

## **Strukturuntersuchungen**



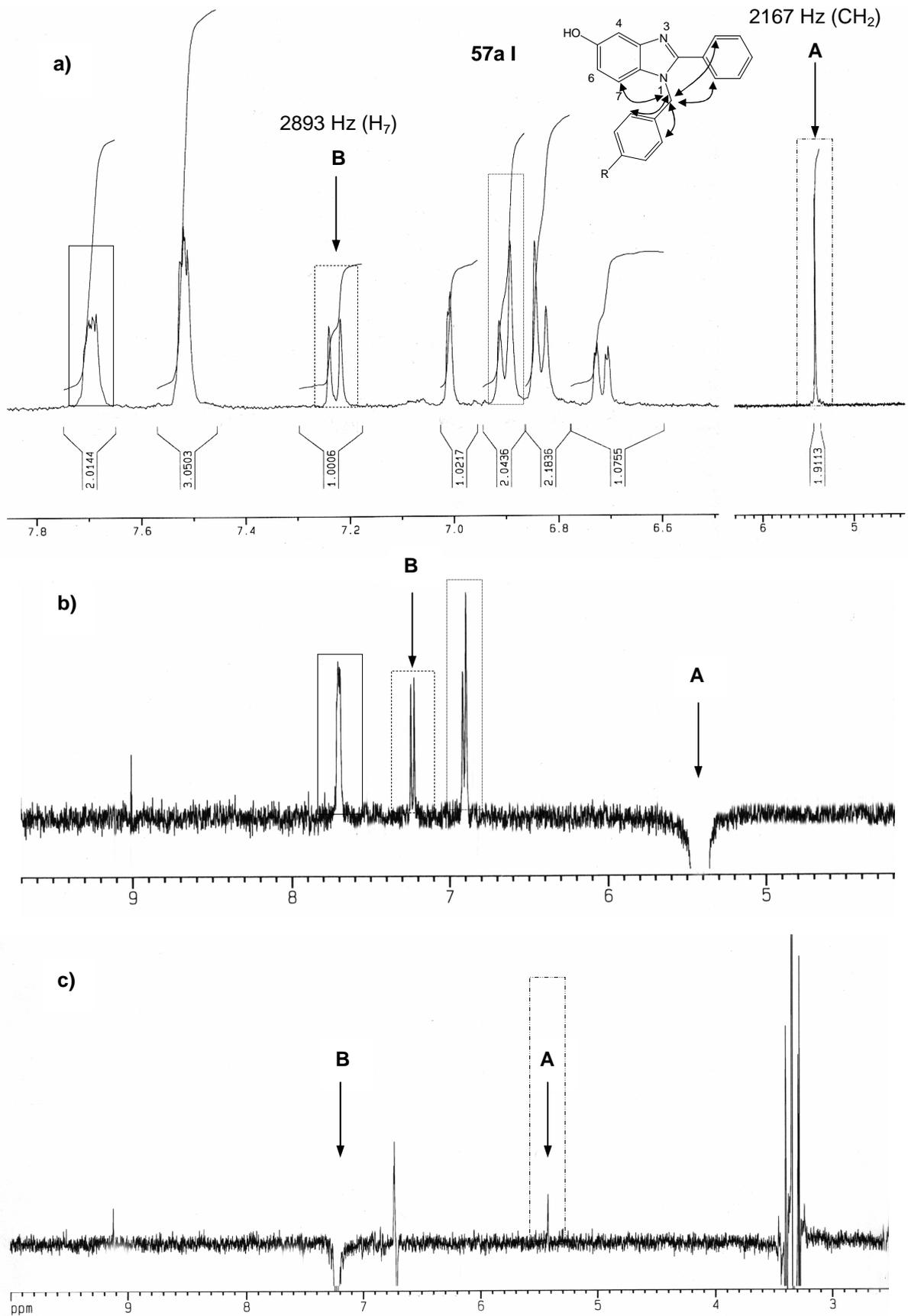
## 6 Strukturuntersuchungen

Für die Interaktion der in dieser Arbeit neu synthetisierten Verbindungen mit dem Estrogenrezeptor ist der Einfluss der Stellung der Hydroxygruppe am Benzimidazolgrundgerüst von besonderer Bedeutung. Die bisher in der Literatur für ähnliche Strukturen beschriebenen Ergebnisse sind dabei sehr unterschiedlich <sup>[204, 206]</sup>. Von Angerer wies an einer Reihe von 2-Phenylindolen, die am Stickstoff eine substituierte Benzylgruppe tragen nach, dass kein wesentlicher Unterschied in den RBA-Werten zwischen den 5- und 6-Hydroxyindolen besteht <sup>[206]</sup>. Andererseits zeigten Untersuchungen an Raloxifenderivaten eine dreifache Reduktion der Bindungsaffinität, während sich die inhibierende Wirkung auf das Wachstum von MCF-7 Zellen sogar um das 500-fache verringerte, wenn die Hydroxygruppe von C(6) nach C(5) verschoben wurde <sup>[204]</sup>. Aus oben genannten Gründen war es von Interesse, sowohl Benzimidazole mit einer Hydroxygruppe in 5-Position als auch die entsprechenden Analoga mit der Hydroxygruppe an C(6) zu synthetisieren.

