

# ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ «СТРУКТУРА–АКТИВНОСТЬ» В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА С ФРАГМЕНТОМ ЭКРАНИРОВАННОГО ФЕНОЛА

Т. О. Хубаева, И. В. Хубаева

ГБОУ ВПО Северо-Осетинская государственная медицинская академия

Минздрава России, Владикавказ

Поступила в редакцию 12.01.2015 г.

**Аннотация.** Выявлены количественные соотношения антиоксидантной активности (АОА) с константами кислотности и с теоретически рассчитанным зарядом для 1-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)-2-арилбензимидазолов.

**Ключевые слова:** Бензимидазолы с фрагментом пространственно-затрудненного фенола, антиоксидантная активность.

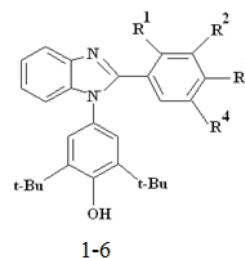
**Abstract.** Quantitative correlations of antioxidant activity (AOA) are deduced with the constants of acidity and with the charge expected in theory for 1-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-2-arylbenzimidazoles.

**Keywords:** Benzimidazoles with a fragment of the steric hindered phenols, antioxidant activity.

В последние годы значительное распространение получили подходы к выбору структур для целенаправленного анализа, основанные на математических моделях, устанавливающих связь между структурой молекулы и ее биологическим действием. Альтернативой дорогостоящему и громоздкому биологическому скринингу является выявление количественных соотношений «структура–активность» (КССА) с помощью как вычислительных методов изучения КССА и расчета физико–химических параметров (например, заряда), так и экспериментально найденных констант (например, констант ионизации), определяющих токсичность и фармакологическое поведение [1].

Ранее были изучены свойства и антиоксидантная активность 1-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)-2-арилбензимидазолов (1–6) [2–4].

Цель данной работы заключалась в изучении взаимосвязи антиоксидантной активности (АОА) с константами кислотности (рКа) и с молекулярными дескрипторами производных бензимидазола с фрагментом экранированного фенола.



1-6  
 $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{CH}_3, R^3, R^4 = \text{H}$  (1);  $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{CH}_3, R^4 = \text{H}$  (2);  
 $R^1 = \text{OH}, R^2, R^3 = \text{H}, R^4 = \text{CH}_3$  (3);  $R^1 = \text{OH}, R^2, R^4 = \text{Br}, R^3 = \text{H}$  (4);  
 $R^1 = \text{OH}, R^2, R^3, R^4 = \text{H}$  (5);  $R^1 = R^2, R^4 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$  (6).

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве рассматриваемой молекулярной характеристики был использован максимально положительный парциальный заряд ( $\sigma_p$ ) на атоме водорода гидроксильной группы, находящейся в *ortho*-положении фенильного кольца. Значения зарядов рассчитаны с использованием программ Gaussian 03 (полуэмпирический метод PM3, с полной оптимизацией геометрии молекул) и ACD/ChemSketch 12.0.

Определение констант ионизации исследуемых соединений было проведено методом по-

тениметрического титрования с помощью универсального иономера рН–150 М. В качестве индикаторного использовался стеклянный электрод, в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный. Концентрация титруемых соединений в этаноле составила  $5 \cdot 10^{-3}$  М.

Титрование проводили  $5 \cdot 10^{-2}$  М раствором гидроксида калия в этаноле. В качестве буферных растворов применяли 0.05 М раствор калия гидрофталата  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  с рН  $3.55 \pm 0.01$  и 0.025 М растворы натрия моногидрофосфата + калия дигидрофосфата ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ ) с рН  $6.85 \pm 0.01$ . Точную навеску исследуемого вещества растворяли в мерной колбе на 25 мл. 10 мл 0.005 М спиртового раствора исследуемого соединения титровали из микробюретки 0.05 М спиртовым раствором КОН, каждый раз измеряя значение рН исследуемого раствора. В области точки эквивалентности наблюдался достаточный скачок значения рН.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Возможные схемы механизма ионизации можно предположить, исходя из квантово–механических расчетов (рис. 1. таблица 1).

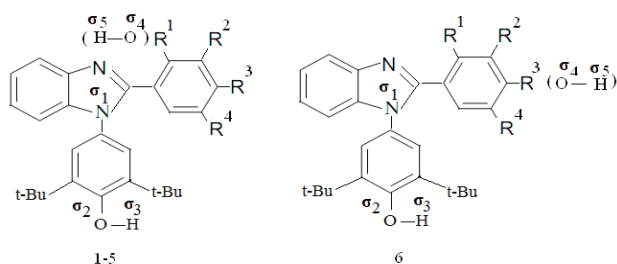


Рис. 1. Заряды на атомах кислорода, азота и водорода в производных бензимидазола 1–6.

