

SPEKTROFOTOMETRIJSKO ISPITIVANJE PROCESA PROTONACIJE DERIVATA 5,6-DIMETILBENZIMIDAZOLA

Sanja O. Podunavac-Kuzmanović, Nada U. Perišić-Janjić, Đorđe S. Vlaović

Primenom spektrofotometrijske metode ispitano je ponašanje derivata 5,6-dimetilbenzimidazola u rastvorima različitih kiselosti, gde se javlja proces protonacije. Na osnovu promena u elektronskim apsorpcionim spektrima određene su konstante protonacije ispitivanih jedinjenja. Prodiskutovan je uticaj hemijske strukture na baznost ispitivanih derivata 5,6-dimetilbenzimidazola. Dobijena je linearna zavisnost između konstanti protonacije i Hammett-ovih konstanti supstituenta.

KLJUČNE REČI: *derivati benzimidazola, protonacija, spektrofotometrijska metoda*

UVOD

Benzimidazol i njegovi derivati godinama privlače pažnju mnogih istraživača, pre svega zbog svoje veoma izražene biološke aktivnosti, te stoga ulaze u sastav velikog broja lekova. Njihova primena uglavnom se zasniva na činjenici da većina molekula koji sadrže benzimidazol kao fragment pokazuju određenu fiziološku aktivnost kao što je antibakterijska, antihipertenzivna i antiinflamatorna aktivnost, kao i da zaustavljaju rast i razvoj različitih vrsta gljivica i virusa (1-8). U novije vreme, u velikom broju objavljenih radova posebno se ističe aktivnost ove grupe jedinjenja protiv HIV virusa (9-13). Pored svojih antibakterijskih svojstava, derivati benzimidazola su ujedno i intermedijeri u sintezama aktivnih supstanci velikog broja lekova. S obzirom na antibakterijsku i antifungalnu aktivnost ove grupe molekula, kao i na njihove farmakološke osobine, ispitivanje osobina novosintetisanih, kao i poznatih derivata benzimidazola je od velikog značaja.

Predmet ovog rada je bio da se prouči ponašanje derivata 5,6-dimetilbenzimidazola u rastvorima različitih kiselosti kao i da se odrede odgovarajuće konstante protonacije.

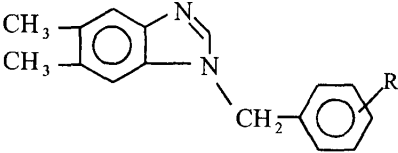
Dr Sanja O. Podunavac-Kuzmanović, docent, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, 21000 Novi Sad, Bul. Cara Lazara 1, Jugoslavija; Dr Nada U. Perišić-Janjić, red. prof., Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za hemiju, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3, Jugoslavija. Dr Đorđe S. Vlaović

EKSPERIMENTALNI DEO

Različito supstituisani derivati 1-benzil-5,6-dimetilbenzimidazola (Tabela 1.) ispitani su u ovom radu. Da bi se mogao pratiti uticaj supstituenata u položaju 1 ispitivanih derivata benzimidazola na konstante protonacije ovih jedinjenja, bilo je neophodno ispitati i ponašanje nesupstituisanog 5,6-dimetilbenzimidazola (I_0).

Derivati benzimidazola ispitivani u ovom radu sintetisani su postupkom opisanom u literaturi (14). Osnovni rastvori ispitivanih jedinjenja pripremani su u etanolu (*Zorka-šabac*), koncentracije $3,5 \cdot 10^{-4}$ mol dm^{-3} . Sve korišćene hemikalije bile su čistoće p.a. Za određivanje konstanti protonacije korišćeni su vodeni rastvori jedinjenja koncentracije $4,55 \cdot 10^{-5}$ mol dm^{-3} . Protonacija je ispitivana u vodenim rastvorima perhlorne kiseline (70%, *Merck-Alkaloid*), određene pH vrednosti. Slepa proba je bila istog sastava kao i proba, jedino je umesto rastvora ispitivanog jedinjenja dodavana ista zapremina etanola. Jonska jačina je održavana konstantnom dodatkom natrijum-perhlorata ($I=0,01$).