### 6.1 Strukturaufklärung mittels <sup>1</sup>H-NMR und NOE-Differenzspektren

Aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren allein konnte keine Auskunft über die Stellung der Hydroxygruppe am Benzimidazolgrundgerüst erhalten werden. Aus diesem Grund wurden für die Isomere **57a I** und **57a II** NOE-Differenzspektren („nuclear overhauser effect) bei einer Betriebsfrequenz von 400.13 MHz in DMSO aufgenommen (Abb. 43b-c, 44b-c). Durch sukzessive Einstrahlung von Anregungsfrequenzen ausgewählter Protonen (Spin-Entkopplung) und Auswertung der dabei auftretenden Signalintensitäten zu räumlich benachbarten Protonen erhält man eine Aussage über die Konstitution des Isomers **57a I** (Abb. 43b-c). Hierzu wurden die Protonen der Benzylgruppe (**A**) mit der Frequenz  $\nu_0 = 2167$  Hz gesättigt (negatives Signal) und der NOE des Protons an C(7) (**B**) bei 2893 Hz (positives Signal) registriert (Abb. 43b). Zum Gegenbeweis wurde das Proton des C(7) (**B**) mit der Frequenz  $\nu_0 = 2893$  Hz gesättigt (negatives Signal) und der NOE der Protonen der Benzylgruppe (**A**) (positives Signal) registriert (Abb. 43c). Das Auftreten eines Dubletts des Protons am C(7) mit einer Kopplungskonstante  $^3J = 8.7$  Hz schließt die direkte Nachbarschaft der