Таблица 1.

Заряды на атомах кислорода, азота и водорода в производных бензимидазола 1–6

№ п/п	$\sigma_{1N}$	$\sigma_{2O}$	$\sigma_{3H}$	$\sigma_{4O}$	$\sigma_{5H}$
1	-0.0185	-0.0134	0.1270	-0.0131	0.1360
2	-0.0135	-0.0135	0.1240	-0.0132	0.1340
3	-0.0190	-0.0134	0.1270	-0.0131	0.1310
4	-0.0134	-0.0133	0.1250	-0.0131	0.1300
5	-0.0175	-0.0132	0.1210	-0.0130	0.1260
6	-0.0185	-0.0134	0.1170	-0.0128	0.1210

Значение величин зарядов на атоме азота ( $\sigma_1$ ), 2-х атомов кислорода ( $\sigma_2$ ) и ( $\sigma_4$ ) и на связанных с ними атомах водорода ( $\sigma_3, \sigma_5$ ) позволяет предпо-

ложить, что реакция протекает по ниже приведённым схемам 1, 2. Значение заряда на атоме азота ( $\sigma_1$ ) для всех соединений имеет высокое отрицательное значение, и как следствие, наблюдается высокая электронная плотность на связанном с ним атоме кислорода ( $\sigma_2$ ). Наиболее оптимальное значение электронной плотности наблюдается для гидроксильной группы в *орто*-положении ароматического кольца (положительный заряд на атоме водорода ( $\sigma_5$ ) больше заряда ( $\sigma_3$ ), а отрицательный заряд на атоме кислорода ( $\sigma_4$ ) меньше заряда на атоме кислорода ( $\sigma_2$ ). В результате атомы водорода гидроксильной группы в *орто*-положении ароматического кольца (соединения 1–5) и в *пара*-положении (соединение 6) будут проявлять большую подвижность.

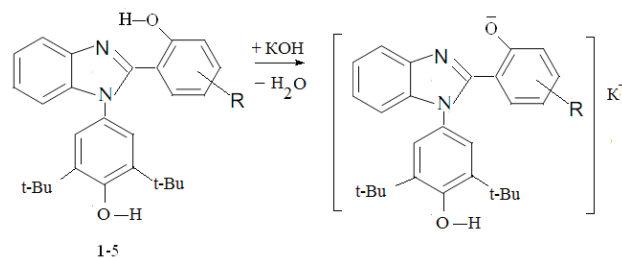


Схема 1

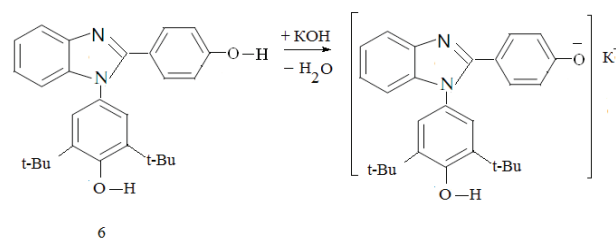


Схема 2

При определении констант ионизации для каждого соединения рассчитывали отношение  $\Delta\text{pH}/\Delta V = f(V)$  и при максимальном значении по построенным дифференциальным кривым титрования для каждого вещества определяли величину  $\text{pH}_{1/2}$ , равную значению константы кислотности  $\text{pK}_a$  в точке полунейтрализации (рисунок 2).

Для обработки полученных результатов потенциометрического титрования была проведена статистическая обработка и определены некоторые метрологические характеристики для данных 6-ти соединений этого ряда ( $\bar{X}$  – среднее арифметическое;  $S$  – стандартное отклонение;  $S_{\bar{X}}$  – стандартное отклонение среднего результата;  $\Delta_{\bar{X}}$  – доверительный интервал;  $\bar{\epsilon}$  – относительная ошибка

Таблица 2.