Tabela 1. Strukture i skraćene oznake ispitivanih derivata benzimidazola

GRUPA JEDINJENJA	R	Skraćena oznaka
	p-CH ₃	I-p-CH ₃
	m-OCH ₃	I-m-OCH ₃
	p-Cl	I-p-Cl
	o-Cl	I-o-Cl
	m-F	I-m-F

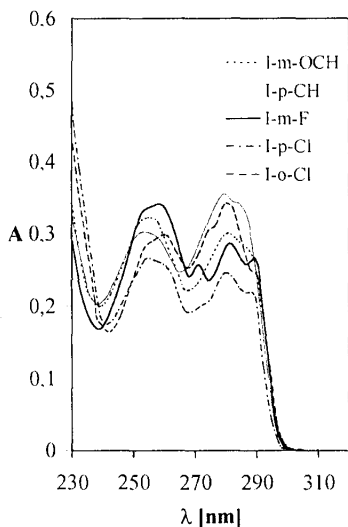
Elektronski apsorpcioni spektri snimani su spektrofotometrom VARIAN CARY 219, pri dužini optičkog puta od 1,00 cm. Za merenje pH u oblasti od 2 do 12 korišćen je pH-metar ISKRA MA-5704. Tačnost pH-metra je 0,02 jedinice. Ispitivanja su izvedena na temperaturi od 25° C.

REZULTATI I DISKUSIJA

Ponašanje derivata benzimidazola u kiselim sredinama

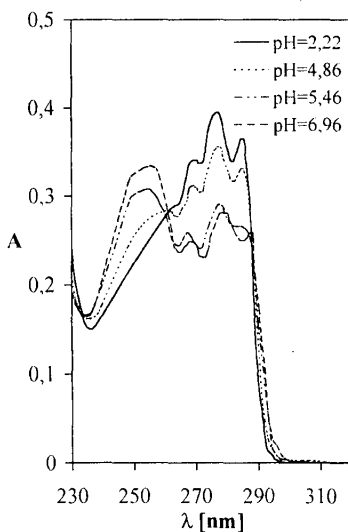
Elektronski apsorpcioni spektri vodenih rastvora 5,6-dimetilbenzimidazola i njegovih derivata u UV oblasti imaju dve karakteristične apsorpcione trake: jednu intenzivnu traku čiji se maksimum nalazi između 270 i 290 nm i drugu traku slabijeg intenziteta čiji se maksimum javlja oko 250 nm (Tabela 2, Slika 1).

Povećanjem kiselosti rastvora, odnosno smanjenjem pH vrednosti, dolazi do promena u elektronskim apsorpcionim spektrima ispitivanih derivata benzimidazola pri čemu se intenzitet



Slika 1. Apsorpcioni spektri ispitivanih derivata benzimidazola u vodi

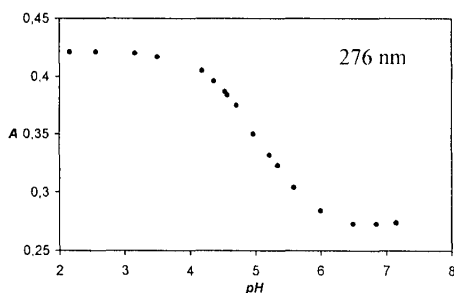
apsorpcije maksimuma koji se nalazi oko 250 nm smanjuje, dok istovremeno na apsorpcionom maksimumu koji se nalazi u oblasti talasnih dužina između 270 i 290 nm dolazi do povećanja apsorpcije i blagog pomeraja apsorpcionog maksimuma ka kraćim talasnim dužinama (Slika 2.). Ovaj maksimum karakteriše protonovani oblik derivata benzimidazola, što se može zaključiti i iz sličnosti oblika ovih spektara sa spektrima protonovanih oblika ranije ispitivanih derivata benzimidazola (15-19).



Slika 2. Apsorpcioni spektri 1-(3-fluorobenzil)-5,6-dimetilbenzimidazola u rastvorima različitih kiselosti

Tabela 2. Spektrofotometrijske karakteristike ispitivanih derivata benzimidazola

JEDINJENJE	λ_{max} [nm]	$\epsilon_{\text{max}} \cdot 10^{-3}$ [dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹]
I ₀	254; 275; 283	3,90; 5,93; 5,60
I-p-CH ₃	250; 277; 285	6,37; 7,47; 7,25
I-m-OCH ₃	256; 278; 286	6,15; 7,25; 5,30
I-o-Cl	250; 278; 286	6,80; 6,15; 5,80
I-p-Cl	250; 278; 287	5,70; 5,33; 4,82
I-m-F	255; 267; 278; 287	7,25; 5,52; 6,22; 5,80



Slika 3. Zavisnost apsorpcije rastvora 1-(3-fluorobenzil)-5,6-dimetilbenzimidazola od pH vrednosti rastvora