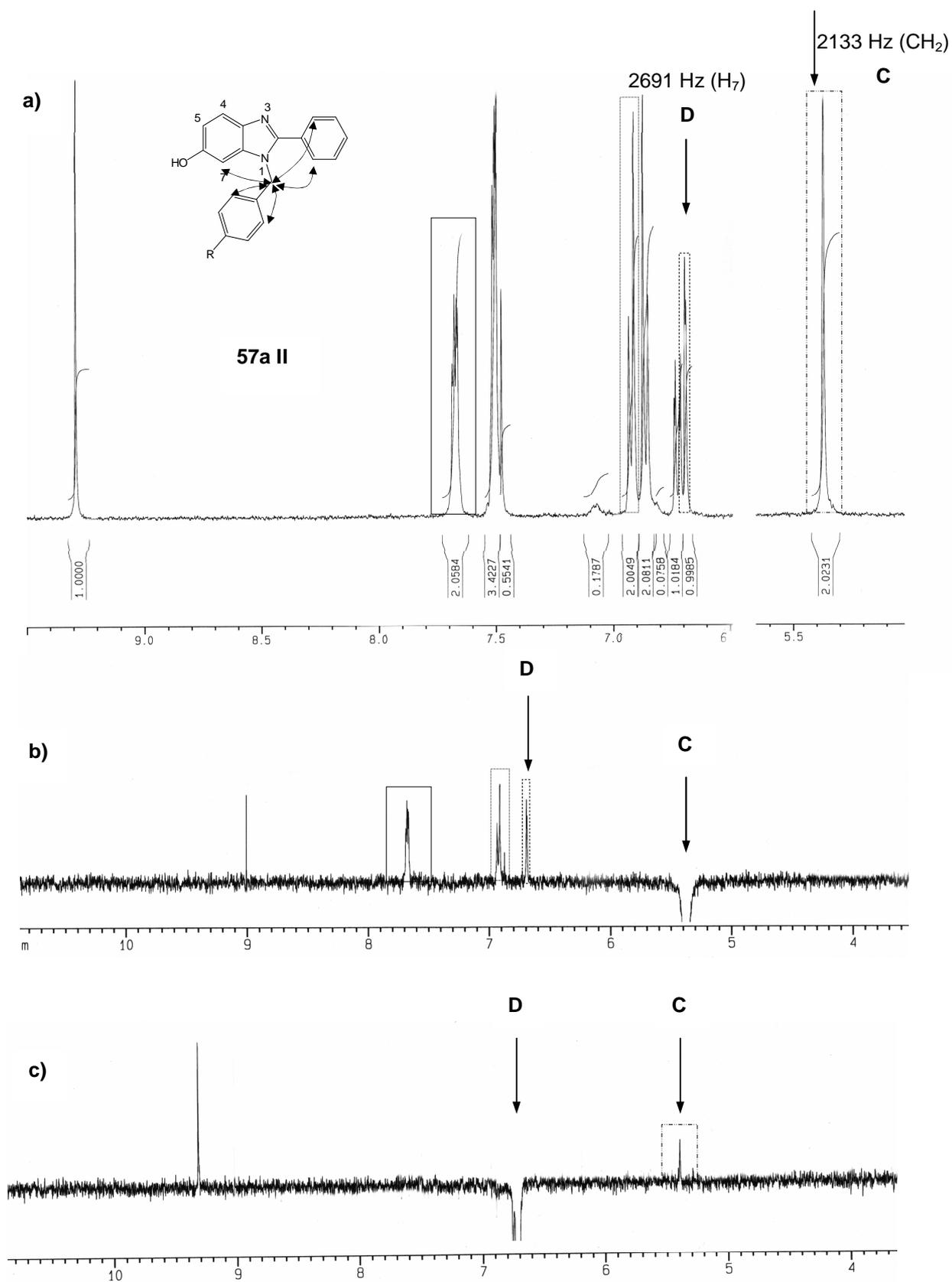
Hydroxygruppe aus, die eine wesentlich kleinere Kopplungskonstante dieses Protons zum H<sub>5</sub> ( $^4J \approx 2.0$  Hz) zur Folge hätte. Das Vorliegen des 6-Hydroxy-Isomers (Abb. 44a) wird durch Auftreten von NOE zwischen der Benzylgruppe (**C**) und dem H<sub>7</sub> (**D**) bewiesen (Abb. 44b-c). Die direkte Nachbarschaft der Hydroxygruppe bewirkt eine Kopplung des H<sub>7</sub> zum H<sub>5</sub> über vier Bindungen ( $^4J = 2.1$  Hz), die im <sup>1</sup>H-NMR eindeutig zu identifizieren ist.



**Abb. 43:** a)  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **57a I** (5-OH-Isomer) in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K).

b) NOE-Differenzspektrum der Verbindung **57a I** in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K),  $\nu_0 = 2167\text{ Hz}$ .

c) NOE-Differenzspektrum der Verbindung **57a I** in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K),  $\nu_0 = 2893\text{ Hz}$ .