## Результаты потенциметрического определения констант кислотности соединений 1–6

№ п/п	$\Delta V(\text{KOH})$ , мл	$\Delta \text{pH}$	$\Delta \text{pH}/\Delta V$ (pKa)	Метрологические характеристики
1	0.50	1.910	3.82	$\bar{X} = 3.80$ $S_{\bar{x}} = 0.0042$ $\Delta \bar{x} = 0.01$ $3.80 \pm 0.01$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.32$
		1.890	3.78	
		1.910	3.82	
		1.900	3.80	
		1.890	3.78	
		1.910	3.82	
2	0.50	2.030	4.06	$\bar{X} = 4.03$ $S_{\bar{x}} = 0.0067$ $\Delta \bar{x} = 0.02$ $4.03 \pm 0.02$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.42$
		2.005	4.01	
		2.010	4.02	
		2.005	4.01	
		2.020	4.04	
		2.010	4.02	
3	0.50	2.345	4.69	$\bar{X} = 4.65$ $S_{\bar{x}} = 0.0088$ $\Delta \bar{x} = 0.02$ $4.65 \pm 0.02$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.49$
		2.320	4.64	
		2.335	4.67	
		2.315	4.63	
		2.325	4.65	
		2.325	4.65	
4	0.50	2.405	4.81	$\bar{X} = 4.80$ $S_{\bar{x}} = 0.0062$ $\Delta \bar{x} = 0.02$ $4.65 \pm 0.02$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.33$
		2.415	4.83	
		2.395	4.79	
		2.400	4.80	
		2.405	4.81	
		2.395	4.79	
5	0.50	2.700	5.40	$\bar{X} = 5.40$ $S_{\bar{x}} = 0.0070$ $\Delta \bar{x} = 0.02$ $5.40 \pm 0.02$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.33$
		2.720	5.44	
		2.685	5.37	
		2.705	5.41	
		2.695	5.39	
		2.710	5.42	
6	0.50	3.410	6.82	$\bar{X} = 6.80$ $S_{\bar{x}} = 0.0067$ $\Delta \bar{x} = 0.02$ $6.80 \pm 0.02$ $\bar{\epsilon}, \% = \pm 0.25$
		3.400	6.80	
		3.395	6.79	
		3.385	6.77	
		3.400	6.80	
		3.395	6.79	

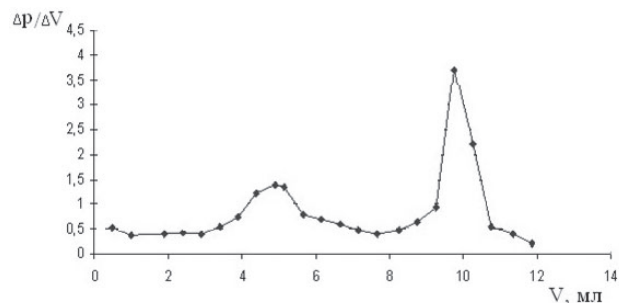


Рис. 2. Дифференциальная кривая потенциметрического определения константы кислотности pKa соединения 1 по первой производной

В исследуемом ряду соединений с помощью программы Microsoft Excel рассчитаны коэффициенты линейной корреляции Пирсона ( $r$ ), отражающие зависимость АОА от экспериментально найденных констант кислотности (pKa) и теоретически рассчитанного заряда ( $\sigma_H$ ) (таблица 3).

С целью установления корреляционной зависимости между АОА, константами кислотности (pKa) и молекулярным дескриптором ( $\sigma_H$ ) был проведен множественный линейный регрессионный анализ, в ходе которого были использованы 2 переменные: pKa и  $\sigma_H$ . Отбор переменных для уравнения регрессии проводили методом пошагового включения параметров, удовлетворяющих заданным уровням значимости статистических критериев.

Было получено 2 линейных однопараметровых уравнения и 1 двухпараметровое уравнение зависимости АОА от констант ионизации и заряда на атоме водорода гидроксильной группы (таблица 3). Уравнения 1 и 2 соответственно связывают биологическую активность с константами кислотности (pKa) и с зарядом ( $\sigma_H$ ) на атоме водорода гидроксильной группы в орто-положении фенильного кольца, уравнение 3 связывает активность с двумя параметрами – pKa и  $\sigma_H$ .

Для констант кислотности и заряда коэффициент корреляции равен 0.999. Использование двух параметров приводит к понижению коэффициента корреляции для уравнения 3 и составляет 0.998.

Чтобы определить пригодность полученных уравнений 1–3 было вычислено стандартное отклонение среднего результата ( $S_{\bar{x}}$ ), относительная ошибка результата ( $\epsilon, \%$ ) и  $F$ – критерий Фишера, свидетельствующий о значимости регрессии. При статистической обработке данных трех уравнений 3–е уравнение имеет минимальное стандартное отклонение среднего результата ( $S_{\bar{x}} = 0.181$ ) при относительной ошибке результата ( $\epsilon, \% = 0.84$ ). В случае уравнений 1–3 фактическое значение  $F$ – критерия Фишера составляет 4.86 и 4.14 соответственно.