Prikazivanjem zavisnosti promena apsorpcije od kiselosti sredine, dobijene su krive koje su zbog svog oblika nazvane "S" krive (Slika 3). Iz spektrofotometrijskih podataka prikazanih "S" krivama izračunate su vrednosti konstanti protonacije, tj. konstanti disocijacije protonovanog oblika ispitivanih derivata benzimidazola na osnovu jednačine:

$$K_{BH_2} = \frac{c_{BH} \cdot c_{H^+} \cdot f_{BH} \cdot f_{H^+}}{c_{BH_2^+} \cdot f_{BH_2^+}} \quad [1]$$

odnosno, nakon logaritmovanja

$$pK_{BH_2^+} = \log I + npH \quad [2]$$

Indikatorski odnos, I , tj. odnos koncentracija protonovanog BH_2^+ i neutralnog oblika organske baze BH , računat je iz spektrofotometrijskih podataka:

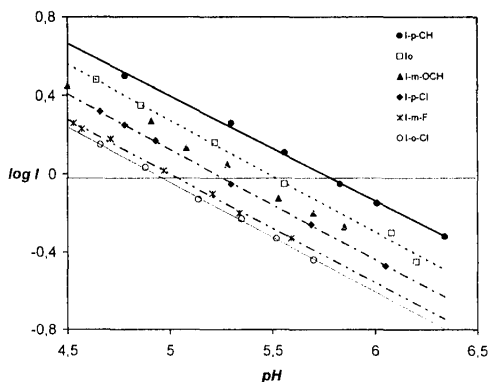
$$I = \left(\frac{A - A_{BH}}{A_{BH_2^+} - A} \right)_\lambda \quad [3]$$

gde je A_{BH} - apsorpcija neutralnog oblika, $A_{BH_2^+}$ - apsorpcija protonovanog oblika i A - apsorpcija baze pri nekoj srednjoj kiselosti rastvora, na određenoj talasnoj dužini. Izračunate vrednosti konstanti protonacije tj. $pK_{BH_2^+}$, date su u tabeli 3.

Tabela 3. Vrednosti $pK_{BH_2^+}$ i n za ispitivane derivate benzimidazola

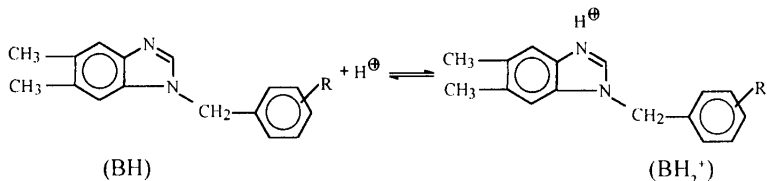
JEDINJENJE	$pK_{BH_2^+}$	n
I _o	5,45 ± 0,02	0,96
I-p-CH ₃	5,75 ± 0,02	0,93
I-m-OCH ₃	5,39 ± 0,04	1,00
I-o-Cl	4,97 ± 0,03	1,03
I-p-Cl	5,20 ± 0,01	0,93
I-m-F	5,01 ± 0,01	1,00

Svi ispitivani derivati benzimidazola pokazuju linearnu zavisnost $\log I$ od pH sredine (u intervalu pH od 4,5 do 6,5) (Slika 4). Vrednosti nagiba zavisnosti $\log I$ od pH određuju broj protona n koji se vezuje za neutralni oblik jedinjenja (Tabela 3), što znači da se pri protonaciji vezuje jedan vodonikov jon, odnosno da do protonacije dolazi na jednom atomu azota.



Slika 4. Zavisnost $\log I$ od kiselosti sredine za proces protonacije različito supstituisanih derivata 5,6-dimetilbenzimidazola

Proces protonacije ispitivanih derivata benzimidazola se odvija u slabo kiseloj sredini, pri čemu dolazi do vezivanja protona za sp^2 hibridizovan atom azota (20):

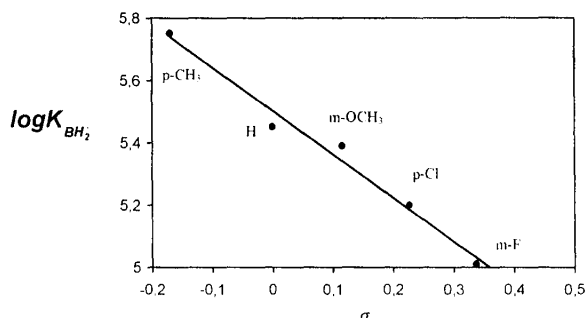


Uticaj strukture na baznost ispitivanih derivata benzimidazola

Uticaj hemijske strukture na proces protonacije je u skladu sa Hammett-ovom jednačinom (21):

$$\log K = \rho \sigma + \log K_0$$

gde je K - konstanta protonacije supstituisanog jedinjenja; K_0 - konstanta protonacije nesupstituisanog jedinjenja; ρ - Hammett-ova konstanta supstituenta i r - reakciona konstanta.