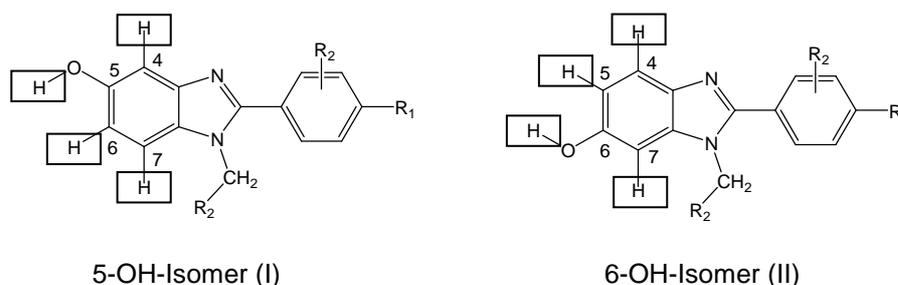


**Abb. 44:** a)  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **57a II** (6-OH-Isomer) in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K).

b) NOE-Differenzspektrum der Verbindung **57a II** in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K),  $\nu_0 = 2133\text{ Hz}$ .

c) NOE-Differenzspektrum der Verbindung **57a II** in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K),  $\nu_0 = 2691\text{ Hz}$ .

Auch beim Vergleich der  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des Isomerenpaares **57a I** und **57a II** (Abb. 43a und 44a) sind deutliche Unterschiede in der chemischen Verschiebung der in Abbildung 45 gekennzeichneten charakteristischen Protonen zu erkennen (Tab. 12). Vergleicht man die Protonensignale am C(4) kommt es bei Isomer **57b I** zu einer Hochfeldverschiebung im Vergleich zu Isomer **57b II**. Für das betrachtete Proton ist dieser Effekt durchgehend bei allen Isomerenpaaren zu beobachten. Auch bei Betrachtung der analogen Protonen an C(5), C(6) und C(7) sind signifikante nahezu konstante Hoch- bzw. Tieffeldverschiebungen zwischen den Isomeren eines Paares zu verzeichnen, die eine eindeutige Unterscheidung der 5- und 6-Hydroxy-Isomere ermöglichen.



**Abb. 45:** Allgemeine Strukturformel der

5-Hydroxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazole (5-OH-Isomer),  
 6-Hydroxy-2-phenyl-1-[4-(2-piperidin-1-yl-ethoxy)benzyl]-1*H*-benzimidazole (6-OH-Isomer).  
 Die gekennzeichneten Protonen weisen charakteristische chemische Verschiebungen auf.

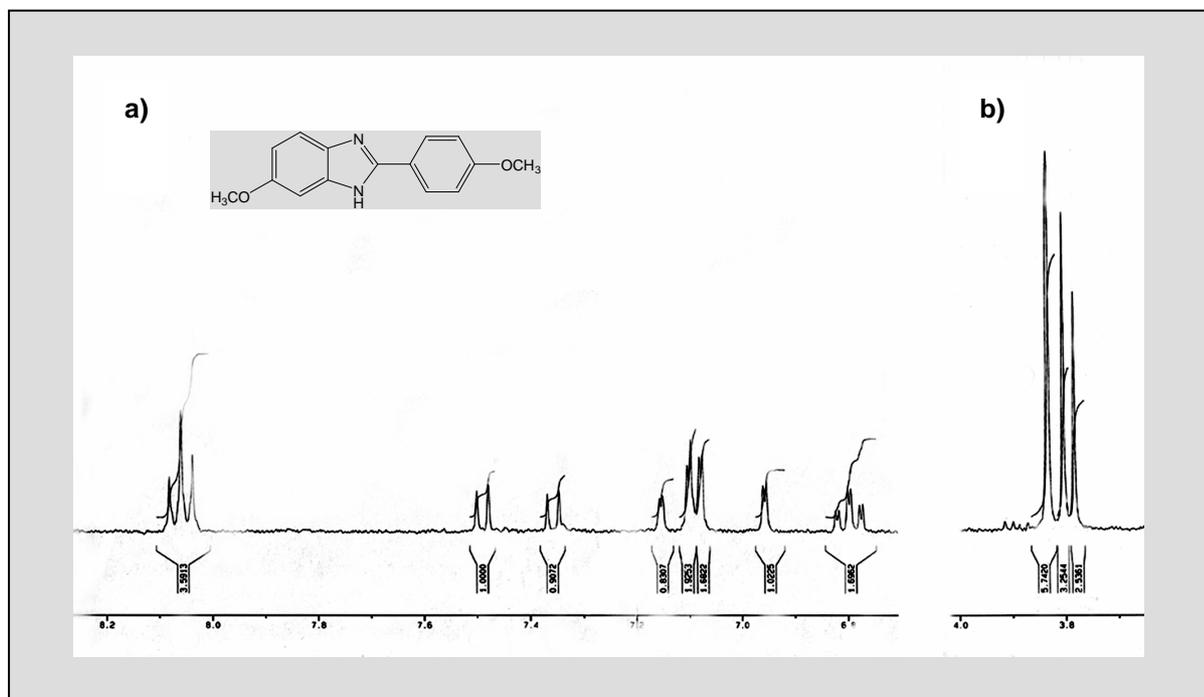
Proton Verb.	C(4)-H		C(5)-H		C(6)-H		C(7)-H	
	Isomer I	Isomer II						
<b>57a</b>	6.99	7.46	9.09	6.74	6.72	9.28	7.24	6.68
<b>57b</b>	6.96	7.42	9.05	6.68	6.67	9.21	7.15	6.63
<b>57d</b>	6.96	7.34	9.06	6.72	6.70	9.25	7.22	6.68
<b>57e</b>	6.93	7.36	9.11	6.63	6.63	10.44	7.12	6.60