Исходя из табличных данных значений критерия Фишера, находим, что при  $n = 6$  и наличии одного определяемого параметра (уравнения 1–2)

Корреляционные уравнения связи антиоксидантного действия с константами кислотности и зарядом для соединений 1–6

№ п/п	Уравнения	$r$	$S_{\bar{x}}$	$\varepsilon, \%$	$F_{\text{выч.}}$
1	$AOA = -10.77 \cdot pK_a + 113.65$	0.999	0.220	1.21	4.86
2	$AOA = 2453.18 \cdot \sigma_H - 252.06$	0.999	0.220	1.21	4.86
3	$AOA = 1264.10 \cdot \sigma_H - 4.83 \cdot pK_a - 54.01$	0.998	0.181	0.84	4.14

$F_{\text{табл.}} = 5.99$ ; при наличии двух параметров (уравнение 3)  $F_{\text{табл.}} = 5.14$ .

Результаты исследований показали, что для всех уравнений  $F_{\text{выч.}} < F_{\text{табл.}}$ . Следовательно, полученное значение не случайно, оно сформировалось под влиянием существенных факторов, т.е. подтверждается статистическая значимость всех уравнений и показателя тесноты связи  $r_{yx}$  в случае уравнений 1-2 и показателя тесноты связи  $r_{yx1x2}$  в случае уравнения 3.

Метрологические характеристики данных эксперимента позволяют сделать вывод о статистической достоверности результатов исследования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Найдены физико–химические параметры, определяющие токсичность и фармакологическое поведение ( $pK_a$ , электронная плотность, и, соответственно, заряды) исследуемых производных бензимидазола с фрагментом экранированного фенола.

Полуэмпирическим методом РМЗ рассчитаны заряды на атомах кислорода, азота и водорода (в электронных единицах) в данном ряду соединений. Установлено, что решающий вклад в реакции омыления соединений бензимидазола при потенциометрическом титровании вносит гидроксильная группа в *орто*-положении фенильного кольца.

Методом регрессионного анализа подобраны статистически значимые одно– и двухпараметро-

вые корреляционные уравнения, связывающие биологическое действие с константами ионизации и зарядом.

Выявлена высокая степень корреляции между константами ионизации, зарядом гидроксильной группы исследуемых соединений и результатами биологического скрининга.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голендер В.Е. Исследование связи структура – активность химических соединений методами распознавания образов / В.Е. Голендер, А.Б. Розенблит // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. — 1999. — Т. 25, № 1. — С. 28–35.
2. Хубаева Т. О. Исследование антиоксидантной активности в области 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)-2-арилбензимидазолов / Т.О. Хубаева, И.В. Хубаева // Журнал общей химии. — 2013. — Т. 83, вып. 9. — С. 1481-1485.
3. Хубаева Т. О. Синтез, свойства и антиоксидантная активность производных бензимидазола с фрагментом пространственно-затрудненного фенола / Т.О. Хубаева, И.В. Хубаева // Вестник Воронежского гос. ун-та. — 2014. — Серия: Химия. Биология. Фармация. — №3. — С. 42–47.
4. Хубаева Т. О. 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)-2-арилбензимидазолы: синтез, свойства, перспективы / Т.О. Хубаева // Вестник Башкирского университета. — 2011. — Т.16, №3. — С. 663–667.

Хубаева Тамара Отаровна — ассистент кафедры фармации фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Северо-Осетинской государственной медицинской академии» Минздрава России (ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России), аспирант кафедры органической химии химико-технологического факультета ФГБОУ ВПО «Северо-Осетинского государственного университета им. К.Л.Хетагурова» (ФГБОУ ВПО СОГУ им. К.Л.Хетагурова); e-mail: khubaeva76@mail.ru

Khubaeva Tamara O. — Assistant of department of pharmacy of pharmaceutical faculty SOGMA, the post-graduate student of chair of organic chemistry of chemical–technological faculty SOGU; e-mail: khubaeva76@mail.ru.

*Хубаева Изабелла Владимировна* — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры педиатрии факультета последипломного образования (ФПДО) ГБОУ ВПО Северо-Осетинской государственной медицинской академии Минздрава России (ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России)

*Khubaeva Izabella V.* – the candidate of medical sciences, Assistant of department of pediatrics FPDO SOGMA.