Slika 5. Zavisnost $-\log K$ vrednosti od Hammett-ove konstante supstituenta, σ , za ispitivane derivate 5,6-dimetilbenzimidazola

Na slici 5 je prikazana grafička zavisnost konstanti protonacije odnosno $pK_{BH_2}^+$ vrednosti od Hammett-ovih konstanti supstituenta σ . Dobru korelaciju nam potvrđuje visok koeficijent korelacije $r = 0,991$. Vrednost izračunate reakcione konstante je relativno niska ($\rho = -1,397 \pm 0,044$), što je posledica udaljenosti supstituenta od mesta protonacije.

Ako se uporede vrednosti konstanti protonacije, odnosno $pK_{BH_2}^+$ vrednosti (Tabela 3), može se primetiti da vrednosti ovih konstanti rastu sa porastom elektrondonorskih osobina supstituenata na benzenovom prstenu (od $-\text{Cl}$ ka $-\text{CH}_3$). Ove promene su u skladu sa povećanjem baznosti ispitivanih derivata benzimidazola.

ZAKLJUČAK

Spektrofotometrijskom metodom ispitan je proces protonacije različito supstituisanih derivata 5,6-dimetilbenzimidazola. Proces protonacije ispitivanih derivata se odvija u slabo kiselj sredini. Dobijene vrednosti za $pK_{BH_2}^+$ kreću se od 4,97 do 5,75. Vrednosti konstanti protonacije rastu sa porastom elektrondonorskih osobina supstituenata na benzenovom prstenu (od $-\text{Cl}$ ka $-\text{CH}_3$). Ove promene su u skladu sa povećanjem baznosti ispitivanih derivata benzimidazola. Za seriju ispitivanih derivata benzimidazola dobijena je dobra korelacija konstanti protonacije, odnosno $-\log pK_{BH_2}^+$ u zavisnosti od Hammett-ove konstante supstituenta σ . Vrednosti dobijenih reakcionih konstanti, ρ , su relativno niske što je posledica udaljenosti supstituenta od mesta protonacije.

LITERATURA

1. Yalcin, I., Kaymakcioglu, B. K., Oren, I., Sener, E., Temiz, O., Akin, A. and N. Altanlar: Synthesis and Microbiological Activity of Some Novel N-(2-Hydroxyl-5-Substitutedphenyl) Benzacetamides, Phenoxyacetamides and Thiophenoxyacetamides as the Possible Metabolites of Antimicrobial Active Benzoxazoles. *Farmaco* **52** (1997), 685-689.
2. Cuberes, M. R., Contijoch, M., Calvet, C., Alegre, J., Quintana, J. R. and J. Frigola: Synthesis and Structure-Activity- Relationships of a New Series of Benzimidazoles as H-1-Antihistaminic Agents. *Chem. Pharm. Bull.* **45** (1997), 1287-1292.
3. Podunavac - Kuzmanović, S. O., Leovac, V. M., Perišić-Janjić, N. U., Rogan, J. and J. Balaž: Complexes Cobalt (II), Zinc(II) and Copper(II) with Some Newly Synthesized Benzimidazole Derivatives and Their Antibacterial Activity. *J. Serb. Chem. Soc.* **64** (1999), 381-388.
4. Perišić-Janjić, N. U., Podunavac-Kuzmanović, S. O., Balaž, J. S. and Đ. S. Vlaović: Physicochemical Properties and Antibacterial Activity of Cu(II) Complexes with Some Benzimidazole Derivatives. *Acta Periodica Technologica* **29-30** (1998-1999), 173-181.
5. Hollomon, D. W., Butters, J. A., Barker, H. and L. Hall: Fungal Beta-Tubulin, Expressed as a Fusion Protein, Binds Benzimidazole and Phenylcarbamate Fungicides. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42** (1998), 2171-2173.
6. Benvenuti, S., Severi, F., Sacchetti, A., Melegari, M., Vampa, G., Zani, F., Mazza, P. and L. Antolini: Synthesis, Antimicrobial and Genotoxic Properties of Some Benzoimidazole Derivatives. *Farmaco* **52** (1997), 231-235.
7. Ates, Z., Suzen, S., Buyukbingol, E., Caneke, B. and M. Iscan: Effects of Benzimidazole Compound on Monooxygenase Activities. *Farmaco* **52** (1997), 703-706.
8. Ersan, S., Nacak, S., Noyanalpan an N. E. Yesilasa: Studies on Analgesic and Antiinflammatory Activities of 1-Dialkylaminomethyl-2-(P-Substituted Phenyl)-5-Substituted Benzimidazole Derivatives. *Arzneimittel. Forschung/Drug Research* **47** (1997), 834-836.
9. Evans, T. M., Gardiner, J. M., Mahmood and N. M. Smis: Structure-Activity- Relationships of Anti-HIV-1 N-Alkoxy-Benzimidazoles and N-Allyloxy-Benzimidazoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **7** (1997), 409-412.
10. Kreimeyer, A., Muller, G., Kassack, M., Nickel, P. and A. R. T. Gagliardi: Suramin Analogs with a 2-Phenylbenzimidazole Moiety as Partial Structure - Potential Anti-HIV and Angiostatic Drugs, 2-Sulfanilic Acid, Benzenedisulfonic Acid, and Naftalenetrisulphonic Acid Analogs. *Arch. der Pharm.* **331** (1998), 97-103.
11. Novelli, F., Tasso, B., Sparatore, F., A. Sparatore: Synthesis and Biological Investigations of 2-(Tetrahydropyran-2 -YL) and 2-(Tetrahydrofuran-2 -YL) Benzimidazoles. *Farmaco* **52** (1997), 499-507.
12. Roth, T., Morningstar, M. L., Bpyer, P. L., Hughes, S. H., Buckheit, R. W. and C. J. Michejda: Synthesis and Biological-Activity of Novel Nonnucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse-Transcriptase-2-Aryl-Substituted Benzimidazoles. *J. Med. Chem.* **40** (1997), 4199-4207.
13. Badawey, E. S. A. M. and T. Kappe: Synthesis and in-Vitro Anti-HIV Activity of Certain 2-(1H-Benzimidazol-2-YLamino) Pyrimidin-4 (3H)-Ones and Related Derivatives. *Arch. der Pharm.* **330** (1997), 59-62.
14. Vlaović, Đ., čanadanović-Brunet, J., Balaž, J., Juranić, I., Đoković and D. K. Mackenzie: Synthesis, Anti - bacterial and Antifungal Activities of Some New Benzimidazoles. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56** (1992), 199-206.