**Tab. 12:** Chemische Verschiebungen relevanter Protonen der Isomere der Verbindungen **57a**, **57b**, **57d** und **57e** aus  $^1\text{H-NMR}$ -Spekten in ppm (Lösungsmittel: DMSO).

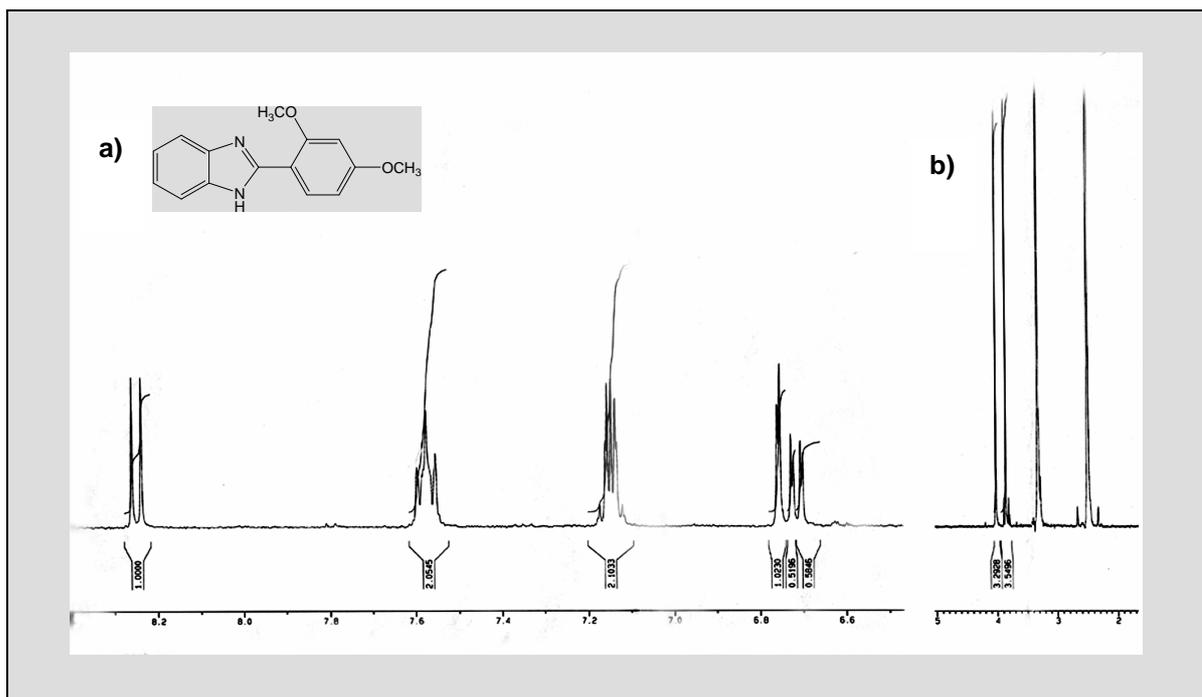
## 6.2 Eigenschaften von Benzimidazolen

### 6.2.1 Tautomerie von Benzimidazolen

Benzimidazole mit einem freien Iminowasserstoff sind tautomere Systeme. Es existiert ein schneller Austausch des Protons zwischen N(1) und N(3). Die zwei möglichen tautomeren Formen der Benzimidazole sind identisch, wenn man eine Symmetrieebene durch das Molekül legen kann. Es ergibt sich eine chemische Äquivalenz der Positionen 4/7 und 5/6 am Benzolring. Bei unsymmetrisch substituierten Molekülen sind die beiden auftretenden Verbindungen verschieden <sup>[207]</sup>, so dass auch im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zwei Verbindungen sichtbar werden (Abb. 46). Die Isomere sind nicht getrennt isolierbar. Abbildung 47 zeigt das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum eines symmetrischen Benzimidazols. Die Substitution des Iminowasserstoffes eliminiert die Möglichkeit der Tautomerie. N-Substitution ist sowohl in Position 1 als auch in Position 3 des Benzimidazolgerüsts möglich.



**Abb. 46:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum eines unsymmetrischen 1H-Benzimidazols in [D<sub>6</sub>]DMSO (300K).  
Spektrenausschnitte von **a)** 6.70 - 8.25 und **b)** 3.65 - 4.00 ppm.



**Abb. 47:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum eines symmetrischen  $1\text{H}$ -Benzimidazols in  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$  (300K).  
Spektrenausschnitte von **a)** 5.55 - 8.40 und **b)** 1.70 - 5.00 ppm.

