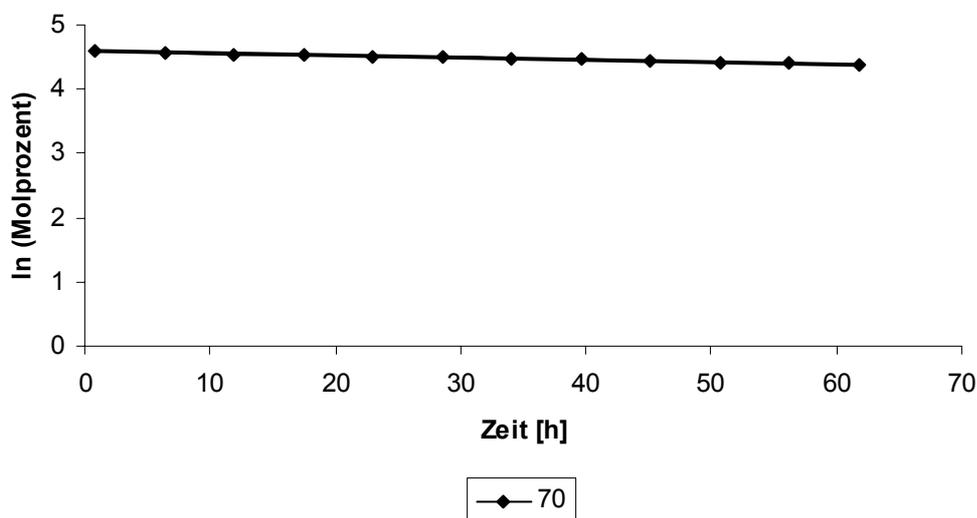
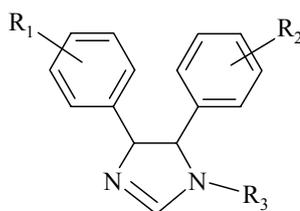
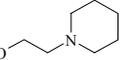


Abb. 3.16: Semilogarithmische Darstellung des Hydrolyseverlauf von **70** in H_2O .

Derartige Reaktionen sind pseudoerster Ordnung, wenn ein Reaktionspartner in großem Überschuss vorhanden ist. Dies ist in diesem Fall H_2O , das als Nucleophil am C2 des Imidazolins angreift. Die Hydrolyse des Imidazolins **70** und der weiteren instabilen Verbindungen verläuft während des Beobachtungszeitraums in Wasser linear (Abb. 3.16). Die Geschwindigkeitskonstanten von **70** und der übrigen Verbindungen lassen sich somit nach pseudoerster Ordnung ermitteln. Sie sind in Tab. 3.4 zusammengefasst.



Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	Konfiguration	k _{obs} [h ⁻¹]
40	2-Cl, 4-OCH ₃	2-Cl, 4-OCH ₃	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0049
68	4-OH	4-OH	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0125
70	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0033
71	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)	0.0076
72	2,6-Cl ₂ , 4-OH	2-Cl, 4-OH	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0040
86	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-OH	Ethyl	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0004
96	2-Cl, 4-OH	2-Cl, 4-()	H	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)/(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	0.0079

Tab. 3.4: Geschwindigkeitskonstanten der untersuchten Verbindungen in H₂O.

Erwartungsgemäß sind am Imidazolinring substituierte Verbindungen (**83**, **86**, **88** und **90**) auch in Wasser stabiler als die entsprechende am Ring nicht substituierte Verbindung **70**, wobei wiederum nur bei der *N*-ethylierten Verbindung **86** Hydrolysevorgänge beobachtet wurden. Die Gründe hierfür wurden bereits in Kapitel 3.3.1 dargestellt.

Verbindung	Verhältnis k _{obs} (PBS) / k _{obs} (H ₂ O)
40	40.4
68	9.8
70	45.4
71	15.4
72	13.0
86	10.0
96	27.2

Tab. 3.5: Vergleich der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} in H₂O und PBS

Betrachtet man die Verhältnisse der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} in PBS und der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} in Wasser der Verbindungen (Tab. 3.5) zeigt sich, dass die Hydrolyse in Wasser bei **68**, **71**, **72** und **86** ca. zehnmals langsamer stattfindet.

Deutlich höhere Verhältnisse ergeben sich für die Verbindungen **40**, **70** und **96** (Faktor > 25). Diese drei Verbindungen haben in den Aromaten *ortho*-Chlorsubstituenten und sind am Imidazolinring nicht weiter substituiert.

Wie gezeigt werden konnte, verläuft die Hydrolyse der Verbindungen in PBS und Wasser nach unterschiedlichen Mechanismen. In PBS sind zwei, aufeinander folgende Gleichgewichtreaktionen an der Hydrolyse beteiligt. Der erste Reaktionsschritt stellt dabei die Einstellung eines Gleichgewichts zwischen protonierter und nicht protonierter Form der Verbindungen dar. Im zweiten, geschwindigkeitsbestimmenden Schritt findet ein nukleophiler Angriff von OH^- an der protonierten Form statt. Die Hydrolyse in Wasser ist im Gegensatz dazu eine irreversible Reaktion, die nach einem Mechanismus pseudoerster Ordnung abläuft. Da bei pH 5 – 6 OH^- nicht in ausreichender Menge vorhanden ist, ist Wasser das nukleophile Agens, das wiederum die protonierten Verbindungen angreift. Da Wasser ein schlechteres Nukleophil als OH^- ist, sind alle untersuchten Verbindungen in H_2O wesentlich stabiler als in PBS.