15. Mishra, A. K. and K. Dogra: Prototropic Equilibria in the Lowest Excited Singlet State of 2-Hydroxybenzimidazole(2(3H)-benzimidazolone). *J. Photochem.* **29** (1985), 435-439.
16. Sinha, H.K. and S.K. Dogra: Absorptiometric and Fluorometric Study of Solvent Dependence and Prototropism of 2-Substituted Benzimidazole Derivatives. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1987), 1465-1471.
17. Krishnamurthy, V., Phaniraj, P. and S. K. Dogra: Absorptiometric and Fluorometric Study of Solvent Dependence and Prototropism of Benzimidazole Homologues. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1986), 1917-1922.
18. Sinha, H. K., S. K. Dogra: Effect of Solvents and pH on the spectral characteristics of 2-(3-Hydroxyphenyl)benzimidazole and 2-(4-Hydroxyphenyl)benzimidazole and Their Methoxy Derivatives. *J. Photochem.* **36** (1987), 149-161.
19. Perišić-Janjić, N., Podunavac-Kuzmanović, S. and Đ. Vlaović: The Ionization Constants of Some Newly Synthesized 1-Benzyl-2-Amino-5,6-Dimethylbenzimidazole Derivatives., *J. Serb. Chem. Soc.* **59** (1994), 743-748.
20. Catalan, J., Menendez, M., and J. Elguero: On the Relationships Between Basicity and Acidity in Azoles. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1** (1985), 30-33.
21. Hammett, L. P.: *Physical Organic Chemistry*, Mc Graw-Hill Book Company Inc., New York-London (1940).

SPECTROPHOTOMETRIC INVESTIGATION OF PROTONATION PROCESS OF 5,6-DIMETHYLBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Sanja O. Podunavac-Kuzmanović, Nada U. Perišić-Janjić, Đorđe S. Vlaović

The behaviour of 5,6-dimethylbenzimidazole derivatives in the solutions of different acidity were investigated by spectrophotometric method. In these solutions protonation process occurs, so the protonation constants were determined from the changes in the absorption spectra. The effect of chemical structure on basicity of 5,6-dimethylbenzimidazole derivatives was discussed. Good correlation between protonation constants and Hammett substituent parameters, s , was obtained.

Prispeo 28. januara 2000.
Prihvaćen 15. marta 2000.