Bei unsymmetrischer Substitution des Benzimidazolrings werden daher bei der N-Alkylierung bzw. N-Arylierung immer zwei Isomere erhalten, die schwer voneinander trennbar sind.

### 6.2.2 Basizität und Azidität von Benzimidazolen

Die zwei N-Atome des Benzimidazol-Ringsystems weisen einen unterschiedlichen Hybridisierungsgrad auf. Es existiert ein  $\text{sp}^3$ - und ein  $\text{sp}^2$ -hybridisiertes Stickstoffatom. Das Proton am  $\text{sp}^3$ -Stickstoff ist azid, während das  $\text{sp}^2$ -hybridisierte N-Atom als Base wirkt und protoniert werden kann <sup>[207]</sup>. Die Basizität der Benzimidazole ( $\text{pK}_b = 8.5$ ) ist schwächer als die der Imidazole ( $\text{pK}_b = 7.0$ ). Der Unterschied in der Basenstärke ist bedingt durch die Konjugation zwischen dem Imidazol- und Benzolring, wodurch die Zahl der möglichen Mesomerieformen und damit die chemische Stabilität erhöht werden. Elektronenziehende Substituenten verringern die Basizität, während elektronenschiebende Gruppen den gegenteiligen Effekt bewirken <sup>[208]</sup>.

Die neu synthetisierten Benzimidazole sind zusätzlich durch das Vorhandensein eines basischen Piperidinrings charakterisiert. Der  $pK_b$ -Wert des Piperidinrings liegt bei 2.63 ( $pK_s = 11.37$ ), so dass bei einem pH-Wert von 7.3 99.99% in protonierter Form vorliegen. Dieser Wert ergibt sich aus der Gleichung nach Henderson-Hasselbalch (**1**):

$$\text{pH} = \text{pK}_s + \lg \frac{c(\text{Base})}{c(\text{Säure})} \quad (1)$$